

2ej



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

Facultad de Química



EXAMENES PROFESIONALES  
FAC. DE QUÍMICA

## METODOLOGIAS PARA LA PURIFICACION DEL AGUA ENVASADA Y NORMAS QUE RIGEN SU CALIDAD

T E S I S

Que para obtener el título de  
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

p r e s e n t a

JORGE HUMBERTO CACERES CALVILLO



México, D. F.

1999

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

230400



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## JURADO ASIGNADO

**PRESIDENTE**      **Profa. BEATRIZ LUNA MILLAN**

**VOCAL**            **Profa. MARIA GUADALUPE TSUZUKI REYES**

**SECRETARIO**    **Profa. AURORA IRMA ORTEGON AVILA**

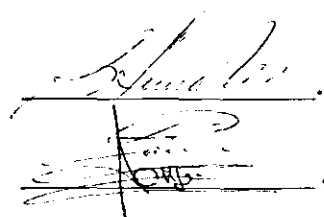
**1 ER SUP.**        **Prof. MIGUEL ANGEL HIDALGO TORRES**

**2 DO SUP.**        **Profa. RUTH EDITH MARTIN FUENTES**

El tema se desarrolló en : Facultad de Química , y diversas plantas de purificación de agua en México D.F. , Municipios de : Chalco , Chimalhuacan , Nezahualcoyotl , y Tlalmanalco , Edo. de México .

**Asesor del tema : Q.F.B. Beatriz Luna Millan**

**Sustentante : Jorge Humberto Cáceres Calvillo**



Handwritten signatures of the jury members and the student, with horizontal lines below them.

## *Dedicatoria*

*Finalmente .*

*Este es un evento que sin lugar a dudas tiene un gran efecto de transformacion en mi , el tener algo que siempre quise , y podérselo ofrecer a todos y cada uno de aquellos que me quieren.*

*A Dios rogando y con el mazo dando ... : Gracias mamá*

*Cuando yo era estudiante ... ¿ Y como va la escuela ...? .*

*¡ Me da mucho gusto saber que estas haciendo tu Tesis ... !:*

*Gracias papá.*

*¡ Lo que tienes que hacer es tu Tesis ... ! Gracias a ti también ,  
Hermano Juan Carlos*

*Mira ... ahorita tu principal trabajo es tu Tesis ... : Gracias  
Martha ... hermana y amiga mía .*

*¡ Oh ! ... ¡ que bien ! ... : Para ti mi querido Hijo Jorge Arturo .*

*¡ Que bueno !... : Para ti también , mi adorada hija Veronica  
Alejandra .*

*Bueno , veamos que se puede hacer ... Maestra Vetriz L.*

*Dedico este esfuerzo a la Universidad .*

*a todas las personas que directa o indirectamente participaron en mi  
formación ... Gracias*

*Jorge Humberto Cáceres Calvillo*

**METODOLOGIAS PARA LA PURIFICACIÓN  
DEL AGUA ENVASADA Y  
NORMAS QUE RIGEN SU CALIDAD**

# **METODOLOGIAS PARA LA PURIFICACIÓN DEL AGUA ENVASADA Y NORMAS QUE RIGEN SU CALIDAD**

## **ÍNDICE**

	<b>PÁGINA</b>
<b>I. INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
<b>II. METODOS DE PURIFICACIÓN DEL AGUA</b>	<b>4</b>
2.1 FÍSICOS	7
2.2 QUÍMICOS	25
<b>III. NORMATIVIDAD</b>	<b>43</b>
3.1 MÉXICO	44
3.2 ESTADOS UNIDOS DE NORTE AMERICA	49
3.3 ORGANIZACION MUNDIAL DE LA SALUD ( OMS )	49
<b>IV. CONTROL DE CALIDAD QUE SE REALIZA EN LAS PLANTAS PURIFICADORAS</b>	<b>55</b>
<b>V. CONCLUSIONES</b>	<b>60</b>
<b>VI. SUGERENCIAS</b>	<b>64</b>
<b>VII. APÉNDICE</b>	<b>73</b>
<b>VIII. BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>132</b>

## RESUMEN

### Metodologías para la Purificación del agua envasada y Normas que Rigen su Calidad

En el presente trabajo , se presentan las metodologías físicas y químicas de purificación del agua para consumo humano , marcando sus principales ventajas y desventajas , dándole importancia al control de calidad químico y microbiológico de los procesos y al producto terminado , agua purificada envasada , con el fin de evitar en lo posible , la aparición de epidemias de enfermedades gastrointestinales de origen hídrico .

Se vincula la producción de agua purificada con las normas de calidad de México , de Estados Unidos de Norteamérica y de la Organización Mundial de la Salud , explicando el porqué de estos requerimientos y de donde provienen .

También se describe el control de calidad que realizan las plantas purificadoras de agua y se presentan algunas recomendaciones para mejorarlo .

Con este trabajo se pretende dar una herramienta de consulta y corrección de los problemas más comunes en la purificación de agua , así como algunos puntos de control de proceso y calidad del agua que se pueden implementar fácilmente en las pequeñas plantas productoras , para tener un producto seguro y de alta calidad , con lo que se evitará la transmisión de enfermedades por este medio .

Por otra parte , se presenta un estudio comparativo de actualización , de los parámetros de calidad para el agua purificada embotellada , ( México 1993 , EUA 1998 , OMS 1996 ) en el que se destacan sus similitudes , datos que pueden ser útiles para la actualización de las normas mexicanas correspondientes.

Finalmente se presentan algunas apreciaciones y recomendaciones personales , dirigidas a los productores de agua purificada , que pueden ser útiles para mejorar la calidad de su producto.



## I.- INTRODUCCIÓN.

En cualquier tiempo , la purificación del agua para beber ha sido vista como un negocio sencillo de emprender y por demás productivo , pareciera que todo proviene de una expresión mexicana en la que peyorativamente se le dice al agua purificada embotellada como "AGUA LLAVE" de donde algunas personas que inician esta actividad , consideran que el purificar agua y venderla es algo muy fácil y que cualquiera con una mínima inversión, puede emprender esta actividad , sin considerar la magnitud de la responsabilidad que conlleva en sí la distribución de el vital liquido a una buena cantidad de seres humanos , los cuales confían en que al tomar su producto , por el hecho de estar embotellado , cerrado con una tapa de plástico y sellado con una cinta termo compresible , es un producto sano e inocuo , que no les causará ningún problema .

La Secretaria de Salud , entre otras muchas de sus funciones , tiene como responsabilidad el velar por la salud en general de la población , aplicando programas , normas , leyes y demás instrumentos que le permiten vigilar que los establecimientos , métodos , equipos , instalaciones , personal etcétera que tenga algo que ver con la salud y con su conservación y preservación , sean los más adecuados para que así suceda

Sin embargo , cuantas veces no hemos escuchado o leído que en tal o cual parte se presentó un brote de cólera o un grave incremento de enfermedades gastrointestinales de etiología desconocida .

Nuestro país y en particular nuestras grandes ciudades , padecen por falta de agua potable y purificada , problema que se agrava en épocas de estiaje en primavera y verano , además de que las condiciones ambientales favorecen la reproducción de los microorganismos propios y contaminantes del agua - y si a esto le agregamos que los procesos de purificación del agua en las diferentes compañías embotelladoras no siempre es controlado ni mucho menos vigilado por personal capacitado y concientizado de su labor - tenemos un peligro latente de que en un momento dado , se puede presentar una epidemia por el consumo de este tipo de productos , así como por los alimentos y bebidas elaborados con ellos .

El presente trabajo tiene como objetivos :

- Dar una herramienta de consulta y de guía para resolver algunos de los problemas más comunes en la purificación y embotellado del agua para consumo humano .
- Mencionar las normas y las metodologías de producción y el control de calidad a las que se debe de dar cumplimiento para minimizar en lo posible el riesgo de una epidemia por ingestión de agua mal purificada .

No sería justo decir que todas las purificadoras de agua son malas o deficientes , pero si se puede aseverar que :

Una purificadora que no efectúe en forma regular controles de calidad bacteriológicos y fisicoquímicos de sus productos y procesos , no es una compañía responsable .

## II.- MÉTODOS DE PURIFICACIÓN DEL AGUA

Debido a que uno de nuestros principales objetivos son los métodos de purificación para el agua embotellada , mencionaremos brevemente los Métodos Generales de purificación .

Los métodos que se emplean para tratar el agua son físicos o químicos , su aplicación depende del fin al que se destina el abastecimiento .

Para uso doméstico :

Es deseable eliminar impurezas , disueltas o suspendidas , que sean perjudiciales a la apariencia o al aspecto estético del agua .

Es indispensable eliminar o inactivar microorganismos e impurezas perjudiciales para el bienestar y seguridad del consumidor .

Para uso industrial :

La calidad del agua que se requiere depende del tipo de industria y del uso de ésta , por ejemplo : en calderas , lavanderías y fábricas de papel requieren un bajo contenido de hierro y carbonatos .

En la Industria Farmacéutica :

Se utiliza agua con un alto grado de pureza el cual sólo se logra después de aplicar el proceso de destilación por cuadruplicado en equipos de vidrio de boro silicato y de un control efectivo de calidad que garantiza que no se tienen partículas suspendidas , así como la aplicación de técnicas de búsqueda de pirógenos .

En la Industria Química :

Se requiere de agua que en algunos casos se podría decir que sólo contiene dos moléculas de hidrogeno y una de oxígeno , esto es Químicamente Pura ( QP ), pero como es difícil de producir a partir de los gases , generalmente se emplea agua destilada que preferentemente ha partido de agua desionizada , se evapora y condensa una , dos , tres y hasta cuatro veces , dependiendo de su uso , en un destilador de vidrio de borosilicato. En determinadas aplicaciones , los sistemas comerciales de purificación a base de resinas permiten obtener agua de calidad equivalente o incluso superior al agua destilada por una vez. ( 2 )

Por lo general , los métodos que comúnmente se emplean en la práctica para el tratamiento de aguas tiene como objetivo principal eliminar impurezas o sustancias extrañas del agua , esto se hace con el propósito de eliminar cantidades mucho mayores de materiales que las que se añaden , aunque en ciertos casos las sustancias que se agregan son para impartir al agua algunas características especiales , por ejemplo : agregar ácido clorhídrico en dosis calculadas para bajar el pH de un agua alcalina a los niveles deseados.

## CONTROL DEL DESARROLLO MICROBIANO

En los afluentes de agua naturales , se encuentra una gran variedad de organismos vivos , y son particularmente abundantes en la superficie de las fuentes que tienen contacto con el aire , el suelo la vida vegetal y animal . Las condiciones ambientales en las cuales estos organismos se pueden desarrollar , se encuentran dentro de ciertos límites específicos .

Las condiciones adecuadas para el incremento en el número de microorganismos en

el agua , es frecuentemente favorecida por las industrias , las cuales pueden producir los siguientes efectos con sus consecuencias .

En las proximidades de los intercambiadores de calor el desarrollo de bacterias reduce la eficiencia de la transferencia de calor .

En las torres de enfriamiento , se favorece el desarrollo de algas y el ataque de hongos , que pueden reducir el flujo y eficiencia de distribución de agua por la formación de una capa interna de lodos en los tubos con la subsecuente obstrucción de los filtros del tipo de filtración rápida , o los filtros de presión y también los tanques de resinas de intercambio iónico , finalmente , la proliferación de las bacterias que emplean el hierro o producen ácido sulfhídrico , deterioran el equipo . Para prevenir estos efectos indeseables , se debe de adoptar algún método que controle el desarrollo de los microorganismos del agua , como la cloración , fluoración , ozonización , o algún otro bactericida químico ; también se puede emplear algún proceso físico , como la aplicación de luz U.V. y filtración , entre otros .

( 1 , 9 , 19 )

## 2.1 TRATAMIENTOS FÍSICOS

### 2.1.1 AUTOPURIFICACIÓN Y REPOSO

El ciclo natural del agua provee un cierto grado de purificación , eliminando en algunos casos hasta el total de la contaminación , como es el caso de las aguas que manan

de algunos manantiales protegidos , los cuales no requieren prácticamente de ningún método de purificación ; desgraciadamente esto ocurre sólo en una muy pequeña cantidad de casos .

Dependiendo de la cantidad de contaminantes que el agua encuentre en su paso - como escurrimientos del suelo , aguas negras , desperdicios industriales y domésticos - así como de las condiciones y características físicas , químicas y microbiológicas del agua misma ; la aireación , la velocidad de flujo del agua y la velocidad de sedimentación pueden equivaler a el efecto de una filtración , para lo cual se requiere de una gran distancia , más de doce kilómetros , y de un flujo lento.

El aspecto general de una corriente , proporciona una idea del grado de contaminación ; por ejemplo , el lecho de una zona no contaminada , esta cubierto de un depósito pardo verdoso y muestra plantas verdes y raíces en esas áreas . ( 1, 16 )

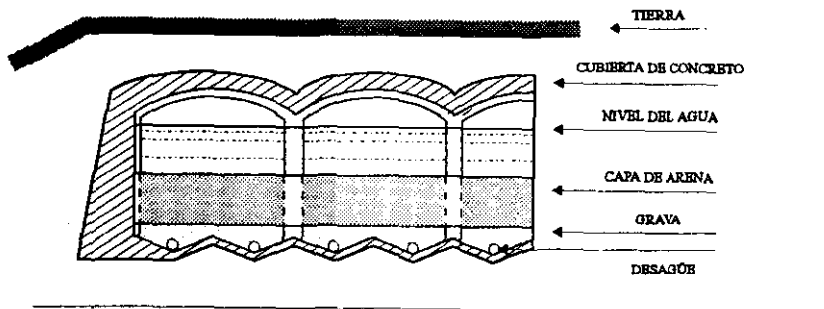
### 2.1.2 AIREACIÓN

La aireación se emplea principalmente para conferir oxígeno al agua , para eliminar los compuestos volátiles que le confieren olor y sabor . La adición de oxígeno , es la primera fase para la eliminación del hierro .

El método más adecuado de aireación se ha encontrado que es el de pulverizar el agua en la atmósfera por medio de aspersores , hasta formar una neblina o gotas muy pequeñas ; otros métodos consisten en crear artificialmente cascadas de agua . ( 1, 16 )

### 2.1.3 FILTRACIÓN LENTA POR ARENA

FIG. 1 FILTRO LENTO DE ARENA

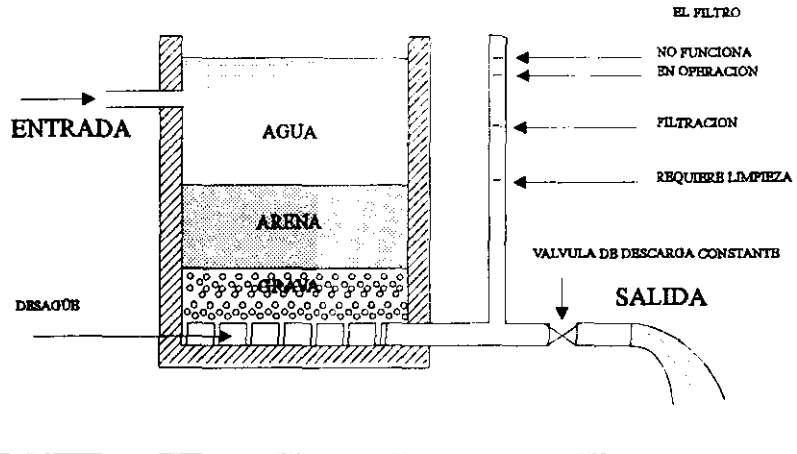


La filtración lenta por arena se logra en estanques de concreto cubierto , de unos 3 a 4 metros de profundidad , a los cuales se les colocan líneas de tubos para drenaje , de juntas abiertas , distanciadas 1.80 m aproximadamente , conectadas a un tubo central o colector principal , que se cubren con gravas clasificadas por tamaños , colocando gradualmente las más gruesas en el fondo y las de menor tamaño en la parte superior , hasta tener una capa de

30 a 45 cm y una capa de arena de 90 cm de espesor , la tapa o cubierta de la estructura se coloca al menos a 1.80 m sobre la superficie de la arena , para que la cámara de agua sea adecuada en su limpieza y mantenimiento. Esta cubierta se soporta en columnas y paredes , que se cubre con una capa de tierra para evitar contaminaciones adicionales o el congelamiento del agua en su caso . Este método de operación de filtros lentos , debe hacerse a un gasto relativamente bajo para favorecer la adsorción , que retiene las sustancias sobre la superficie de las partículas ; sus principales limitantes son : emplear agua cuya turbiedad no exceda de 30 partes por millón ( PPM ) y su efectividad en la eliminación del color es del 40 por ciento . ( 1 , 16 )



FIG. 2 ESQUEMA DE UN FILTRO LENTO DE ARENA ( 1 )



### Características :

El material filtrante se compone principalmente de arena sílica , la cual debe estar libre de impurezas , como lodos , raíces , etcétera , y debe de ser insoluble en una solución de ácido clorhídrico diluido , además de cumplir con otra característica de tipo hidráulico para tener un filtrado eficiente , como el referente al “tamaño efectivo” , éste es el tamaño de la apertura de malla que deja pasar el diez por ciento , en peso , de los granos de arena en cuestión ; esto se logra con un tamaño de partícula de entre 0.25 y 0.35 milímetros , dependiendo del peso específico de ésta .

Por otro lado , se le llama “ coeficiente de uniformidad “ a la relación que existe entre los tamaños de malla que permiten el paso de un 60 por ciento y un 10 por ciento respectivamente .

En la práctica se ha encontrado que los filtros lentos de arena deben tener una arena cuyo tamaño efectivo sea de 0.25 a 0.35 milímetros y un coeficiente de uniformidad entre 2.5 y 3.5 .

La calidad de la grava debe ser la misma que la de la arena y sus tamaños varían desde unos 5.0 centímetros en el fondo a unos 3 milímetros o menos en la parte superior .

La limpieza del filtro se lleva a cabo casi siempre en forma manual , desprendiendo los 2 ó 3 centímetros que forma la capa más superficial del lecho de arena , después de vaciar completamente de agua , esta capa de arena se puede reutilizar después de un proceso de lavado , normalmente se puede repetir esta limpieza hasta que el espesor del lecho sea de unos 60 centímetros , entonces se agregará más arena.

Esta metodología de filtración lenta , requiere de grandes superficies filtrantes debido a que el flujo máximo permisible es muy bajo , eso es , un rendimiento aproximado de 120,000 litros por metro cuadrado de superficie filtrante por día , 83 litros por minuto por metro cuadrado

Además de que las aguas turbias obstruyen muy rápido los filtros , fuera de estas limitantes , se puede operar sin ningún problema en áreas rurales cercanas a las poblaciones que cuenten con un suministro regular de agua de regular calidad. ( 1 , 6 )

## 2.1.4 MEZCLADO , COAGULACIÓN , FLOCULACIÓN Y SEDIMENTACIÓN

Esta metodología es posiblemente la más elaborada para la purificación de agua , ya que implica una serie de pasos y aplicación de diversas tecnologías con las cuales se abate el contenido de solutos del agua mediante la aplicación de agentes floculantes y otros .

El método se basa en la floculación de solutos en el agua , mediante la agitación lenta del agua tratada con coagulantes . Cabe mencionar que la pseudosedimentación que se logra con este método es en realidad la aparición de un estrato que divide en dos fases al agua tratada , en la cual la parte inferior contiene grandes cantidades de solutos y es la parte que se desecha del agua , y la parte superior , queda con una menor concentración de solutos , mejorando así su calidad como disolvente . Este tipo de tratamientos se emplea principalmente en aguas duras que contienen grandes cantidades de carbonatos .

El agente coagulante es el alumbre , sulfato doble de aluminio y magnesio , se agrega de 10 a 50 partes por millón ( PPM ) , una forma fácil de recordar esta unidad es teniendo presente que una parte por millón es un gramo en un metro cúbico , o un miligramo por litro, esto es que se emplean de 10 a 50 gramos de alumbre por cada metro cúbico de agua a tratar , el rango varia debido a la concentración esperada de solutos en el agua , mientras más dura o pesada sea el agua se empleará más del agente coagulante . Para la cantidad óptima a emplear de alumbre , se efectúa una prueba de “ jarras “ , que consiste en agregar cantidades conocidas de coagulante a varias jarras o recipientes con la misma cantidad de

agua a la que se va a tratar , agitando suavemente la mezcla por un periodo definido de tiempo y observando después la cantidad y características de sedimentación de los floculos .

Aunque el alumbre es el agente floculante más empleado en la actualidad , existen otros como el aluminato sódico , el cloruro férrico , el sulfato férrico y otros ; productos que en medio alcalino pueden producir hidróxido de aluminio o hidróxido de hierro. ( 1 , 16 )

En resumen , primero se mezcla el alumbre con el agua a tratar , después se permite la coagulación y floculación en un tanque con un tiempo de retención de entre 15 y 45 minutos con una ligera agitación que favorece la coagulación y finalmente la sedimentación .

Se efectúa en un tanque en el cual fluye el agua a tan baja velocidad que el material suspendido caerá depositándose en el fondo del tanque . Debido a que la sedimentación puede ser deficiente , este método de purificación requiere en ocasiones posteriores de el uso de otro método como el de filtración rápida por arenas .

Cuando es empleado el método de purificación de agua por coagulación y floculación , una parte del agua tratada se recupera con mejores cualidades y otra parte se desecha con una mala calidad y/o se obtienen subproductos indeseables en los lodos de sedimentación , este método requiere de mezcladores y agitadores mecánicos y/o hidráulicos, energía e instalaciones , así como el uso secundario de otro proceso de purificación .

Dependiendo de las características físicas y químicas del agua y de la disponibilidad de áreas físicas y equipo , se puede emplear este método o uno alterno en el cual se usan

resinas de intercambio iónico el cual tiene como principal ventaja respecto de éste , que se requiere de menos espacio , instalaciones de menores dimensiones y maquinaria de menor potencia , para tener los mismos resultados , sin embargo , las resinas son costosas y requieren regeneración frecuente .

Una vez que se ha dado un vistazo a los diferentes métodos de purificación del agua, se pasará al método más empleado en la ciudad de México por un gran número de productores de agua purificada embotellada , la filtración rápida por arenas .

### 2.1.5 FILTRACIÓN RÁPIDA POR ARENAS

La expresión “ Filtración Rápida por Arenas “ se basa en el hecho de que la velocidad de filtración es de unas 40 veces mayor que la de los filtros lentos de arena , además , si se emplea después de un proceso de coagulación y floculación , la película producida por la acumulación de flóculos , elimina las bacterias y los sólidos finos suspendidos .

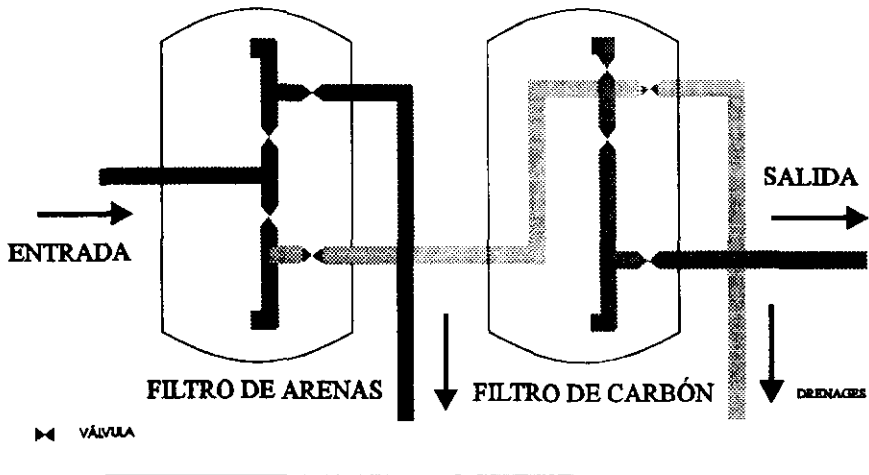
El sistema de filtración rápida por arenas consiste fundamentalmente de un lecho de arena relativamente gruesa , cuyo tamaño efectivo de las partículas es usualmente de 0.35 a 0.55 milímetros con un espesor de 60 a 75 centímetros , el que descansa sobre un lecho de grava graduada con un espesor de 25 a 50 centímetros , además de un sistema de colector central ramificado de desagüe interior , capaz de captar uniformemente el agua filtrada y de

distribuir uniformemente el flujo relativamente grande , cuando el filtro se esta limpiando , esto es , la inyección de agua en contra flujo ,ó retrolavado , con lo cual se logra la remoción de las partículas suspendidas en el agua que fueron retenidas en el filtro por su tamaño .

Este tipo de filtros , después de su limpieza o retrolavado y cuando están recién empacados son terriblemente ineficaces , siendo la principal fuente de contaminación bacteriana , ya que no solo permiten su paso , sino que les brinda una enorme superficie de soporte ; imagínese un paquete de un kilo de harina como si fuese un filtro , ahora , esa harina pasa por un tamiz , para ser cernida , en este momento se le ha quitado lo compacto y con esto se ha incrementado el volumen de ésta y la distancia entre partículas a aumentado, situación similar a lo que sucede en el filtro al efectuar los retrolavados , así , la distancia entre partículas de arena se ha incrementado y permite el paso de bacterias retenidas y no eliminadas con anterioridad , asi mismo , también son acarreadas las partículas suspendidas que se desea eliminar del agua .

Para evitar ésto se requiere de compactar de nueva cuenta las arenas , lo cual se logra operando el filtro normalmente por algunos minutos a una mayor presión de agua y reciclando ésta a la fuente inicial de suministro , así como verificando los controles internos de producción que se puede consultar en el cuadro esquemático de autoverificación , en la parte final de este trabajo . ( 1 , 16 )

FIG. 3 FILTRACIÓN RÁPIDA A PRESIÓN



### 2.1.6 FILTROS DE PRESIÓN

Los filtros de presión son los filtros más empleados en las plantas purificadoras y envasadoras de agua , siendo estos similares a los filtros rápidos de arena común y corriente, con la sola diferencia de que está completamente encerrado en un tanque de acero y que toda la unidad opera bajo presión , las velocidades de filtrado y de retrolavado son las mismas , así como los tamaños de la arena y la grava , pero las dimensiones verticales son preferentemente menores que las del tipo de filtro abierto convencional .

Sus principales ventajas son económicas , ya que este tipo de filtros de presión se pueden operar en pequeñas dimensiones y emplean solo un juego de bombas en lugar de dos del filtrado rápido , sin embargo , sus principales desventajas las constituyen el hecho de que el operador no puede observar el funcionamiento del filtro , la arena puede incrustarse o producir “ bolas de lodo “ , o el retrolavado puede ser impropio sin que el operador se dé cuenta . ( 1 , 16 )

### 2.1.7 FILTRO DE CARBÓN ACTIVADO

Con cualquier tipo de los filtros mencionados , no se logra la remoción completa de colores , olores ni sabores del agua , por lo que se incluye una variante del filtro de presión para eliminar estas características , indeseables en el agua purificada , y es simplemente con la adición de carbón mineral activado de un tamaño uniforme de partícula de alrededor de los 2.0 milímetros de diámetro en un filtro al cual no se le aplica la totalidad de la carga de arena y se llena hasta dejar una quinta parte de éste libre como cámara de aire o de agua , según se vea .

El carbón mineral activado se logra después de que el carbón se ha fraccionado y seleccionado a un tamaño uniforme por medio de tamices , y después de haber recibido un tratamiento de lavado ácido con el cual se retiran las materias solubles e insolubles que se encuentran en la estructura del carbón , confiriéndole una gran superficie en la cual se presentan los fenómenos de adsorción que le permiten retener partículas y moléculas de materiales extraños al agua , retirando de esta forma los productos , compuestos y sustancias que le confieren color , olor y sabor al agua , así como retener el cloro libre que resulta de la



adición de éste al agua , con el fin de potabilizarla y que se tratará más ampliamente después.

( 1 , 16 , 18 )

## 2. 1. 8 OTROS FILTROS

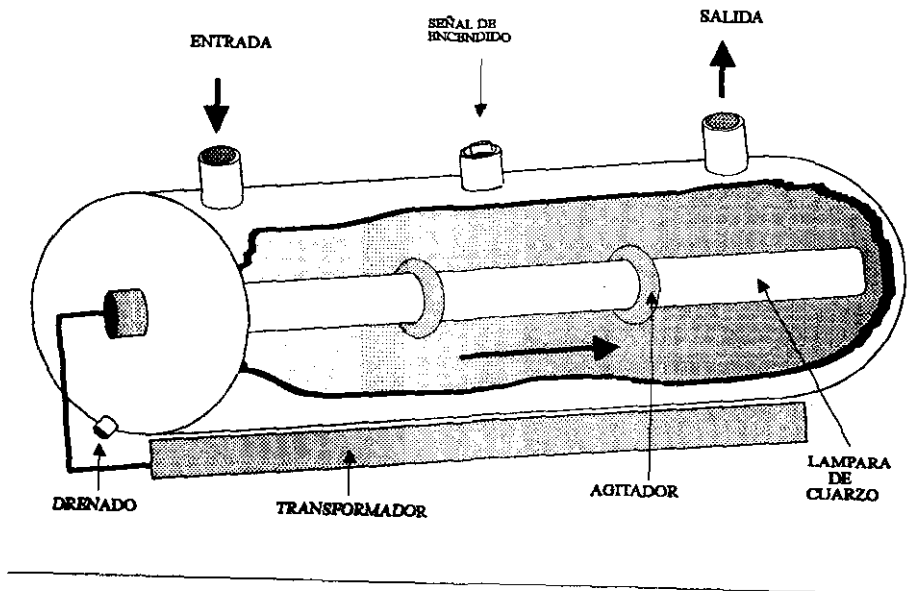
Actualmente se puede disponer de otros filtros , los cuales se mencionarán muy brevemente : existen los FILTROS DE DIATOMEAS , creados durante la segunda Guerra Mundial , con la principal característica de ser portátiles , estos filtros en lugar de emplear arena , tienen una armadura central o tubos sobre los cuales se sostiene una capa delgada de un material poroso llamado tierra de DIATOMEAS a través del cual se pasa el agua que se va a filtrar , el flujo del agua mantiene al material filtrante en su lugar , mientras que pequeños orificios en los tubos o la armadura , evitan que este pase al través de ellos . Este tipo de filtros requiere de limpieza continua y de reposición de la tierra de diatomeas , la cual se agrega en forma de suspensión de forma regular . Otro tipo de filtros es el que se obtiene al excavar un hueco en una roca porosa de arenisca , dándole después la forma de un cono que se adapta a un recipiente , este tipo de filtros se empleó en el siglo pasado y aún se encuentran en uso , sobre todo en la provincia de México , dicho sea de paso , con agregar cuatro gotas de cloro comercial por cada litro de agua , se logrará una buena desinfección del agua en la mayoría de los casos .

El siguiente paso en el desarrollo de los filtros , fue la creación de los filtros de CERÁMICA POROSA , adicionados de mineral de plata de baja ley , el cual aporta los iones de plata que tienen un efecto germicida , este tipo de filtros son muy eficaces y se

pueden emplear con confianza , teniendo cuidado de darle la limpieza periódica que se requiere y empleándolo con agua que tenga un bajo contenido de sólidos suspendidos , ya que estos obstruyen rápidamente la cerámica .

Finalmente tenemos una serie de filtros intercambiables del tipo CARTUCHO o BUJÍA , en los cuales se ha aplicado una gran cantidad y diversidad de materiales , dentro de los que se encuentran , el papel , algodón , polipropileno y otros plásticos , henequén y otros, los cuales se rebobinan en un núcleo formado por un tubo poroso , cerrado por un extremo y con cuerda por el otro , de tal forma que se une a un sistema de tubería , permitiendo la filtración continua del agua entubada , a estos cartuchos en ocasiones se agrega carbón mineral , arena y otros materiales , ya sean solos o combinados , con la ventaja de ser desechables y la desventaja de su costo ; en la práctica se ha encontrado que en las plantas purificadoras y embotelladoras de agua , se requiere de un cotidiano proceso de limpieza a este tipo de filtros , ya que al presentar una porosidad de alrededor de cuatro micras , retienen bacterias que no quedaron atrapadas en los pasos anteriores , y estas bacterias “aprovechan” las horas de inactividad de la planta para multiplicarse y convertirse en un punto crítico de contaminación en el proceso de purificación del agua .

FIG. 4 PURIFICADOR ULTRAVIOLETA TÍPICO ( 28 )



## 2. 1. 9 TRATAMIENTO CON RADIACIÓN ULTRAVIOLETA

La acción bactericida de la luz solar es debida a la acción de la luz ultravioleta . Una de las mayores ventajas de la desinfección ultravioleta es que esta desinfección ocurre sin la adición de productos químicos , por lo tanto el olor y el sabor del agua no se altera .

Además , la luz ultravioleta trabaja rápidamente y el equipo requiere de poco mantenimiento .

La luz ultravioleta es una porción del espectro electromagnético, la porción que tiene un efecto bactericida se encuentra en la longitud de onda de entre los 200 y 300 nanómetros ( nm ), siendo las más efectivas las que se encuentran entre los 260 y 265 nm , de acuerdo a Benjamin W. Lykins, Jr. ( 28 ), y la longitud de onda óptima es de 254 nm , según E. Hanel Jr. ( 27 , pp. 85 ).

La luz ultravioleta se genera en un tubo de cuarzo cerrado de baja presión con vapor de mercurio . Más del 85 % de la radiación ultravioleta que emiten estas lámparas se encuentran en los 253.7 nm .

El efecto germicida de las lámparas de luz ultravioleta , es el resultado de la penetración de la radiación a través de las paredes de las células bacterianas , la cual es absorbida por los ácidos nucleicos causando un daño genético y su muerte subsecuente .

La acción bactericida de esta radiación está limitada a que solo tiene efecto sobre las superficies y a distancias no mayores de 30 centímetros en el aire , los fluidos opacos no se pueden desinfectar por este proceso , ya que los rayos U.V. no pueden penetrar en el .

Con radiación ultravioleta se puede tratar agua con poco color , pasándola por una batería de lámparas, su efectividad de penetración en el agua destilada es de hasta el 92 por ciento a una profundidad de tres pulgadas y esta desciende hasta el 5 por ciento a una profundidad de 24 pulgadas . ( 6 , 16 )

En la práctica las bacterias y en general la materia orgánica y otros compuestos , con el tiempo forman una película en la parte de contacto del tubo que recibe la radiación con el

agua , lo que disminuye y hasta nulifica la acción de la radiación , por lo cual se deben de mantener limpios los tubos de exposición .

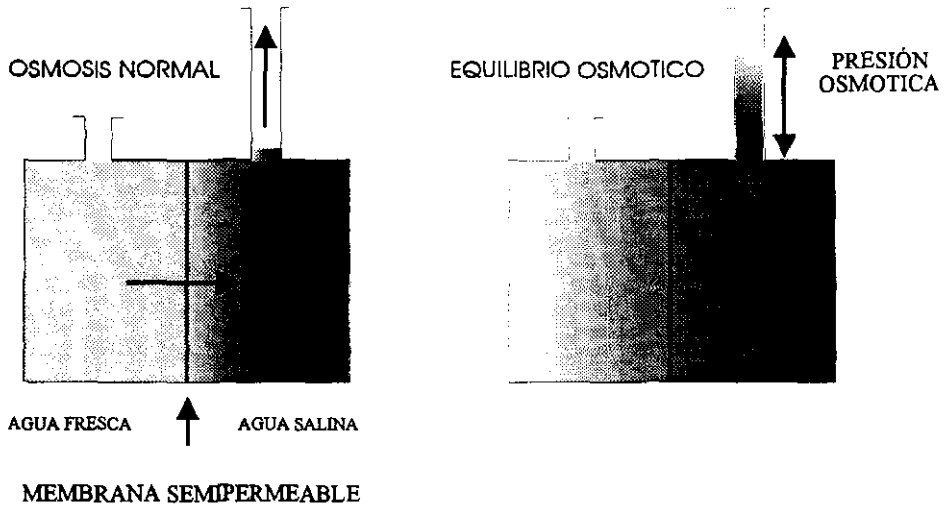
## 2. 1. 10 OSMOSIS INVERSA

La osmosis inversa es una tecnología que se aplica para la obtención de agua purificada de un alto grado de pureza , y consiste básicamente de forzar por medio de presión el paso del agua a través de una membrana semipermeable , con lo que se remueven especies iónicas de bajo peso molecular así como algunos tipos de coloides , bacterias y virus . Existen dos tipos principales de membranas , las compuestas de acetato de celulosa y las de poliamidas aromáticas . ( 20 , 22 , 28 )

Este tipo de técnicas son muy eficientes , sin embargo el equipo es muy costoso así como su mantenimiento , se requiere de capacitación para su uso y requiere de grandes cantidades de agua para su funcionamiento ; esto respecto de los lavados que se deben efectuar para eliminar el agua con solutos concentrados por el mismo proceso , y el rendimiento es bajo en referencia a la producción contra los lavados . Este proceso es recomendable cuando no se pueda emplear otro alternativo , como en pequeñas plantas purificadoras de agua en los oasis o en islas que no cuenten con suficiente agua purificada .

Usarlo en la ciudad de México , es un lujo que solo se justifica por razones comerciales.

FIG. 5 EL PRINCIPIO DE LA OSMOSIS INVERSA O REVERSA ( 22 )



## 2. TRATAMIENTOS QUÍMICOS

### 2.2.1 CLORACIÓN

De los tratamientos químicos disponibles en el medio , la clorinación o cloración del agua es el que tiene un uso más extenso , la principal razón por la cual esto sucede es debido a que su costo relativo es bajo y es de muy fácil aplicación , así como su actividad es eficiente en un rango amplio de pH , de 6 a 8 , con lo cual se pueden destruir impurezas por cloración y por oxidación , por otra parte , los equipos , tuberías y otros , pueden soportar dosis tan altas como 100 partes por millón por periodos cortos de tiempo sin deteriorarse .

Existen tres tipos principales de microorganismos que se presentan con más frecuencia como un problema en el agua , estos son : algas , hongos y bacterias , aunque en ocasiones los protozoarios también participan

Las algas requieren de la luz solar y de la presencia de bióxido de carbono en el agua , y cuando son eliminadas químicamente , los lodos que se producen con sus desechos suelen ser otro problema , los hongos pueden desarrollarse en presencia o ausencia de luz solar , por lo que se han encontrado incluso en sistemas cerrados de refrigeración , y los lodos de bacterias se encuentran incluso en turbinas de condensadores , lo cual reduce su eficiencia , ejemplos de estos tipos de bacterias son : bacterias nitrificantes , bacterias del hierro , bacterias reductoras de sulfatos y las sulfuro-oxidativas , las cuales pueden convertir el azufre elemental , presente naturalmente en algunos tipos de agua , o por la oxidación del

ácido sulfhídrico en ácido sulfúrico , causando corrosión en las torres de enfriamiento o en el equipo en general . ( 1 , 2 , 3 )

## QUÍMICA DE LA CLORACIÓN

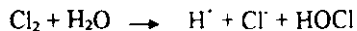
Es necesario el correcto entendimiento de las reacciones químicas que se efectúan cuando se agrega cloro al agua para su correcta aplicación , tanto en el tratamiento de aguas de uso industrial como aquellas destinadas al consumo humano , tomando en cuenta la dosis suficientemente alta , así como el tiempo de contacto para el control o supresión de las bacterias .

La cloración de los abastecimientos públicos de agua representa el proceso más importante , usado en la obtención de agua de calidad sanitaria adecuada , la desinfección del agua significa una disminución de la población de bacterias , hasta una concentración inocua de bacterias no patógenas , en contraste con la esterilización , en la cual se efectúa una destrucción completa de la población bacteriana . El cloro no es el único desinfectante que se puede emplear en el agua , pero si el más empleado con buenos resultados .

Existen varios métodos de agregar cloro al agua , uno muy empleado a nivel municipal y en las plantas potabilizadoras de agua es el de emplear gas cloro , además del uso del hipoclorito de sodio y el hipoclorito de calcio , así como otras fuentes de cloro nitrogenadas , que en el caso del gas cloro o de los hipocloritos al disolverse en el agua son



rápidamente hidrolizados y forman ácido clorhídrico y ácido hipocloroso de acuerdo con la siguiente reacción :

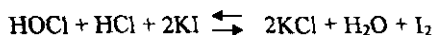
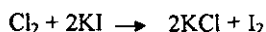


El ácido hipocloroso se disocia para producir iones de hidrógeno y iones de hipoclorito .



Estos iones coexisten en un equilibrio que depende de la temperatura y el pH , lo cual sucede también cuando se agrega cloro en forma de hipoclorito , en el rango de pH de entre 6 y 8 , coexisten en equilibrio y en la misma proporción ácido hipocloroso y iones de hipoclorito.

Una de las formas de determinar el cloro disponible es como sigue :



éste termino se define como el cloro equivalente al yodo liberado del yoduro de potasio en medio ácido , se emplea ácido acético glacial . ( 6 )

En este punto cabe mencionar que existen algunos productos para la cloración o hipocloración del agua que son particularmente peligrosos para aquellos operadores de plantas purificadoras de agua y en general para toda la población, algunos de ellos como el gas licuado de cloro, afortunadamente no son tan accesibles, pero en general el hipoclorito de calcio con un 25 a 37 por ciento de cloro disponible o el hipoclorito de sodio con hasta un 15 por ciento de cloro son más fáciles de adquirir por la población en general, y es muy importante que las personas que los emplean lo hagan con conocimientos de lo que hacen, ya que al preparar soluciones de hipoclorito de calcio o de cualquier producto clorado en polvo en agua, una parte se transforma en gas de ácido clorhídrico, aunque sea momentáneo por su gran avidez al agua, lo cual puede y de hecho trae graves consecuencias y accidentes a los neófitos y en ocasiones aún a los que ya tienen cierta experiencia, en general, es mucho mejor emplear soluciones conocidas de fabricantes reconocidos de hipoclorito de sodio al 13 por ciento, guardándolo en lugares frescos y no expuesto a la luz del sol que lo deteriora.

Existe en el mercado otro derivado del cloro que es el bióxido de cloro, el cual presenta un eficaz poder bactericida y que no tiene olor color ni sabor, cualidades que son su principal ventaja y desventaja, en el caso del hipoclorito, el olor y el sabor nos pueden indicar que se tiene una sobrecloración y nuestros sentidos nos indican que no debemos de ingerir esa agua, pero en el caso del bióxido de cloro, se pueden tener sobredosificaciones y nuestros sentidos no nos alertarán, además de que la prueba que generalmente emplean en las plantas purificadoras para verificar la cantidad de cloro libre es el uso de un comparador de acrílico con colores fijos y el uso del reactivo ortotolidina, el cual funciona muy bien en

el caso del hipoclorito , pero no es asi con el bióxido de cloro , ya que el desarrollo de color no corresponde a la misma escala del hipoclorito e incluso puede no reaccionar , quedando el operario con la idea de que no ha clorado suficientemente el agua y agregando indebidamente más de este .

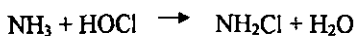
Una vez que entra en contacto el hipoclorito con el agua , ocurren las reacciones de disociación mencionadas , y además se presentan reacciones de combinación como es el caso de la formación de cloraminas .

Esto es el resultado de la combinación del cloro con compuestos nitrogenados como el hidróxido de amonio o compuestos que tienen el ion amonio en su estructura , produciendo lo que se denomina como cloraminas .

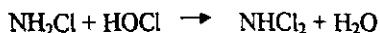
De esta forma , el cloro se “gasta” en la creación de compuestos de bajo poder bactericida y se requiere de agregar más cloro hasta que todos los compuestos nitrogenados orgánicos e inorgánicos , así como las sales disueltas susceptibles de reaccionar con el cloro contenidas de forma natural el agua , se agotan , lo que se conoce como punto de ruptura , momento en el cual se empieza a disponer de cloro libre o cloro disponible , siendo este el que va a actuar contra los microorganismos y es susceptible de cuantificar , por lo cual el cloro debe de medirse en el agua por lo menos 30 minutos después de agregado y mezclado , tiempo suficiente para que se efectúen estas reacciones , de otra forma las lecturas de las mediciones de cloro libre serán erróneas , la cuantificación del cloro antes de tiempo , o su nulo registro , es muy común en las plantas purificadoras de agua , siendo de suma importancia conocer y efectuar registros de este parámetro , ya que las

concentraciones de sólidos disueltos en el agua presentan variaciones dependiendo de algunos factores , como el origen del agua , las estaciones de lluvia y de sequía , la temperatura y otros , y dependiendo de estas concentraciones se requerirá de más o menos cloro para pasar ese punto de ruptura y lograr una buena desinfección del agua para consumo humano.

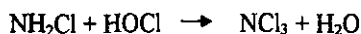
Las reacciones de formación de cloraminas son como sigue :



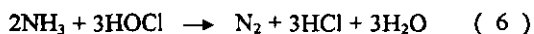
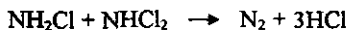
Cloramina



Dicloramina



Tricloruro de nitrógeno



No existe una regla general para designar el punto de ruptura o de saturación , depende del contenido de sales disueltas en el agua y de la cantidad de materia orgánica presente en esta , por esto , es importante efectuar un ensayo al inicio de operaciones de las plantas purificadoras de agua , para conocer el punto de inflexión de la relación : cloro agregado en partes por millón u otra unidad , contra cloro libre , residual o disponible ,

después del tiempo indicado , para saber la dosificación correcta de cloro por unidad de agua a tratar , también es importante repetir este ensayo cuando varía la fuente de suministro de agua , ya sea en su origen o en alguno de sus componentes .

El efecto bactericida de el cloro , es aún de alguna manera desconocido , sin embargo es muy probable que se encuentre íntimamente relacionado con la oxidación del contenido celular y una combinación directa con las proteínas , causando la precipitación de la albúmina , y una reacción directa con los compuestos insaturados de la estructura celular con el cloro , así como la formación de cloraminas por el efecto del cloro sobre los grupos amino presentes en las proteínas de los microorganismos , la formación secundaria de estos compuestos destruye la actividad enzimática y con esto la vida celular. Esta acción biológica del cloro , depende de varios factores , entre ellos , el pH , la temperatura y la concentración y forma del cloro .

## CLORAMINAS

Dakin y Cohen en 1916 ( 6 ) , determinaron que el para-toluen-sodio-sulfocloramida era un efectivo bactericida , siendo que hasta entonces no se reconocía esta cualidad para las cloraminas .

El tratamiento con cloraminas para la desinfección del agua , tiene la ventaja de que de produce un efecto prolongado de desinfección , y cuando se aplica en agua filtrada ,

eleva muy lentamente los niveles de ácido hipocloroso , de tal manera que el oxígeno disuelto en el agua no reacciona inmediatamente con la materia orgánica , por lo tanto , la formación y sustitución de productos que proporcionan cloro residual que elimina a las bacterias se mantiene por más tiempo , además , las cloraminas impiden la formación de compuestos que producen sabores en el agua .

En cuanto el efecto del pH sobre la predominancia de mono y di cloraminas , se tiene que a un pH de 7.0 , prevalece una mezcla de estas , y que al incrementarse el pH a 9.5 las dicloraminas se pierden gradualmente y solo se encuentran monocloraminas . Las dicloraminas son las que presentan una mayor actividad bactericida , y en soluciones con un pH de 4.4 o menor , solo se presentan compuestos de cloruro de nitrógeno , el cual no tiene poder bactericida .

Por otro lado , las cloraminas no tienen un poder bactericida comparable con el efecto del cloro libre. ( 6 )

## 2. 2. 2 OZONIZACIÓN

El ozono es un agente oxidante que tiene la fórmula química  $O_3$  , se genera en el lugar en el que se emplea , al pasar aire limpio y seco entre electrodos cargados con alta tensión eléctrica , esta descarga crea un arco eléctrico por el cual es forzado a pasar el aire y aproximadamente el 1.0 por ciento del oxígeno presente se transforma en ozono , si se enfría el aire se puede incrementar la eficiencia de la operación .

El ozono es un gas inestable que al romperse forma una molécula de oxígeno y un átomo de oxígeno nascente , sumamente reactivo , éste se emplea inmediatamente después

de generado , inyectándolo directamente en el agua a tratar y , en concentración suficiente , es un efectivo bactericida , pero el gas debe estar en contacto directo con los organismos para destruirlos , esto es , la mezcla del gas con el agua debe de ser muy íntima y eficiente , por otro lado , puede deteriorarse el sistema respiratorio de los operarios cuando se esta expuesto al aire ozonizado por largos periodos . Una dosificación de 2.0 PPM remueve el 98 por ciento de los organismos coliformes después de 10 minutos de exposición y produce una concentración residual aproximada de entre 0.16 y 0.20 por ciento de ozono , una cloración subsecuente dejará libre de coliformes el agua tratada . ( 6 , 8 )

### 2. 2. 3 TRATAMIENTO CON IONES DE PLATA

Naegeli en 1893 ( 6 ) , descubrió que la plata en concentraciones de 0.01 PPM poseía propiedades bactericidas . La desinfección del agua se logra al hacerla pasar entre dos electrodos de plata cargados eléctricamente , lo cual produce una dispersión de iones de plata en esta , un exceso del orden de 0.1 PPM produce una opalescencia por la formación de plata coloidal , este es un procedimiento costoso porque requiere de la recuperación de los electrodos y puede causar precipitados de compuestos de plata , y su uso queda limitado por esto a criterios de ganancias y costos .

Se emplea el nitrato de plata en soluciones diluidas para desinfectar el agua en pequeñas cantidades , lo que resulta peligroso por su posible sobredosificación , así como la ingestión de derivados de esta como el cloruro de plata y otros . No es práctico desinfectar

con plata o sus derivados porque tienen un costo elevado y no compiten con el poder bactericida de otros agentes . ( 6 )

#### 2. 2. 4 TRATAMIENTO CON FLÚOR.

Para la aplicación de Flúor al agua , los compuestos derivados que se recomiendan son : Fluoruro de sodio , silicofluorato de sodio , silicofluorato de amonio y ácido silicofluorídico , siendo sólidos los tres primeros y líquido el último , el silicofluorato de sodio es el que más se emplea , aunque originalmente el fluoruro de sodio fue el compuesto de primera elección , por otra parte , el ácido fluorosilícico se puede elegir , por su simplicidad de operación y que no se tienen polvos dañinos , esto siempre y cuando se cuenten con las instalaciones adecuadas.

Actualmente se emplea más comúnmente el Fluoruro de Sodio , ya que su almacenamiento y dosificación es más seguro y sencillo .

Es importante indicar que la solubilidad de estos compuestos en el agua es baja

COMPUESTO	SOLUBILIDAD %
Fluoruro de Sodio	4.0
Silicofluorato de Sodio	0.44
Silicofluorato de Amonio	16.9

El agua puede contener flúor de forma natural , el espatoflúor , un mineral que contiene fluorita o fluoruro de calcio , se encuentra generalmente en venas subterráneas , lo que puede contaminar el agua de los mantos freáticos y ríos subterráneos que tengan



contacto con estos , es por esto que las agua de pozo pueden contenerlo hasta en 2.4 Partes Por Millón ( PPM ) , como ocurre en “ Pikes Peak “ de donde se obtiene el agua que surte a Colorado Springs en Estados Unidos .

La concentración adecuada de flúor es de entre 0.7 a 1.2 PPM , dependiendo de el promedio de temperaturas del medio ambiente , que mientras más se incrementa ésta , se incrementa el consumo de agua y se debe de reducir la cantidad de flúor en ésta .

Una forma de calcular el nivel de fluoruro que debe sostenerse en un lugar en el que se conoce el promedio de las temperaturas máximas del medio ambiente , es como sigue :

$$\text{mg / l de fluoruros} = 22.2 / E$$

En donde “ E “ es el promedio calculado del consumo diario de agua , por niños hasta los 10 años de edad , en términos de gramos de agua por kilogramo de peso del cuerpo , “ E “ se obtiene mediante la fórmula :

$$E = 10.3 + 0.725 X ( \text{ promedio de temperaturas máximas en grados centígrados } )$$

Esta fórmula se obtiene de la interpretación algebraica de la línea que es el resultado de graficar los niveles de fluoruro en el agua y el índice observado de fluorosis dental de los niños menores de 10 años de edad , además , se incluye como una variable a la temperatura promedio anual del medio ambiente , ya que la ingestión de agua está relacionada

directamente con esta temperatura ambiental , y como los individuos que son susceptibles de padecer la fluorosis dental , son los niños con edades de hasta 10 años , el valor de “E” incluye el factor 10.3 que es una constante que resulta de esta gráfica y 0.725 que es la pendiente de la recta resultante de graficar los puntos encontrados .

A manera de ejemplo , suponiendo que la temperatura promedio anual del medio ambiente fuera de 12.8 grados centígrados , calcular el nivel óptimo de fluoruros que debe de sostenerse en un suministro de agua .

Sustituyendo en la fórmula , tenemos que :

$$E = 10.3 + 0.725 X ( 12.8 ) = 10.3 + 9.3 = 19.6 \text{ gramos de agua al día / Kg. de peso corporal}$$

$$\text{y dado que : mg / l de fluoruros} = 22.2 / E$$

$$\text{mg / l de fluoruros} = 22.2 / 19.6 = 1.13$$

De acuerdo a un estudio de Gallagan y col. , 1957 ( 7 ) .

Es prudente anotar que la cantidad máxima permisible en México para este parámetro es de 0.7 PPM , y que este tipo de estudios se enfocó a la relación de caries contra fluorización del agua y no como antisepsis de esta , aunque los resultados son valiosos como una guía .

Ajustando esta fórmula para la normatividad de México , ésta quedaría como :

$$\text{mg / l fluoruros} = 13.72 / E$$

$$\text{sustituyendo : mg / l fluoruros} = 13.72 / 19.6 = 0.7$$

Uno de los inconvenientes de la ingestión de agua fluorurada , es que produce el moteado en el esmalte dentario , siempre y cuando se tenga una ingestión excesiva durante el periodo de la calcificación de la dentadura permanente , a niveles de 5.0 mg / l de flúor en el agua , casi todos los niños lo sufren en un grado de moderado a grave , en concentraciones de 1.0 mg / l lo presentan menos del 10 % , por lo que se recomiendan niveles inferiores al de 0.7 mg / l. ( 6 ) .

Es de mención que en México no se contempla la fluoruración del agua como un método de desinfección del agua , de acuerdo a la normatividad , solo la cloración , el uso de iones de plata y la ozonización están reconocidos como métodos adecuados para este fin.

( 14 )

## MICROBIOLOGÍA

### EXÁMENES BACTERIOLÓGICOS DEL AGUA

Las bacterias son pequeños organismos unicelulares y las hay de muchos tipos y clases diferentes . Existen dos clases principales , que son : las saprófitas , que en general son inocuas y necesarias para descomponer la materia orgánica muerta , y las parásitas , cuyo medio natural de desarrollo lo encuentran en los cuerpos vivos del hombre y los animales .

El propósito del examen bacteriológico del agua es indicar su contaminación con materia fecal , en el momento del muestreo , y por lo tanto , la posibilidad de que pueda transmitir enfermedades al consumirla.

Entre las enfermedades producidas por bacterias y transmitidas por medio del agua , pueden mencionarse a la salmonelosis , shigelosis , leptospirosis , gastroenteritis causada por *Escherichia coli* enteropatógena , tularemia y cólera entre otras , y las producidas por virus entericos humanos , o protozoarios parásitos , como los que producen las amibiasis , además de las enfermedades producidas por gusanos como la teniasis , ascariasis y cistisercosis entre las más importantes , así como la transmisión ocasional de la tuberculosis . ( 29 )

Como estas enfermedades involucran de una o de otra forma su paso por los intestinos , las bacterias de origen fecal son de primordial importancia en los exámenes del agua . El agua puede contener muchos tipos de organismos cuyo medio ambiente habitual sea el suelo , el agua o el aire .

Entre estos organismos se encuentran bacterias , algas , protozoarios y otros . En la materia fecal se encuentran una gran variedad de estos organismos , algunos son inocuos y su presencia es normal , ya que casi siempre se encuentran en el intestino y no causan ninguna enfermedad , sin embargo , se encuentran microorganismos que pueden o no producir enfermedades en ciertos individuos aparentemente sanos , así como los microorganismos que generan enfermedades generalizadas como epidemias , y muchas de estas se transmiten por medio del agua , esto es, cuando el excremento de enfermos de cualquier tipo , se mezcla con el agua , y cualquier otro individuo la ingiere .

Si la materia fecal fuera fluorescente , seria sencillo detectar su presencia , pero como no es así , se tiene que emplear un método indirecto que indique su presencia , así como la de los organismos patógenos que la acompañan .

En 1880 , Von Fritsch ( 29 ) inició la Bacteriología Sanitaria del agua como una ciencia , al describir a la *Klebsiella pneumoniae* y la *K. rhinoscleromatis* como microorganismos característicos de la presencia de contaminación fecal humana . Después de un corto tiempo , Escherich identificó a *Bacillus coli* como un indicador de contaminación fecal . En los años siguientes , se siguió empleando al grupo coliforme como un indicador de contaminación fecal , la gran cantidad de información , tanto física como bioquímica del grupo coliforme , hizo posible encontrar características de ciertos miembros de ese grupo más cercanas a la contaminación de origen fecal humana . Se seleccionaron cuatro pruebas , Indol , Rojo de Metilo , Voges-Proskauer y la prueba del Citrato , lo que dió origen a la prueba “ IMViC “ , por sus siglas en ingles ( Indol , Methyl red , Voges-Proskauer y Citrate ) con lo que se logró diferenciar en algunos casos entre coliformes fecales y no fecales , ya que los resultados :

<b>Indol</b>	<b>POSITIVO</b>	<b>POSITIVO</b>	<b>NEGATIVO</b>
<b>Rojo de metilo</b>	<b>POSITIVO</b>	<b>NEGATIVO</b>	<b>POSITIVO</b>
<b>Voges-Proskauer</b>	<b>NEGATIVO</b>	<b>NEGATIVO</b>	<b>NEGATIVO</b>
<b>Citrato</b>	<b>NEGATIVO</b>	<b>NEGATIVO</b>	<b>NEGATIVO</b>

Considerados como resultados de origen fecal y los tipos :

<b>Indol</b>	<b>NEGATIVO</b>	<b>NEGATIVO</b>	<b>NEGATIVO</b>
<b>Rojo de metilo</b>	<b>NEGATIVO</b>	<b>NEGATIVO</b>	<b>NEGATIVO</b>
<b>Voges-Proskauer</b>	<b>POSITIVO</b>	<b>POSITIVO</b>	<b>NEGATIVO</b>
<b>Citrato</b>	<b>POSITIVO</b>	<b>NEGATIVO</b>	<b>POSITIVO</b>

Considerados como de origen no fecal , y las 10 posibilidades IMViC restantes quedan dentro de un grupo intermedio .

Debido a que esto no establecía los criterios necesarios para diferenciar el origen de la contaminación y además de que se aplicaban una gran variedad de exámenes bacteriológicos , en 1909 la Asociación Americana de Salud Pública de Estados Unidos ( American Public Health Association A.P.H.A ) efectuó la primera edición del manual Métodos Normalizados ( Standard Methods ) en el cual se define al grupo coliforme y la metodología para diferenciarlo , y las demás metodologías para examinar aguas dependiendo de su origen .

Actualmente en la 17 edición publicada en 1992 de Métodos Normalizados Para el Análisis de Aguas Potables y Residuales , se encuentra la siguiente definición :

El grupo coliforme está formado por todas las bacterias aerobias y anaerobias facultativas , gramnegativas , no formadoras de esporas y con forma de bastón que fermentan la lactosa , produciendo gas y ácido en 48 horas a 35 grados centígrados .

La prueba estándar para el grupo coliforme puede realizarse mediante una técnica de fermentación en tubos múltiples a través de las fases de prueba supuesta y confirmativa , o por la técnica de filtro de membrana .

De acuerdo a la técnica del filtro de membrana , el grupo coliforme puede definirse como el formado por las bacterias aerobias y anaerobias facultativas, gramnegativas , no esporuladas y de forma alargada , que desarrollan una colonia roja con brillo metálico en un medio tipo Endo que contenga lactosa tras una incubación de 24 horas a 35 grados centígrados , se observa una reacción de citocromo oxidasa ( CO ) negativa y una de

beta galactocidasa ( ONPG ) positiva . En esta técnica todas las colonias rojas , rosadas , azules , blancas o incoloras sin brillo suelen ser consideradas como no coliformes .

El grupo coliforme así definido se caracteriza por producir aldehídos a partir de la fermentación de la lactosa . Aunque esta característica bioquímica forma parte de la vía metabólica de la producción de gas en la prueba de los tubos múltiples , pueden observarse variaciones en el desarrollo del brillo metálico entre las distintas cepas de coliformes . Sin embargo , esta ligera diferencia en la definición del indicador no afecta su significado sanitario , sobre todo si se han hecho estudios adecuados para establecer la relación entre los resultados por el método del filtro de membrana y los obtenidos con el de dilución en tubos estándar. ( 2 , 10 , 29 )

En ambos casos , ya sea por fermentación en tubos o en filtración por membranas , se deben de efectuar pruebas confirmativas para coliformes fecales , de no existir fermentación y presencia de ácido en el primero y de no existir colonias con brillo metálico en el segundo , se da por terminada la prueba al no detectar la presencia de organismos del grupo coliforme . La metodología se describe con detalle en el apéndice

El examen bacteriológico rutinario del agua está basado en la determinación del número de bacterias presentes y de la presencia o ausencia de organismos de origen fecal .

El examen bacteriológico rutinario del agua no busca directamente microorganismos patógenos . Se buscan organismos indicadores del grupo coliforme , característicos de la contaminación con materia fecal .

Los principales organismos indicadores de contaminación fecal , son las bacterias del grupo coliforme . Hay diferentes bacterias clasificadas dentro de este grupo , que son

huéspedes habituales de los intestinos de los animales de sangre caliente . La *Escherichia coli* es el miembro más representativo de este grupo .

Por otra parte , se efectúan determinaciones para la cuantificación de los microorganismos mesófilos aerobios , con lo cual se establece que en un recuento elevado de este tipo de microorganismos indica la existencia de materia orgánica o condiciones favorables para la multiplicación de los microorganismos , lo que da información sobre el grado de exposición ambiental del producto .

El recuento heterótrofo de placa ( R.H.P. ) , actualmente sustituye al recuento estándar en placa , es un procedimiento cuyo objetivo consiste en calcular el número de bacterias vivas heterótrofas que existen en el agua y medir los cambios que se producen a raíz del tratamiento y distribución de las aguas . Las colonias pueden surgir en pares , cadenas , grupos o células únicas , todas ellas englobadas bajo el término de unidades formadoras de colonias ( UFC ) . El número final depende de la interacción entre las colonias en desarrollo . El método se describe con detalle en el apéndice . ( 2 , 29 , 30 )

Las muestras para estudio Microbiológico se recogerán en botellas de 125 ml , cuidadosamente lavadas , a las que se habrá dado un enjuague final con agua destilada y esterilizadas . En algunos casos se pueden emplear bolsas o envases preesterilizados .

En caso de muestreo de agua clorada , se adicionará previamente a la esterilización de 1 a 2 ml de solución de tiosulfato de sodio al 10 % , ( 10 g / l ) . La recogida de la muestra implica una sanitización previa de la salida del agua . ( 2 , 10 , 12 , 14 , 21 )



### III.- NORMATIVIDAD

#### 3.1 NORMATIVIDAD EN MÉXICO

El bienestar físico y mental , la prolongación y el mejoramiento de la calidad de la vida humana y la protección de las condiciones de salud para su desarrollo , son parte de las primeras líneas de la Ley General de Salud de nuestro País , parte de las reglas que nos permiten funcionar como sociedad y actuar de un modo civilizado al acatar estos lineamientos , y aún más , nos permiten vivir mejor . ( 23 )

Parte de ese sentir es el que se debe de tener presente al fijarnos las metas o parámetros a los que podemos aspirar al tratar de producir un bien , por lo que se han fijado algunos límites de calidad que periódicamente se revisan para que cada vez la calidad de los productos sea mejor , dando tiempo y paso a la tecnología para lograrlo.

El objetivo primordial de un sistema público de purificación de agua , es el de suministrar agua segura y de una apariencia estética a los consumidores , sin interrupciones y a un costo razonable. ( 20 ) , por otro lado , el objetivo de los productores de agua purificada embotellada , es primeramente su comercialización .

Las reglas y objetivos marcados para el agua purificada embotellada , permiten también poder iniciar y modificar los proyectos industriales de maquinaria , equipo , instalaciones , etc. de una planta purificadora de acuerdo a los límites de calidad deseados ,

incluso se puede proponer mejoras que garanticen que el producto terminado tenga mejor calidad que la marcada por la ley .

En este momento es conveniente indicar que el agua baja en sales no es necesariamente la mejor , esa característica es buena para las personas que retienen sales o tienden a formar cristales , pero no es buena su ingestión exclusiva , ya que normalmente el cuerpo humano requiere de las sales naturales disueltas en el agua para funcionar correctamente . ( 32 )

En 1995 , México , después de dos años de estudio del proyecto de norma para el agua purificada embotellada , publicó en el Diario Oficial de la Federación la siguiente :  
Norma Oficial Mexicana NOM-041-SSAI-1993 Bienes y Servicios . Agua purificada envasada . Especificaciones sanitarias .

#### Disposiciones sanitarias

El producto objeto de esta norma , además de cumplir con lo establecido en el Reglamento 1 , debe ajustarse a las siguientes disposiciones .

La fuente de abastecimiento de agua debe sujetarse a las disposiciones establecidas en el reglamento . ( Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Control Sanitario de Actividades , Establecimientos , Productos y Servicios . ) ( 21 )

El lavado y desinfección de envases , debe realizarse con soluciones sanitizantes que no alteren o sedan sustancias que modifiquen las características del producto .

Las plantas purificadoras de agua deben estar diseñadas y establecidas en instalaciones que permitan efectuar correctamente las buenas prácticas de fabricación

En las plantas purificadoras de agua se deben llevar registros de las pruebas efectuadas a la materia prima ( agua ) producto en proceso , producto terminado , lavado de envases , mantenimiento sanitario del equipo , líneas de producción , accesorios y número de lote asignado al producto , los cuales deben conservarse por un año a disposición de la autoridad sanitaria .

#### Especificaciones sanitarias

El producto objeto de este ordenamiento , debe cumplir con las siguientes especificaciones :

#### Organolépticas y físicas

<b>Olor</b>	<b>Inodoro</b>
<b>Sabor</b>	<b>Insípido</b>

	<b>Límite Máximo.</b>
<b>Color</b>	<b>15 unidades de color verdadero en la escala platino - cobalto . Únicamente el producto por sólidos disueltos en el agua</b>
<b>Turbiedad</b>	<b>5 Unidades de turbidez nefelométricas ( UTN )</b>

#### Fisicoquímicas

<b>pH</b>	<b>6.5 a 8.5</b>
-----------	------------------

## Fisicoquímicas ( continua )

Limite Máximo en miligramos por litro ( mg/l )

<b>Alcalinidad total como CaCO<sub>3</sub></b>	<b>300.00</b>
<b>Aluminio</b>	<b>0.20</b>
<b>Arsénico</b>	<b>0.05</b>
<b>Bario</b>	<b>0.70</b>
<b>Cadmio</b>	<b>0.005</b>
<b>Cianuros como CN<sup>-</sup></b>	<b>0.05</b>
<b>Cloro residual libre después de un tiempo de contacto mínimo de 30 minutos</b>	<b>0.10</b>
<b>Cloruros como Cl<sup>-</sup></b>	<b>50.00</b>
<b>Cobre</b>	<b>1.0</b>
<b>Cromo total</b>	<b>0.05</b>
<b>Dureza total como CaCO<sub>3</sub></b>	<b>200.00</b>
<b>Fenoles o compuestos fenólicos</b>	<b>0.001</b>
<b>Fierro</b>	<b>0.30</b>
<b>Fluoruros como F<sup>-</sup></b>	<b>0.70</b>
<b>Manganeso</b>	<b>0.05</b>
<b>Mercurio</b>	<b>0.001</b>
<b>Nitratos como N</b>	<b>10.00</b>
<b>Nitritos como N</b>	<b>0.05</b>
<b>Nitrógeno amoniacal como N</b>	<b>0.50</b>
<b>Nitrógeno orgánico total como N</b>	<b>0.10</b>
<b>Oxígeno consumido en medio ác.</b>	<b>2.00</b>
<b>Ozono al envasar</b>	<b>0.40</b>
<b>Plata</b>	<b>0.05</b>
<b>Plomo</b>	<b>0.02</b>
<b>Sólidos disueltos totales</b>	<b>500.00</b>
<b>Sulfatos como SO<sub>4</sub><sup>2-</sup></b>	<b>250.00</b>
<b>Sustancias activas al azul de metileno ( SAM )</b>	<b>0.50</b>
<b>Trihalometanos totales</b>	<b>0.10</b>
<b>Zinc</b>	<b>3.00</b>

## Microbiológicas

Límite Máximo

Mesofilicos aerobios <sup>3</sup> UFC/ml	100
Coliformes totales <sup>4</sup> NMP/100 ml	no detectable
Coliformes totales <sup>5</sup> UFC/100 ml	cero
<i>Vibrio cholerae</i> <sup>6</sup>	negativo

3/ Unidades Formadoras de Colonia ( UFC )

4/ Técnica del Número Más Probable ( NMP )

5/ Método de filtración por membrana

6/ Bajo situaciones de emergencia sanitaria la Secretaria de Salud , sin perjuicio de las atribuciones de otras dependencias del Ejecutivo establecerá los casos en los que se habrá de determinar la presencia de este tipo de agente biológico.

## Plaguicidas

Límite Máximo en microgramos por litro

Aldrin y Dieldrin ( separados o combinados )	0.03
Clordano ( total del isómero )	0.30
DDT ( Dicloro Difenil Tricloro etano ) ( total de isómeros )	1.00
Gamma - HCH ( lindano )	2.00
Hexaclorobenceno	0.01
Heptacloro y epóxido de heptacloro	0.03
Metoxicloro ( 1,1,1-tricloro, 2,2, bis ( p-metoxi-fenil ) etano	20.00
2,4 - D ( ácido 2,4 - diclorofenoxiacético )	30.00

Bibliografía : ( 10 )

### 3 . 2  NORMATIVIDAD EN ESTADOS UNIDOS DE NORTEAMERICA

En 1974 , la Administración del Medio Ambiente y Contaminación de Estados Unidos , ( Environment Pollution Administration , EPA ) , estableció la primera regulación nacional interina del agua para beber , ( National Interim Primary Drinking Water , NIPDWR ) , en la que se estableció los niveles máximos de una variedad de químicos orgánicos e inorgánicos , así como los parámetros físicos , Microbiológicos y de contaminantes radiactivos .

En 1986 la EPA estableció las reglas a nivel nacional con las regulaciones nacionales primarias para agua para beber ( National Primary Drinking Water Regulations , NPDWR ) y siguiendo un esquema de mejoramiento progresivo de la calidad , se pretende pasar de un listado de 49 contaminantes en la década de los ochenta a al rededor de 190 para el año 2000 .

Los criterios de calidad para el agua purificada , son básicos para designar los criterios de todo proceso de tratamiento de agua . ( 20 )

### 3 . 3  NORMATIVIDAD DE LA ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD “OMS”

En 1980 La Organización Mundial de la Salud , OMS ( World Health Organization , WHO ) estableció las especificaciones del agua purificada que son aceptadas por muchos países , y se basan en estudios de los efectos y la tolerancia en los humanos a los componentes y demas parámetros ahí marcados . ( 20 , 24 )

### III.- 3.1 3.2 3.3 Tabla Especificaciones sanitarias y fisicoquímicas para el agua

1.- Agua purificada envasada NOM 041-SSA1-1993. México 2.- Agua embotellada Code of Federal Regulation 21CFR103.35 U.S.A. 3.- Para beber de acuerdo a los lineamientos de la Organización Mundial de la Salud ( OMS ) , Geneva , 1996

#### Organolepticas y Fisicas .

México NOM 041 EE.UU.21CFR103.35 OMS Geneva 1996  
Límite máximo

Color U Pt/Co o TCU o Unidades de Color Verdadero	15	15	15
Olor	Inodoro	no detectable por dos catadores a 12 °C y no detectable por tres catadores a 25 °C.	aceptable
Sabor	Inspido		aceptable
Turbiedad UTN	5	10	5

#### Fisicoquímicas .

México NOM 041 EE.UU.21CFR103.35 OMS Geneva 1996

pH	6.5 a 8.5	6.5 a 8.5	< 8
----	-----------	-----------	-----

**Fisicoquímicas ( continua )**

México NOM 041 EE.UU.21CFR103.35 OMS Geneva 1996  
 Límite máximo en miligramos por litro

Alcalinidad total como CaCO <sub>3</sub>	300.00		
Aluminio	0.20	0.20	0.20
Antimonio			0.005
Arsénico	0.05	0.05	0.01
Bario	0.70	2.00	0.70
Boro		1.00	0.30
Cadmio	0.005	0.005	0.003
Cianuro como CN <sup>-</sup>	0.05	0.05	0.07
Cloro residual libre después de un tiempo de contacto de 30.0 min	0.10		0.50
Cloruros como Cl <sup>-</sup>	250.00	25.00	250.00
Cobre	1.00	1.00	2.00
Conductividad en micro S/cm.		400.00	
Cromo Total	0.05	0.10	0.05
Dureza total CaCO <sub>3</sub>	200.00		500.00
Fenoles o compuestos. fenólicos	0.001	0.0005	
Hierro	0.30	0.20	0.30
Fluoruro como F <sup>-</sup>	0.7	0.8 a 1.70	1.50
Fosfatos como P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>		0.40	
Magnesio		50.00	
Manganeso	0.05	0.05	0.10
Mercurio	0.001	0.002	0.001
Molibdeno			0.07
Níquel			0.02
Nitratos como N NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	10.00	10.00	50.00
Nitritos como N NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	0.05	1.00	3.00
Nitrógeno ( Kjeldal )	0.10		
Nitrógeno Amon. NH <sub>4</sub>	0.50	0.05	
Oxígeno medio ácido	2.00		
Ozono al envasar	0.40	0.40	
Plata	0.05	0.10	
Plomo	0.02	0.005	0.01
Selenio		0.05	0.01
Sodio			200.00
Sólidos disueltos totales	500.00		1,000.00



**Fisicoquímicas ( continua )**

México NOM 041 EE.UU.21CFR103.35 OMS Geneva 1996  
 Límite máximo en miligramos por litro

Sulfatos como SO <sub>4</sub> <sup>-</sup>	250.00		250.00
Sustancias activas al azul de metileno SAM	0.50		
Trihalometanos totales	0.1		0.001
Zinc	0.5		3.0

**Microbiológicas :**

México NOM 041 EE.UU.21CFR103.35 OMS Geneva 1996

Coliformes fecales			no detectable
Coliformes totales NMP/100 ml	no detectable	menos de 2.2	no detectable
Coliformes totales UFC/100 ml	cero	no más de 1	no detectable
<i>E. coli</i> o bacterias coliformes termorresistentes /100 ml			no detectable
Mesofilicos aerobios UFC/ml	100 máximo		
<i>Salmonella</i>	ausente		
<i>Streptococcus</i> fecales	20 máximo		
<i>Vibrio cholerae</i>	Negativo		

UFC : Unidades Formadoras de Colonias , NMP : Número Más Probable

**Plaguicidas , pesticidas y otros químicos orgánicos sintéticos:**

México EE UU OMS  
 NOM 041 21CFR103.35 Geneva 1996  
 Limite Máximo en microgramos por litro

1,2-dibromo-3-cloropropano		0.20	1.00
1,2-dicloropropano			20.00
1,3-dicloropropano			20.00
2,4,5-T			9.00
2,4,5-TP ( Silvex )		50.00	9.00
2,4-D(ácido 2,4 - diclorofenoxiacético )	30.00	70.00	30.00
Alachlor		2.00	20.00
Aldrin y Dieldrin separados o combinados	0.03		0.03
Atrazine		3.00	2.00
Bentazone			30.00
Carbofuran		40.00	5.00
Clordano ( total de isómeros )	0.30	2.00	0.20
clorofenoxi- (herbicidas) 2,4D 2,4DB MCPA			90.00
Clorotoluron			30.00
DDT ( Dicloro difenil tricloro etano )	1.00		2.00
Dibromuro de etileno		0.05	
Diclorprop			100.00
Fenoprop			9.00
Gamma-HCH ( lindano )	2.00	0.20	
Heptacloro y epóxido de heptacloro	0.03	0.20	0.03
Hexaclorobenceno	0.01	0.40	1.00
Isoproturon			9.00
Lindano		0.20	2.00
Mecoprop			10.00
Metoxicloro ( 1,1,1-tricloro,2,2, bis (-metoxi-fenil ) etano	20.00	40.00	20.00
PCB's como decaclorobifenilo		0.50	
Pendimetalin			20.00
Pentaclorofenol		1.00	9.00
Permetrin			20.00
Propanil			20.00
Pyridate			100.00
Simazine			2.00
Toxafeno		30.00	

**Químicos orgánicos :**

México NOM 041 EE.UU.21CFR103.35 OMS Geneva 1996

Límite máximo en miligramos por litro

1,1,1-tricloroetano		0.200	0.200
1,1,1-Tricloroetano		0.200	0.070
1,1-dicloroetileno		0.007	0.030
1,2-Diclorobenceno			1.000
1,2-dicloroetano		0.005	0.030
1,2-dicloropropano		0.005	
1,4-Diclorobenceno			0.300
Benceno		0.005	0.010
Benzopireno			0.0007
cis-1,2-dicloroetileno		0.070	
Cloruro de vinilo		0.002	0.005
Diclorometano			0.020
Estireno		0.100	
Estireno			0.020
Etilbenceno		0.700	
Etilbenceno			0.300
Monoclorobenceno		0.100	
Monoclorobenceno			0.300
o-diclorobenceno		0.600	
p-diclorobenceno		0.075	
Tetracloroetano			0.040
Tetracloroetileno		0.005	
Tetracloruro de carbono		0.005	0.002
Tolueno		1.000	0.700
trans-1,2-dicloroetileno		0.100	
Triclorobencenos total			0.020
Tricloroetileno		0.005	
Tricloroetileno		0.005	
Xilenos		10.000	0.500

*Nota : La columna EE.UU. 21CFR 103.35 se actualizó y corrigió con datos de :  
 " FEDERAL REGISTER . U.S. GOVERNMENT , Nov. 13 , 1995 , Vol. 60 , Num. 218.  
 From de federal Register Online via GPO Acces ( wais.access . gpo.gov )  
 ( DICID:fr13no95-16 ) Departamnet of Health and Human Services , Food and Drug  
 Administration " , y con datos de : " 40 CFR 143 ; FR pag. 57127 " , en donde la  
 " Environment Pollution Administration ( EPA ) " , estableció limites secundarios para el  
 agua para beber . ( 10,24,25,26 )*

IV CONTROL DE CALIDAD QUE SE REALIZAN EN LAS  
PLANTAS PURIFICADORAS

#### IV. CONTROL DE CALIDAD QUE SE REALIZA EN LAS PLANTAS PURIFICADORAS

##### 1.- Control de contenido de cloro :

La gran mayoría de los pequeños purificadores , cuentan con un comparador de cloro , éste es una versión muy práctica de un colorímetro con dos cubetas de reacción y dos series de placas de acrílico de diferentes tonos de amarillo y rojo a cada lado de las cubetas , estos diversos tonos están graduados con la correspondiente concentración de cloro y de pH para la reacción colorimétrica de ortotolidina y rojo de fenol respectivamente , este comparador fue creado específicamente para el control de cloro y de pH en albercas , sin embargo se adecua muy bien para la cloración del agua a purificar.

Con este comparador se mide la cantidad de cloro que tiene la cisterna o la concentración de éste que presenta el agua del autocisterna o “ PIPA “ , para determinar que cantidad de cloro ( hipoclorito de sodio ) se debe agregar .

Este sencillo procedimiento de control de calidad , no siempre se efectúa .

Existen algunas indicaciones que se deben de considerar para el uso adecuado de este comparador , las cuales se mencionan en el apartado de recomendaciones .

##### 2.- Análisis Microbiológico :

Algunas plantas purificadoras de agua excepcionales , efectúan controles Microbiológicos periódicos y constantes , en estos se incluyen muestras de agua de antes , durante y después del proceso de purificación , así como el análisis Microbiológico del agua

que se emplea para el enjuague final de los envases , sin embargo , la gran mayoría de éstas no efectúan este tipo de controles internos y sólo se atienden a los monitoreos efectuados por las autoridades sanitarias .

### 3.- Calidad fisicoquímica :

Las pequeñas plantas purificadoras de agua efectúan análisis fisicoquímicos de su producto únicamente cuando les son exigidos por las autoridades , una serie de éstos análisis ocasionalmente , en el mejor de los casos , una vez al año .

### 4.- Control en los envases :

En forma general , los productores de agua purificada , se preocupan de la apariencia general de su producto , por lo que efectúan inspecciones constantes y continuas de éste , revisan la presencia de partículas suspendidas en forma visual , en algunos casos se auxilian de lámparas fluorescentes colocadas estratégicamente en la línea de producción .

También revisan visualmente el aspecto de los envases de plástico o de cristal antes y después de someterlos al proceso normal de lavado , seleccionando los que requieran de un lavado más riguroso .

Algunos productores efectúan una determinación de arrastre de hidróxido de sodio , situación que se presenta cuando no se efectúa un buen enjuague .

## CONTROL Y MUESTREO QUE EFECTÚA LA SECRETARIA DE SALUD.

En algunas pequeñas plantas purificadoras de agua se efectúan en forma esporádica algún tipo de control de calidad , es el caso de plantas que se encuentran distanciadas de los centros de control sanitario , en estas se efectúa una inspección trimestral , bimestral o

mensual , dependiendo de las facilidades administrativas para su control y de los resultados de análisis anteriores .

El método de muestreo , consiste en que durante la visita de inspección se recolectan tres muestras de agua purificada embotellada al azar . En algunos casos especiales , se efectúan muestreos directamente en los centros de comercialización y distribución , incrementando el número de muestras a cinco , diez , quince e incluso a la retención precautoria de todo el lote de producción del día y hasta el aseguramiento de todo el producto de la misma marca comercial .

La identificación de las muestras consiste en que se etiquetan y marcan con los datos pertinentes , como son :

Nombre del producto	Nombre y dirección del productor
Nombre de la marca comercial	Número de lote
Número de Acta y Orden de Verificación	Número y Nombre de la Jurisdicción Sanitaria correspondiente
Firma del Verificador y del Productor o su representante	además se indica la fecha , el tipo de análisis que se efectuará y la premura de éste .

La frecuencia de estos muestreos normalmente es mensual , y varía de acuerdo a diversos criterios de las autoridades sanitarias , pudiendo ser efectuados incluso semanalmente , dependiendo de el grado de riesgo de transmisión de enfermedades , el cual está relacionado directamente con los resultados de los análisis de Laboratorio y de los monitoreos o verificaciones de las condiciones generales de elaboración .

El manejo de las muestras , una de estas tres muestras es trasladada por el verificador sanitario al Laboratorio correspondiente de la Secretaria de Salud , las otras dos muestras se le dejan al productor , indicándole que debe efectuar por su cuenta en una de

ellas , los análisis indicados , la tercer muestra queda para el caso de que se tengan dudas o de que no coincidan los resultados de los Laboratorios y sea analizada por un tercero.

Frecuentemente transcurren más de seis meses sin que el productor efectúe ningún tipo de análisis por su cuenta , con la creencia de que el supuesto buen estado de las instalaciones , equipo y maquinaria , así como el uso repetido de el procedimiento de purificación y mantenimiento , son garantía de la buena calidad de su producto .



## V.- CONCLUSIONES :

Antes de establecer una planta purificadora de agua , se requiere de un análisis completo de la fuente de agua a purificar , para utilizar la metodología de purificación más adecuada .

Para cambiar o empezar a usar una fuente de abastecimiento de agua , se debe conocer los parámetros físicos , químicos y microbiológicos de éste nuevo suministro , y así poder establecer si se pueden implementar o acondicionar las modificaciones que se requieran en las metodologías para su purificación , o en su defecto , descartar éste suministro por no poderse implementar las tecnologías adecuadas .

El mejor abastecimiento de agua , es aquel que no requiere de purificación al encontrarse dentro de los límites establecidos para el agua purificada .

Los métodos de purificación del agua , dependen de la calidad de la materia prima , si el agua que se desea purificar se encuentra dentro de los parámetros establecidos , no se requerirá emplear ningún método .

Las aguas residuales son susceptibles de purificación , sin embargo , se deberá escoger este recurso solo como última instancia , ya que su depuración resulta muy costosa comparada con cualquiera otro suministro .

En la metodología de purificación por filtración rápida y cloración , es conveniente emplear agua potable , que no contenga un exceso de materia suspendida , este método se aplica al agua extraída de pozos , circunstancia que es de lo más común en la Ciudad de México y sus alrededores .

Con el fin de evitar epidemias de origen hídrico , se requiere de una serie de controles , por lo que es recomendable lo siguiente , entre otras acciones :

Los suministros masivos de agua , como pozos , ríos y lagos , deben de controlarse con un juego completo de análisis físicos , químicos y microbiológicos , con una periodicidad tal que permita levantar una estadística adecuada , y en base a esta estadística , determinar la periodicidad óptima de muestreo y tipo de análisis para mantener un nivel de calidad aceptable para su consumo .

De igual manera , los exámenes Microbiológicos de agua purificada , deben de efectuarse con una periodicidad tal que permita realizar estadísticas de control de calidad , para así poder establecer los niveles de periodicidad de muestreo y análisis que proporcionen un nivel de confianza aceptable . De esta manera , cada compañía purificadora podrá establecer sus niveles de calidad y confianza , dentro de los parámetros establecidos y de acuerdo a los recursos y metodologías que emplea . Este estudio deberá de repetirse con cualquier modificación importante en la planta .

Las conclusiones que se presentan se basan en el hecho de que se consume agua purificada embotellada , sin embargo , quiero mencionar que este consumo se debe a la confianza que depositan las personas en este producto , y a la desconfianza que estas mismas personas le tienen al agua que se suministra a través de la red general de abastecimiento , desconfianza que en muchos casos esta bien fundada , ya que la calidad del agua que les llega a sus casas es terrible , debido principalmente a la presencia de materias extrañas presentes en el agua que les confiere un color y sedimento café , originadas por la interacción del agua y los sanitizantes con la tubería de distribución , principalmente , óxido de hierro y partículas de asbesto entre otras .

Las empresas dedicadas a la purificación de agua , requieren de personal calificado para tener un control de calidad y producto de acuerdo con la normatividad establecida por las autoridades sanitarias .

En mi opinión se debería de regresar al esquema legal anterior , en el cual se requería de un Químico especialista en la rama de Bacteriología y Parasitología , como responsable de la calidad de este tipo de productos .

## VI.- SUGERENCIAS

Las compañías que purifican y envasan agua , tienen como fin primordial la de comercializar su producto , tener una ganancia y permanecer en el mercado . Dado lo anterior , y para que esto suceda , se recomienda que :

Efectúen periódicamente los controles de calidad necesarios para garantizar la inocuidad de su producto

Deben contar con un sistema de abasto continuo y fijo de agua , previamente examinado y dentro de los parámetros establecidos , con exámenes microbiológicos semanales por duplicado del producto terminado y con un examen microbiológico mensual de los puntos críticos del proceso , esto es :

Una muestra de la materia prima , ( agua del pozo , cisternaored de distribución )

Una muestra de la salida del filtro de arenas

Una muestra de la salida del filtro de carbón activado

Una muestra de la salida de las lámparas de luz ultra violeta

Una muestra de la salida del sistema de ozonización

Una muestra de la salida del sistema de ósmosis inversa

Una muestra de la salida del agua de enjuague final de los envases y

Dos muestras del producto terminado .

Algunas de estas muestras pueden coincidir con uno o más de los puntos críticos , por lo cual solo se tomará una muestra representativa de ese punto en ese caso , sin omitir los demás puntos críticos .

Efectuar la determinación de búsqueda de residuos alcalinos por el empleo de hidróxido de sodio en los envases después del enjuague final , empleando un indicador del tipo de la fenolftaleína o del rojo de fenol , aplicando unas gotas de este indicador al agua colectada del residuo que queda en los envases después del enjuague en los envases inmediatamente después de efectuado , comparando el desarrollo de color , contra un blanco que se hace con agua purificada con el mismo número de gotas del reactivo y en el mismo volumen de agua . Esta determinación se debe de efectuar cada vez que se sustituya la solución de hidróxido de sodio , si se encuentran restos de este producto , se deberá de aumentar el tiempo de enjuague , y/o efectuar la limpieza pertinente a los aspersores que emiten el agua purificada de enjuague o aumentar la temperatura de esta agua .

El agua que resulta de este proceso , debe de colectarse y neutralizarse con una solución de ácido clorhídricoosulfúrico antes de desecharla , también se le puede dar un uso secundario en la limpieza de la planta , en el lavado exterior de los envases , así como en el uso de servicios sanitarios

Emplear personal capacitado para realizar su actividad , así como capacitar continuamente al personal con que ya cuentan

Basándose en diseños y proyectos , mejorar continuamente las instalaciones y equipos de purificación y envasado que les permitan ofrecer un producto de mejor calidad .

Contar con un Laboratorio de control de calidad que les permita conocer por lo menos los parámetros de detección más sencillos como : potencial de hidrogeno ( pH ) , dureza total EDTA , alcalinidad total , sólidos disueltos totales por conductimetría , cloruros , cloro libre o residual , color y finalmente las determinaciones organolépticas de olor y sabor .

Las técnicas para efectuar éstas determinaciones , así como las técnicas de Microbiología , y los esquemas de autoverificación , se describen en el apéndice de éste trabajo .

## RECOMENDACIONES PRÁCTICAS :

Aparte de las recomendaciones anteriores , también se pueden establecer las siguientes , tomando en cuenta que :

Los filtros son para ensuciarse , por lo que se deben de limpiar

Los filtros de carbón activado son para retener sustancias , compuestos y otros que confieren propiedades indeseables al agua , pero esto tiene un limite , que depende de varios factores , principalmente la calidad del agua que se procesa y la cantidad de productos químicos que se agregan , factores que finalmente saturarán el filtro , y que para conocer este momento , se deben efectuar regularmente las pruebas de laboratorio que lo pongan de manifiesto , si se emplea cloro o alguno de sus derivados para desinfectar el agua , se debe de medir la cantidad de cloro libre en el agua a la salida de las llenadoras , que invariablemente debe de ser CERO , de otra manera se debe de efectuar un retrolavado , o agregar el carbón activado que se halla perdido y que sea suficiente para regresar a los niveles de trabajo , que por lo general son de cuatro quintas partes del filtro , o efectuar una reactivación del carbón mediante el uso de una solución ácida , ya sea de ácido clorhídrico al 0.2% o ácido fosfórico o sulfúrico en la misma proporción , o sustituyendo el carbón por otro nuevo.

Para reactivar el carbón dentro de los filtros se procede de la siguiente forma :

Dado que es difícil homogeneizar de forma mecánica la solución de ácido dentro de los filtros , se puede proceder de dos formas que garantizan que esta solución llegue a todo

el filtro y se obtengan buenos resultados , una de estas consiste en cronometrar el tiempo que tarda en vaciar por completo el tanque . Llenarlo de nueva cuenta , permitir que se vacie aproximadamente la mitad empleando la mitad del tiempo , en este momento se agrega la mitad del volumen del ácido necesario para alcanzar un pH de 2 a 4 en la salida del filtro y se agrega agua hasta que se llene , se permite la salida de la mitad inferior del agua que no tiene ácido , utilizando el resto del tiempo requerido para su vaciado , se agrega la otra mitad del ácido y el agua que se requiera para su llenado , en este momento se verifica el nivel de pH , el cual debe de estar alrededor de 2 a 4 , se deja en reposo por dos horas y , descartando un pequeño volumen de agua acidulada por la válvula de drenaje , se mide de nueva cuenta el pH , si este se encuentra en valores aproximados al cuatro o menor , se considera que el proceso fue exitoso , de no ser así se repite el tratamiento .

La segunda forma de homogeneizar la solución ácida , es emplear una bomba hidráulica que se conecta a la salida de drenaje del tanque y se recicla por la parte superior por un periodo aproximado de treinta minutos , y se continua como se indicó en el parrafo anterior . En ambos casos , se efectúan retrolavados al término del tiempo , este retrolavado se efectúa tantas veces como sea necesario para tener una lectura de pH en la salida del filtro relativamente cercana al pH del agua de lavado . Este proceso también desinfecta el carbón , las arenas , gravas , tanque , y tuberías del filtro . Este procedimiento también se recomienda emplearlo cuando se tienen determinaciones positivas de coliformes fecales , o lecturas elevadas de microorganismos aerobios .

Dependiendo del tamaño y volumen del filtro , se emplean de entre tres y doce litros de ácido clorhídrico concentrado para filtros de entre cien y setecientos litros de capacidad ,



el ácido concentrado no se aplica directamente a los filtros , se efectúa una dilución previa de entre el 0.1 y 0.2 % , empleando recipientes de plástico de 19.0 litros con la mitad de agua , se inclinan ligeramente y empleando todas las precauciones como guantes careta y bata , se agrega de un litro a dos del ácido por una orilla del recipiente muy lentamente , ya que la disolución del ácido en el agua produce un incremento rápido de la temperatura , lo cual puede producir una ebullición casi instantánea del agua y salpicar el ácido de manera casi explosiva , agregue lentamente y poco a poco , agitando de vez en cuando y extreme sus precauciones .

Advertencia : El uso de este método , puede dañar la integridad de los filtros y tuberías , este método solo se puede aplicar a materiales resistentes a la acción corrosiva del ácido , como acero inoxidable , o plástico , o materiales que están adecuadamente recubiertos de una capa de pintura epóxica libre de plomo .

#### TRATAMIENTO CON SULFATO DE COBRE ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ )

Ocasionalmente durante el verano , se presentan contaminaciones con algas , las cuales le confieren olor , sabor y un color verde esmeralda , acompañada de algún grado de turbiedad al agua purificada . En los garrafones de cristal se presentan “ líneas” características de esta contaminación , estos envases deben de lavarse por separado con una solución ácida al 0.2 % en volumen de ácido clorhídrico preferentemente , aunque se puede emplear ácido fosfórico o ácido sulfúrico , auxiliándose con un escobillón adaptado

especialmente con un mango largo para su uso , o empleando un escobillón giratorio adaptado adecuadamente a un mecanismo de aire a presión .

Si la incidencia de envases contaminados no es muy grande , esto es , inferior al 3.0% de la producción , es lógico suponer que el problema es debido principalmente a un mal lavado de los envases y con incrementar el nivel de inspección de estos y mejorar su lavado e incrementar a 8 partes por millón la dosificación de cloro en el agua , antes de purificarla , es suficiente para controlar el problema , sin embargo , si ya se considera un problema la incidencia de estos garrafones con agua verde , se aplica un tratamiento con sulfato de cobre .

#### FUNDAMENTO :

El sulfato de cobre en concentraciones de entre 0.25 y 3.0 partes por millón ( PPM ) presenta un efecto bactericida , además de que controla y elimina la proliferación de algas .

El sulfato de cobre a estas concentraciones no produce ningún efecto nocivo para la salud en los peces ni en el hombre . La norma de calidad de agua purificada envasada , permite hasta un máximo de 1.0 PPM de cobre metálico , en 3.0 PPM de sulfato de cobre se tienen 0.77 <sup>u</sup> PPM de cobre . La misma norma , permite un máximo de 250.0 PPM de sulfatos . La dosis letal del sulfato de cobre es de 10.0 gramos para el hombre . ( 5 )

*1/ El peso molecular del sulfato cúprico pentahidratado es de 249.68 , el peso molecular del cobre es de 63.55 , de donde que , el 25.54% del sulfato de cobre pentahidratado corresponde en peso al cobre elemental , y 0.766 corresponde a ese porcentaje en base de 3.0 PPM.*

## SOLUCIÓN DE SULFATO DE COBRE

Prepare una solución de sulfato de cobre pentahidratado de buena calidad , químicamente puro , de la siguiente forma :

Pese 950.0 gramos de sulfato de cobre , introdúzcalos en un garrafón de plástico limpio de 19.0 litros , agregue aproximadamente 10.0 litros de agua destilada y agite hasta que se disuelva , agregue más agua destilada conforme se requiera y continúe agitando , hasta completar los 19.0 litros . En otro envase de la misma capacidad , coloque una etiqueta en la que se lea :

<b>SULFATO DE COBRE</b> <b>(CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O)</b>
SOLUCIÓN AL 0.05% 50,000 mg / loPPM ; 950.0 g / 19.0 l
EMPLLEAR 600 ml
POR CADA 10.0 METROS CÚBICOS DE AGUA
NOMBRE _____ FECHA _____ FIRMA _____
<b>PRECAUCIÓN TÓXICO</b>

Y mediante un embudo que tenga un lienzo limpio , transfiera la solución a este envase y coloque la tapa .

De esta solución se emplearán 600.0 ml para tratar a cada 10,000 litros de agua antes de someterlos al proceso de purificación , y es independiente de la cloración .

Se puede emplear menos cantidad de la solución de sulfato de cobre , dependiendo de la severidad de la contaminación .

Aplicando este tratamiento durante 10 días se controla la proliferación de algas.

APÉNDICE	PÁGINA
<b>7.1 ANÁLISIS QUÍMICOS</b>	
7.1.1 pH POTENCIAL DE HIDRÓGENO	75
7.1.2 ALCALINIDAD TOTAL	76
7.1.3 SÓLIDOS DISUELTOS TOTALES	78
7.1.4 DUREZA TOTAL EDTA	79
7.1.5 CLORUROS	82
7.1.6 COLOR	84
<b>7.2 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS</b>	
7.2.1 DETERMINACIÓN DE COLIFORMES	
7.2.1.1 TÉCNICA DEL NÚMERO MÁS PROBABLE NORMA -041-SSA1-1993	87
7.2.1.2 LABORATORIO NACIONAL DE SALUD PUBLICA 1989 SSA	98
7.2.1.3 MÉTODOS NORMALIZADOS EPA USA 1992	101
7.2.2 MÉTODO DE FILTRACIÓN POR MEMBRANA	111
7.2.3 RECUENTO TOTAL EN PLACA	
7.2.3.1 NORMA - 092-SSA1-1994	106
7.2.3.2 METODOS NORMALIZADOS EPA USA 1992	109
<b>7.3 AUTOVERIFICACIÓN</b>	121
7.3.1 CLORACIÓN	122
7.3.2 FILTRACIÓN POR ARENA Y GRAVA	123
7.3.3 DEODORIZACIÓN ( CARBÓN ACTIVADO )	124
7.3.4 LUZ ULTRAVIOLETA	125
7.3.5 LAVADO DE GARRAFONES	126
7.3.6 ENVASADO	128
7.3.7 COLOCACIÓN DEL TAPÓN	129
7.3.8 SELECCIÓN E INSPECCIÓN DE PRODUCTO TERMINADO	130
7.3.9 PRODUCTO TERMINADO	131

## 7.1.1 DETERMINACIÓN DEL pH ( POTENCIAL DE HIDRÓGENO )

### FUNDAMENTO

Se basa en la determinación de la actividad de los iones Hidrógeno (  $H^+$  ) medidos en un potenciómetro usando uno o dos electrodos . La fuerza electromotriz producida por el sistema de electrodos es proporcional al pH de la solución problema .

El pH es el logaritmo negativo de la concentración del ion hidrógeno en una solución acuosa o el logaritmo del recíproco de la concentración de iones hidrógeno .

Acidez. Es la capacidad cuantitativa del agua para reaccionar con los iones hidroxilos (  $OH^-$  )

Alcalinidad . Es la capacidad cuantitativa del agua para reaccionar con los iones hidrógeno (  $H^+$  ) .

### MÉTODO

Empleando un potenciómetro para medir el pH que conste de un electrodo de vidrio , un electrodo de referencia y un dispositivo para compensar la temperatura .

El circuito se completa a través del potenciómetro cuando los electrodos se sumergen en la solución problema . Se toma la lectura directamente de la pantalla y se reporta . Para trabajos de rutina utilícese un medidor de pH exacto y reproducible hasta 0.1 unidades de pH con una escala de 0 a 14 , y dotado de un ajuste compensador de temperatura . ( 10 )

## 7.1.2 DETERMINACIÓN DE ALCALINIDAD TOTAL

### DEFINICIÓN

La alcalinidad total se define como la capacidad cuantitativa del agua para reaccionar con iones hidrógeno, mide la suma de todas las bases titulables y su valor puede variar significativamente de acuerdo al pH del punto final.

### FUNDAMENTOS

La alcalinidad presente en el agua, se mide por titulación con una solución valorada de un ácido, que reacciona directamente con los iones hidroxilos ( $\text{OH}^-$ ), carbonato ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) y bicarbonato ( $\text{HCO}_3^-$ ). La alcalinidad del agua se expresa en miligramos de carbonato de calcio por litro ( $\text{mg CaCO}_3 / \text{l}$ ).

### REACTIVOS

Solución de tiosulfato de sodio 0.1 N ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ )

Disolver 25.0 gramos de tiosulfato de sodio pentahidratado y aforar a 1,000.0 ml con agua destilada

Solución de ácido clorhídrico (HCl) 0.10 Normal

Diluir exactamente 8.3 ml del ácido al 37% de pureza, gravedad específica a 20-24 grados centígrados de 1.174 - 1.189, en 1,000.0 ml de agua destilada previamente hervida y a temperatura ambiente, sin airear, para eliminar el bióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) que pudiera contener.

Solución indicadora de anaranjado de metilo ( indicador de PH 4 , 6 )

Disolver 0.5 g de anaranjado de metilo en agua destilada libre de bióxido de carbono y aforar a 1,000.0 ml con esta misma agua .

### METODOLOGÍA

Usar un volumen de muestra que requiera un gasto de ácido estandarizado menor de 25 ml . Ajustar la temperatura de la muestra a la temperatura ambiente . Con una pipeta volumétrica colocar la muestra en un vaso de precipitados , colocar la punta de la pipeta cerca del fondo del vaso .

Si se encuentra presente cloro residual agregar 0.05 ml ( una gota ) de solución 0.1 N de tiosulfato de sodio (  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  ) . Agregar 0.2 ml ( cinco gotas ) de la solución indicadora de anaranjado de metilo y titular con la solución 0.1 N del ácido clorhídrico , agregando gota a gota y con agitación , colocando el vaso de precipitados sobre una superficie blanca , hasta lograr un vire del color de anaranjado a rosa canela .

Cálculos :

Alcalinidad total mg de  $\text{CaCO}_3$  / l = { A x B x 50,000 } / ml de muestra

En donde :

A = ml de ácido gastado

B = Normalidad del ácido

50,000 = factor de relación del volumen analizado y el equivalente químico con la expresión de resultados en miligramos por litro o partes por millón

Ejemplo :

Calcular la alcalinidad de una muestra de agua purificada en la cual se gastaron 1.25 ml de solución de ácido clorhídrico 0.1 N para que se efectuara un cambio de color de anaranjado a rosa canela , si se usaron 10.0 ml de muestra .

Sustituyendo en la fórmula tenemos que :

$$\text{Alcalinidad total mg de CaCO}_3 / \text{l} = \{ 1.25 \times 0.1 \times 50,000 \} / 10.0 = 625.0$$

**Bibliografía ( 2 )**

### 7.1.3 SÓLIDOS DISUELTOS TOTALES

#### DEFINICIÓN

Sólidos disueltos totales , es la expresión que se aplica a los residuos de material que quedan en un recipiente después de la evaporación de una muestra y su consecutivo secado en una estufa a temperatura definida . Los sólidos disueltos totales , son parte de lo sólidos totales , excluyen a los sólidos volátiles e incluyen a una porción de los sólidos totales suspendidos .

Con algunas desviaciones , generalmente la concentración de los minerales en solución , guardan una relación con la conductividad del agua , aprovechando esta cualidad , se puede inferir directamente la concentración de los sólidos disueltos totales.



## MÉTODO

Se emplea un medidor de la conductividad , o conductancia del agua , el cual se encuentra previamente calibrado en ohmios recíprocos o mhos , que en el análisis del agua se emplean las unidades micromhos por centímetro de acuerdo al sistema internacional de unidades ( SIU ) , y cuenta con un compensador de temperatura , con lo cual la conductividad equivalente en micromhos / cm corresponde a la concentración de los solutos en el agua , previamente calibrado con agua destilada de buena calidad y recientemente hervida y atemperada . Se introduce en el agua problema y se toma la lectura directamente en la carátula digital del aparato , después se enjuaga con agua destilada , se sacude el exceso de agua y se guarda . ( 2 )

### 7.1.4 DUREZA DEL AGUA ( Método del EDTA )

#### DEFINICIÓN

Originalmente la dureza del agua se entendió como una medida de su capacidad para precipitar el jabón , de acuerdo con los criterios actuales , la dureza total , se define como la suma de las concentraciones de calcio y magnesio , ambos expresados como carbonato cálcico , en miligramos por litro

#### FUNDAMENTOS

En éste método se emplea como indicador el eriocromo negro T , el cual al ser agregado a una solución que contenga iones calcio y magnesio, reaccionan formando un

color rojo vino . Después , en un medio alcalino , se adiciona la solución de EDTA que remueve los iones calcio y magnesio de los complejos coloridos , formando complejos solubles . Cuando ha sido agregada suficiente solución de EDTA , para liberar todos los iones calcio y magnesio , el indicador regresa a su color azul original .

## REACTIVOS

### Solución amortiguadora pH 10.0

Disolver 16.9 gramos de cloruro de amonio (  $\text{NH}_4\text{Cl}$  ) en 143 mililitros de hidróxido de amonio concentrado (  $\text{NH}_4\text{OH}$  ) , agregar 1.25 g de sal EDTA de magnesio y diluir a 250 ml con agua destilada.

### Solución indicadora de eriocromo negro T

Mezclar 0.5 g del indicador eriocromo negro T ( sal sódica del ácido sulfónico 1-(1-hidroxi-2-naftilazo)-5-nitro-2-naftol-4-) , con 4.5 gramos de hidroxilamina (  $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$  ) .  
Disolver esta mezcla en 100 ml de alcohol etílico al 95 % , alcohol isopropílico .

### Solución de EDTA 0.01 M

Pesar 3.723 g de la sal disódica dihidratada de etilen diamino tretra acetato , EDTA (  $\text{Na}_2\text{H}_2\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}_8\text{N}_2\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  ) , disolver en agua destilada y aforar a 1,000 ml .

## METODOLOGÍA

Transferir exactamente 10.0 o 25.0 ml de la muestra a un matraz Erlenmeyer de 250 ml . Agregar cinco gotas de solución amoniacal pH 10.0 . Adicionar tres gotas de indicador de eriocromo negro T . Titular , agregando lentamente y hasta el cambio de color , con la solución de EDTA hasta un “ vire “ a color azul , efectuar este proceso por triplicado y anotar el volumen de solución de EDTA empleada en cada evento , descarte las lecturas dudosas y emplee las lecturas que se repitan . ( 2 , 10 )

La dureza total como Carbonato de Calcio (  $\text{CaCO}_3$  ) en partes por millón ( PPM ) se calcula aplicando la siguiente fórmula :

$$\text{Dureza total CaCO}_3 = \frac{\{ \text{Volumen gastado de EDTA} \times 1,000 \}}{\text{Volumen de la muestra}}$$

Ejemplo : Suponiendo que se emplearon 4.5 ml de solución de EDTA para que cambiara a azul 10.0 ml de muestra .

$$\begin{aligned} \text{Entonces la dureza será : } & \{ 4.5 \text{ ml} \times 1,000 \} / \{ 10.0 \text{ ml} \} = 4500 / 10 \\ & = 450.0 \text{ PPM} \end{aligned}$$

## 7.1.5 DETERMINACIÓN DE CLORUROS ( Método argentométrico )

### FUNDAMENTO

La determinación argentométrica de cloruros se basa en la formación de cromato de plata de color rojizo , esto ocurre cuando se adiciona al agua iones cromato como indicador y iones de plata como reactivo precipitante .

Titulando con una solución valorada de nitrato de plata se determina la cantidad necesaria para precipitar todos los cloruros como cloruro de plata de color rojizo y en ese momento se anota el volumen de solución de nitrato de plata utilizado y se calcula la concentración de cloruros existente en el agua .

Los ortofosfatos en exceso de 25 mg/l interfieren precipitando como fosfato de plata , el hierro en exceso de 10.0 mg/l enmascaran el punto de vire , los iones sulfuro , sulfito y tiosulfato interfieren , pero se pueden eliminar con la adición de 1.0 ml de agua oxigenada (  $H_2O_2$  ) al 30 % y agitar por un minuto , los bromuros yoduros y cianuros son determinados como cloruros . ( 2 )

### REACTIVOS

Solución indicadora de cromato de potasio (  $K_2CrO_4$  )

Disolver 50 gramos de cromato de potasio en aproximadamente 500 ml de agua .  
Agregar solución de nitrato de plata hasta que se forme un precipitado rojo . Dejar reposar por 12 horas , filtrar y diluir a 1.0 litro con agua destilada .

Solución valorada de nitrato de plata (  $\text{AgNO}_3$  ) 0.0141 N

Disolver 2.395 g de nitrato de plata en un poco de agua destilada y aforar a 1,000.0 ml, conservar la solución en un frasco de color ámbar .

### METODOLOGÍA

Tomar 100.0 ml de la muestra ,ouna parte menor medida y afore a 100.0 ml con agua destilada . Mida el PH de la muestra y si se requiere , ajuste con ácido sulfúrico 1.0 N o hidróxido de sodio 1.0 N hasta un PH de entre 7 y 10 . Agregar 1.0 ml de solución indicadora de cromato de potasio . Titular , agregando gota a gota , la solución valorada de nitrato de plata hasta el vire de amarillo a rojo ladrillo . Analizar un testigo de agua destilada en la misma forma que las muestras .

Efectuar el análisis por triplicado , desechar los resultados dudosos y efectuar un promedio de los adecuados .

Cálculos :

La concentración de cloruros se determina por medio de la siguiente fórmula :

$$\text{mg/l Cl}^- = \{ ( A-B ) \times N \times 35,450.0 \} / V$$

En donde :

A = Volumen de solución de nitrato de plata empleados en la titulación de la muestra

B = Volumen de solución de nitrato de plata empleados en la titulación del testigo .

N = Normalidad del nitrato de plata , 0.0141 para este caso .

35 450.0 = Factor de relación del volumen analizado y el equivalente químico con la expresión de resultados en miligramos por litro o partes por millón .

V = Volumen de la muestra empleada para la determinación , en caso de emplear menos de 100.0 ml de muestra y de su posterior aforo , emplear el volumen que realmente se tomó de la muestra , sin considerar el aforo . ( 2 , 10 )

Ejemplo : Se desea conocer la concentración de cloruros de una muestra de agua purificada , en la cual se gastaron 2.3 ml de solución valorada de nitrato de plata 0.0141 N , para lograr el vire de color amarillo a rojo , se emplearon exactamente 50.0 ml de la muestra y se gastaron 0.2 ml en el testigo .

Sustituyendo en la fórmula , tenemos que :

$$\text{mg/l Cl}^- = \{ ( 2.3 - 0.2 ) \times 0.0141 \times 35\,450.0 \} / 50 = 20.99 \text{ PPM de cloruros (Cl}^-)$$

## 7.1.6 DETERMINACIÓN DE COLOR

### DEFINICIÓN

El término “ color “ se asocia al concepto de color puro y es el color que se presenta en el agua a la cual se le ha eliminado la turbiedad , siendo este color solamente el debidoo proporcionado por las sustancias disueltas en el agua

### FUNDAMENTO

El color se determina por comparación visual o por espectrofotometría de la muestra con soluciones coloridas de platino-cobalto de concentraciones conocidas y también

se puede determinar con discos-patrón , la unidad de color es la producida por 1 mg/l de platino en forma de ion cloro-platinato. La turbiedad es la única interferencia grave y se recomienda eliminarla mediante filtraciónocentrifugado .

## METODOLOGÍA

Colocar la muestra libre de turbiedad en un tubo de vidrio incluido en el comparador , el cual esta provisto de un tapón y cuenta con una superficie ópticamente limpia . En el segundo tubo , de que consta este comparador , se coloca agua destilada que servirá como referencia . Se colocan los tubos en el comparador y se gira el disco a contraluz buscando igualar los colores de ambos tubos y al igualarlos se toma la lectura del color en el disco . Para que este comparador no altere su color , debe de mantenerse protegido de la luz hasta que se emplee , y protegerlo después de su uso . Si el disco no tiene el intervalo que permita comparar la muestra , ésta se debe diluir hasta que el color se pueda medir , antes de diluir , medir el pH , el valor del color del agua depende en buena medida y se incrementa invariablemente al aumentar el pH del agua , cuando se informa del registro numérico del color , especifiquese el pH al que fue determinado

Cuando se efectúan diluciones , se procede aplicando la siguiente ecuación :

$$\text{Unidades de color} = \{ A \times 50 \} / B$$

En donde :

A = color estimado de una muestra diluida

B = ml de la muestra tomados para la dilución

50 = volumen de la muestra colocado en el tubo del comparador

Si el tubo del comparador es de menor volumen , emplear el volumen que realmente se emplee en su lugar.

Infórmese los resultados en cifras completas y regístrese como sigue

Unidades de color	Registro más cercano
1-50	1
51-100	5
101-250	10
251-500	20

Informe el pH de la muestra . ( 2,10 )



## 7.2 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS

### 7.2.1 DETERMINACIÓN DE BACTERIAS COLIFORMES .

#### 7.2.1.1 TÉCNICA DEL NÚMERO MÁS PROBABLE , NORMA-041-SSA1-1993

##### FUNDAMENTO.

El método se basa en que las bacterias coliformes fermentan la lactosa incubadas a 35 °C durante 24 a 48 horas , resultando una producción de gas y ácidos , los cuales viran el indicador de pH , dando un color característico en el medio líquido selectivo .

##### DEFINICIÓN .

Coliformes , bacterias que a 35 °C durante 24 a 48 horas fermentan la lactosa con la producción de ácido y gas.

##### REACTIVOS.

##### SOLUCIÓN REGULADORA DE FOSFATOS .

Fosfato monopotásico .....	34 g
Agua .....	1.0 l

Disolver el fosfato en 500 ml de agua y ajustar el pH a 7.2 con solución de hidróxido de sodio 1 N. . Aforar con agua a un litro . Esterilizar en autoclave durante 15 minutos a 121 °C. Conservar en refrigeración ( Solución concentrada ) . Tomar 1.25 ml de la solución concentrada y llevar a un litro con agua . Distribuir en porciones de 99 , 90 y 9 ml según se

requiera , en la técnica de filtración de membrana se empleará continuamente , asegúrese un abasto . Esterilizar en autoclave durante 15 minutos a 121 °C. Después de la esterilización , el pH y los volúmenes finales de la solución de trabajo deberán ser iguales a los iniciales .

## MEDIOS DE CULTIVO .

**CALDO LACTOSADO** . Medio de enriquecimiento para agua potable y hielo.

**CALDO LAURIL SULFATO TRIPTOSA** Medio de enriquecimiento selectivo .

**CALDO LACTOSA BILIS VERDE BRILLANTE** . Medio de confirmación .

En el análisis de agua potable y hielo puede utilizarse caldo lactosado o caldo lauril sulfato triptosa con púrpura de bromocresol (concentración 0.01 g/l de medio ) , como alternativa al uso de campanas de fermentación . Los tubos positivos se manifiestan por el vire del indicador a color amarillo . ( 2 , 10 )

## CALDO LACTOSADO .

Medio de enriquecimiento para agua purificada , potable y hielo .

Ingrediente	Medio de concentración sencilla	Medio de concentración doble
Extracto de carne	3.0 g	6.0 g
Peptona de gelatina	5.0 g	10.0 g
Lactosa	5.0 g	10.0 g
Agua destilada	1,000.0 ml	1,000.0 g

Disolver los ingredientes en 1.0 litro de agua . Ajustar el pH final de tal manera que después de la esterilización éste sea de  $6.9 \pm 0.2$  a  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$  . Distribuir en volúmenes de 10 ml en tubos con dimensiones de 16 x 160 milímetros en el medio de concentración sencilla y de 10 ml en tubos de 20 x 200 mm en el medio de concentración doble , cada tubo deberá tener campana de fermentación o el medio deberá tener el indicador de púrpura de bromocresol en la concentración de 0.01 g/l de medio . Esterilizar en autoclave a  $121\text{ }^{\circ}\text{C}$  , 15 libras de presión por 15 minutos . Enfriar rápidamente para evitar la descomposición de azúcares .El aspecto del caldo es claro y de color beige o violeta , según sea el caso . Se emplea una concentración doble del medio de cultivo , en cuyo caso se emplean 10 ml del caldo preparado , cuando se agregan 10 ml de muestra .

#### CALDO LAURIL SULFATO TRIPTOSA .

Medio de enriquecimiento selectivo .

Se emplea como medio alternativo en lugar del caldo lactosado en la cuantificación del NMP para agua potable o purificada y hielo . También se emplea en diluciones de alimentos .

Ingrediente	Medio de concentración sencilla	Medio de concentración doble
Triptosa	20.00 g	40.00 g
Lactosa	5.00 g	10.00 g
Fosfato dipotásico ( $\text{K}_2\text{HPO}_4$ )	2.75 g	5.50 g
Fosfato monopotásico ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )	2.75 g	5.50 g
Cloruro de sodio	5.0 g	10.00 g
Lauril sulfato de sodio	0.10 g	0.20 g
Agua destilada	1,000.0 ml	1,000.0 ml

Disolver los ingredientes o el medio completo deshidratado calentando si es necesario . Ajustar el pH final de tal manera que después de la esterilización éste sea de 6.8 a 25 ° C . Distribuir en volúmenes de 10 ml en tubos con dimensiones de 16 x 160 milímetros en el medio de concentración sencilla y de 10 ml en tubos de 20 x 200 mm en el medio de concentración doble , cada tubo deberá tener campana de fermentación o el medio deberá tener el indicador de púrpura de bromocresol en la concentración de 0.01 g/l de medio ..

Esterilizar en autoclave a 121 ° C , 15 libras , por 15 minutos . Las campanas de fermentación no deben de contener burbujas de aire después de la esterilización . Al utilizar una concentración doble del medio de cultivo , se emplean 10 ml del caldo preparado , y se agregan 10 ml de muestra .

#### **CALDO LACTOSADO BILIS VERDE BRILLANTE .**

##### **Medio de confirmación**

<b>Peptona</b>	<b>10.0 g</b>
<b>Lactosa</b>	<b>10.0 g</b>
<b>Sales biliares</b>	<b>20.0 g</b>
<b>Verde brillante</b>	<b>0.0133 g</b>
<b>Agua</b>	<b>1.0 litro</b>

Disolver los ingredientes o el medio completo deshidratado calentando si es necesario . Ajustar el pH final de tal manera que después de la esterilización éste sea de 7.2 a 25 ° C . Distribuir en volúmenes de 10 ml en tubos con dimensiones de 16 x 160 milímetros conteniendo campana de fermentación . Esterilizar en autoclave a 121 °C , 15 libras , por 15

minutos . Las campanas de fermentación no deben de contener burbujas de aire después de la esterilización .

**MATERIALES .** Pipetas bacteriológicas para distribuir 10 y 1 ml , con tapón de algodón , frascos de vidrio de 250 ml con tapón de rosca . Utensilios esterilizables para la obtención de muestras : cuchillos , pinzas , tijeras , cucharas , espátulas etc . Tubos de cultivo de 20 x 200 mm y de 16 x 160 mm con tapones metálicos o de rosca . Campanas de fermentación ( tubos de Durham ) . Pipetas bacteriológicas graduadas . Gradillas . Asa de platino o nicromel de aproximadamente 3 mm de diámetro .

Todo el material que tenga contacto con las muestras bajo estudio deberá esterilizarse mediante :

Horno durante 2 horas con una temperatura entre 170 y 175 °C .

Autoclave , durante 15 minutos a  $121 \pm 1$  °C , 15 libras de presión .

El material de vidrio puede sustituirse por material desechable que cumpla con las especificaciones deseadas . No debe de usarse material de vidrio dañado por las esterilizaciones repetidas y éste debe de ser químicamente inerte .

## **APARATOS E INSTRUMENTOS**

Horno para esterilizar que alcance una temperatura mínima de 170 ° C . Incubadora con termostato que evite variaciones mayores de  $\pm 1.0$  °C , provista con termómetro calibrado . Termómetro de máximas y mínimas . Autoclave que alcance una temperatura mínima de 121 °C . Potenciómetro con una escala mínima de 0.1 unidades de pH a 25 °C .

## PROCEDIMIENTO .

### PRUEBA PRESUNTIVA :

**INOCULACIÓN .** Agitar la muestra . Transferir volúmenes de 10.0 ml de muestra a cada uno de 5 tubos con 10 ml de caldo lactosado de doble concentración y 1.0 ml y 0.1 ml de muestra a cada uno de los tubos de las series de 5 respectivamente con 10 ml de caldo lactosado de concentración sencilla . Tape y agite sin introducir burbujas .

**INCUBACIÓN .** Incubar los tubos a  $35 \pm 2$  °C . Examinar a las  $24 \pm 2$  horas y observar si hay formación de gas , o vire del indicador a amarillo , en caso contrario continuar la incubación hasta  $48 \pm 2$  horas .

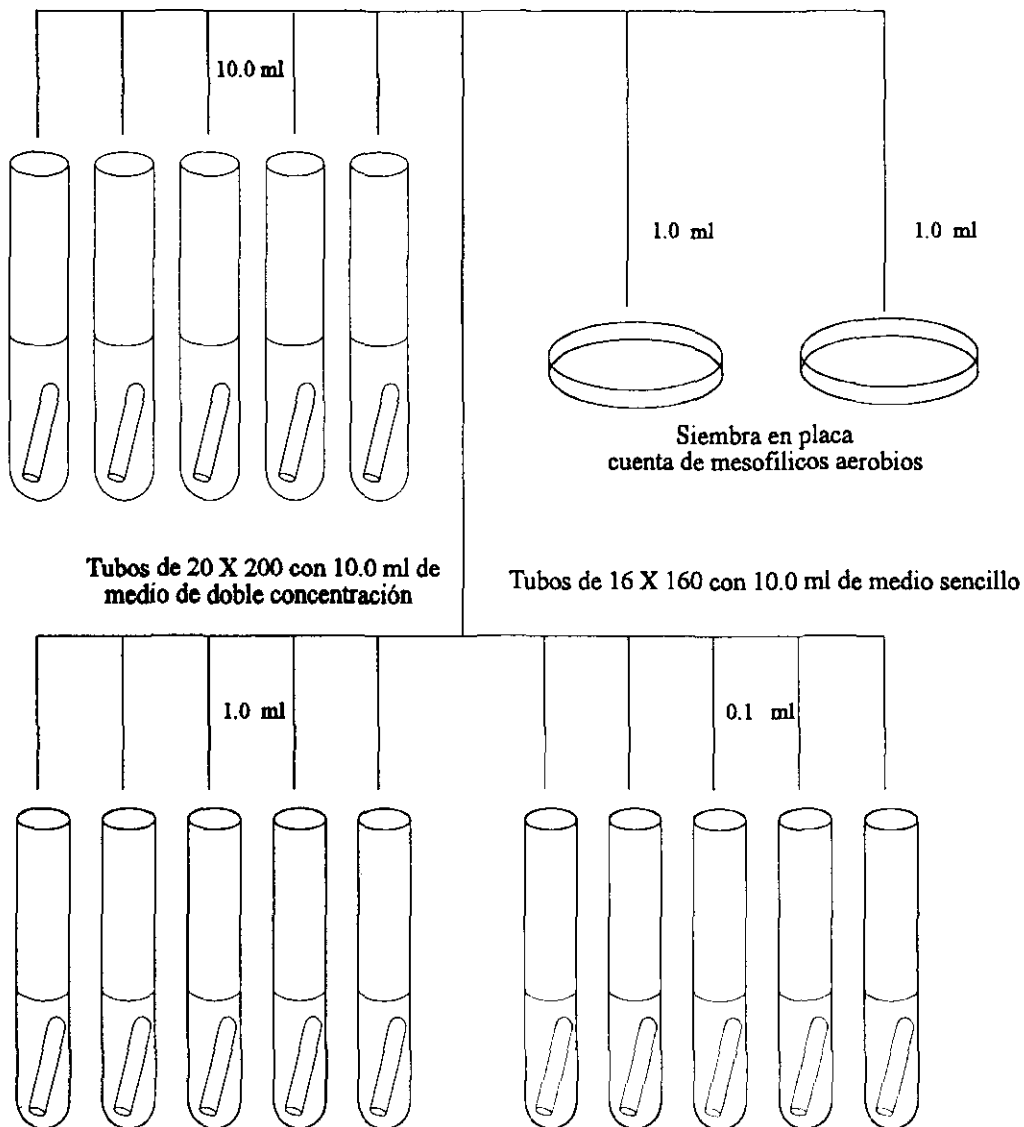
### PRUEBA CONFIRMATIVA .

De cada tubo que muestre formación de gas , o vire del indicador , tomar una asada y sembrar en un número igual de tubos con medio de confirmación , incubar a  $35 \pm 2$  °C por  $24 \pm 2$  horas o si la formación de gas no se observa en ese tiempo , incubar hasta  $48 \pm 2$  horas .

En ésta técnica , para el análisis de agua potable , purificada y hielo de las mismas características , se emplean series de 5 tubos inoculados , 5 de 10 ml , 5 de 1.0 ml y 5 tubos con 0.1 ml .

FIG. 6 ESQUEMA DE INOCULACION DE LA MUESTRA  
NOM-112 y 092-SSA1-1994

MUESTRA



## EXPRESIÓN DE LOS RESULTADOS

Tomar la serie de tubos de la prueba confirmativa que dé formación de gas después del periodo de incubación requerido y buscar el Número Más Probable ( NMP ) en los cuadros correspondientes y se expresan en número de coliformes NMP / 100 ml .

( 2 , 13 ) .

Ejemplo : Durante el análisis Microbiológico de agua purificada , se encontró que solo uno de los cinco tubos inoculados con 10 ml de agua presentó la formación de gas y ácido , el resto de los tubos no presentó gas .

De ésta forma se tiene la combinación “ 1 0 0 “ en donde el primer dígito corresponde a los tubos positivos inoculados con 10 ml , el segundo dígito corresponde a los tubos inoculados con 1.0 ml y el tercero corresponde a los tubos inoculados con 0.1 ml , y de la tabla se obtiene :

Combinación de positivos	Índice del NMP / 100 ml	Combinación de positivos	Índice del NMP / 100 ml
1 0 0	2		

que corresponde a un resultado de DOS NMP / 100 ml , si se efectúa la prueba confirmativa en el medio de caldo lactosado bilis verde brillante y esta es positiva , se dice que corresponde a coliformes fecales , si solo se tomó la lectura de los tubos de caldo lactosado , se dice que se trata solamente de coliformes . El NMP está basado en cálculos estadísticos en los que se supone una distribución homogénea de bacterias en el agua , por lo



que es importante que se efectúe la homogeneización de la muestra antes de inocularla en los tubos de cultivo .

Como un dato adicional se menciona brevemente la forma en que se calcula el NMP .

Suponiendo que en un volumen " V " ml de agua contiene un número " N " de bacterias , y que estas se encuentran distribuidas en el líquido en cualquier forma , es decir , al azar . Si se toma un mililitro de líquido y se encontrara " x " número de bacterias , siendo  $x = 0, 1, 2, 3, \dots, N$  . Como una bacteria determinada puede encontrarse en cual quiera de los V mililitros de agua , la probabilidad de que se encuentre en el mililitro examinado estará dado por  $P = 1/V$  , por lo tanto , la probabilidad de que x bacterias se encuentren en el mililitro de agua examinado será de acuerdo con la siguiente ecuación :

$$P_x = \frac{N!}{(N-x)! x!} \left(\frac{1}{V}\right)^x \left(1 - \frac{1}{V}\right)^{N-x}$$

En donde , de acuerdo a una distribución binomial , tenemos que :

$P_x$  = Probabilidad de encontrar un número de bacterias .

N = Número de bacterias .

V = Volumen de agua .

Si se supone que no se encontraran bacterias en el volumen de agua examinado ,

$x = 0$  , después de algunas operaciones ,

la ecuación se reduce a :  $P_0 = e^{-L}$  , donde  $L = N/V$  .

Suponiendo que al examinar una serie de cinco porciones de agua de 10 ml cada una se encontró una porción positiva y cuatro negativas ; la probabilidad de que ocurran simultáneamente en cada 100 ml será :

$$P = \{ (5!)/(4!1!) \} \{ e^{-10L} \}^4 \{ 1 - e^{-10L} \}^{5-4} = 5 (e^{-40L}) (1 - e^{-10L})$$

y como  $L = n$  bacterias / 100 ml , entonces :

$$P = 5 ( e^{-0.4n} - e^{-0.5n} )$$

que es una ecuación con dos incógnitas y se resuelve buscando el valor máximo para " P " de la siguiente forma :

$$\{ dP / dn \} = 5 ( -0.40 e^{-0.4n} + 0.5 e^{-0.5n} ) = 0$$

por lo tanto :

$$0.5 / -0.4 = ( e^{-0.4n} ) / ( e^{-0.5n} ) = e^{-0.1n}$$

De donde :

$$n = \log 1.25 / (0.1) \log e$$

$$n = 0.960 / 0.434 = 2.2 \text{ bacterias}$$

En este caso , el número más probable de bacterias es de 2.2 , NMP / 100 ml = 2.2

( Bibliografía : 31 )

**ÍNDICE DEL NÚMERO MÁS PROBABLE ( NMP ) PARA ORGANISMOS  
COLIFORMES  
COMBINACIONES DE RESULTADOS POSITIVOS .  
TUBOS INOCULADOS : 5 CON 10 ml, 5 CON 1 ml Y 5 CON 0.1 ml**

Combinación de positivos	Índice del NMP / 100 ml	Combinación de positivos	Índice del NMP / 100 ml
0 0 0	< 2 *	4 2 0	22
0 0 1	2	4 2 1	26
0 1 0	2	4 3 0	27
0 2 0	4	4 3 1	33
		4 4 4	34
1 0 0	2		
1 0 1	4	5 0 0	23
1 1 0	4	5 0 1	30
1 1 1	6	5 0 2	40
1 2 0	6	5 1 0	30
		5 1 1	30
2 0 0	4	5 1 2	60
2 0 1	7		
2 1 0	7	5 2 0	50
2 1 1	9	5 2 1	70
2 2 0	9	5 2 2	90
2 3 0	12	5 3 0	80
		5 3 1	110
3 0 0	8	5 3 2	140
3 0 1	11		
3 1 0	11	5 3 3	170
3 1 1	14	5 4 0	130
3 2 0	14	5 4 1	170
3 2 1	17	5 4 2	220
		5 4 3	280
4 0 0	13	5 4 4	350
4 0 1	17		
4 1 0	17	5 5 0	240
4 1 1	21	5 5 1	300
4 1 2	26	5 5 2	500
		5 5 3	900
		5 5 4	1,600
		5 5 5	> 1,600

\* / En el análisis bacteriológico del agua purificada se reporta como “ NO DETECTABLE “  
( Bibliografía 2 , pp 9-91 sec. 9221 D )( 10 ,13 )

#### 7.2.1.2 LABORATORIO NACIONAL DE SALUD PUBLICA 1989 SSA

En el manual de técnicas y procedimientos de laboratorio para análisis Microbiológico de agua potable , la prueba presuntiva del NMP de organismos coliformes se efectúa de la siguiente forma :

Agitar la muestra . Transferir volúmenes de 10 ml a cada uno de 5 tubos con 10 ml de caldo lactosado de doble concentración y 1.0 ml y 0.1 ml respectivamente a dos tubos con 10 ml de caldo lactosado de concentración sencilla .

Incubar los tubos a  $35 \pm 2$  °C . Examinarlos a las  $24 \pm 2$  horas y observar si hay formación de gas .

Si no hay formación de gas en 24 horas , proseguir la incubación por 24 horas más . Separar los tubos que presenten gas en cualquier cantidad para someterlos a la prueba confirmatoria .

Cuando no hay formación de gas se considera negativa .

La prueba confirmativa es igual a la descrita en la técnica anterior , y los resultados se deben obtener de la siguiente tabla .

**NÚMERO MÁS PROBABLE DE ORGANISMOS COLIFORMES \***  
**TUBOS INOCULADOS : 5 CON 10 ml , 1 CON 1 ml , 1 CON 0.1 ml**

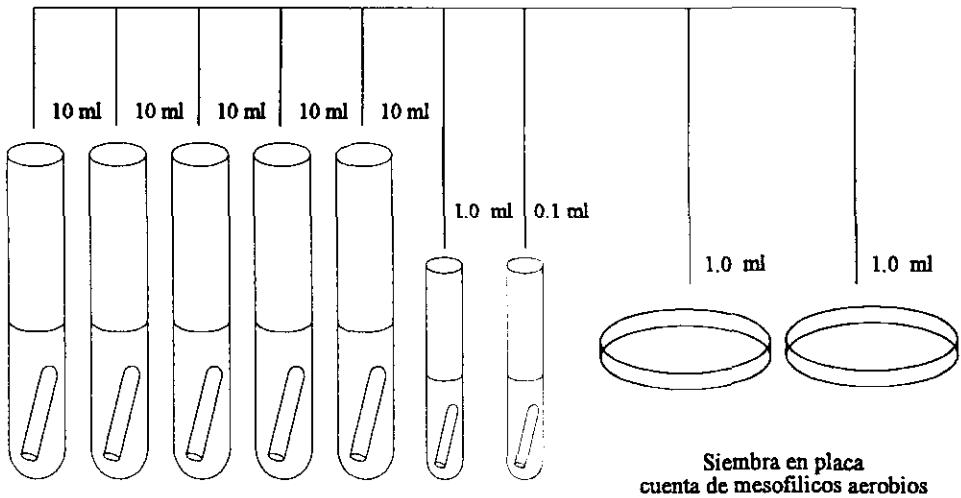
<u>No de tubos positivos</u>			NMP / 100 ml
5 - 10 ml	1 - 1.0 ml	1 - 0.1 ml	
0	0	0	< 2
0	1	0	2
1	0	0	2.2
1	1	0	4.4
2	0	0	5
2	1	0	7.6
3	0	0	8.8
3	1	0	12
4	0	1	15
4	0	0	20
4	1	0	21
5	0	0	38
5	0	1	96
5	1	0	240

Manual de técnicas y procedimientos de laboratorio para análisis Microbiológico de agua potable , SSA Laboratorio Nacional de Salud Publica . México D.F. 1989 .

\*/ En la actualidad , ésta técnica ya no es de uso común ; sin embargo , es una técnica confiable de fácil aplicación , la cual se puede implementar en las pequeñas purificadoras .

FIG. 7 ESQUEMA DE INOCULACION DE LA MUESTRA  
MANUAL , LAB. NAL. SALUD PUBLICA SSA 1989  
VALORACION DEL NMP DE ORGANISMOS COLIFORMES

MUESTRA



Tubos de 20 X 200 con 10.0 ml de  
caldo lactosado de doble concentración

Tubos de 16 X 160 con 10.0 ml de  
caldo lactosado de concentración sencilla

Existe una tercera opción de análisis de acuerdo a la técnica descrita en la 17 edición de Métodos Normalizados para el análisis de aguas potable y residuales , en la sección 9221 B :

### 7.2.1.3 TÉCNICAS ESTANDARIZADAS DE FERMENTACIÓN EN TUBOS MÚLTIPLES ( NMP ) DE COLIFORMES TOTALES . EPA USA 1992

Utilice un medio líquido de lauril triptosa en la porción presuntiva de la prueba de tubo múltiple . Como alternativa se puede emplear un medio líquido de lactosa , siempre que se haya demostrado que no aumenta la frecuencia de resultados positivos falsos , ni enmascara los coliformes que existen en el agua potable . Si se ha refrigerado el medio después de su esterilización , se incubará de un día a otro a 35 °C antes de utilizarlo .

Rechácense los tubos muestren crecimiento , burbujas o ambas cosas .

#### MEDIO LÍQUIDO DE LAURIL TRIPTOSA

Triptosa .....	20.0 g
Lactosa.....	5.0 g
Fosfato de hidrógeno dipotasico ( $K_2HPO_4$ ) .....	2.75 g
Fosfato de hidrógeno potasico ( $KH_2PO_4$ ) .....	2.75 g
Cloruro de sodio ( NaCl ) .....	5.0 g
Lauril sulfato de sodio .....	0.1 g
Agua destilada.....	1 l

Añádase los ingredientes deshidratados al agua destilada , mézclese cuidadosamente y caliéntese para disolverlo . El pH debe  $6.8 \pm 0.2$  después de la esterilización . Antes de esterilizarlo , colóquese en tubos de fermentación con un vial invertido una cantidad suficiente de medio como para que cubra éste , al menos parcialmente , el aire saldrá por si solo después de la esterilización normalmente . También se puede prescindir del tubo invertido y añadir 0.01 g de púrpura de bromocresol al medio presuntivo para determinar la producción de ácido , lo que indicará un resultado positivo en esta parte de la prueba .

Cierre los tubos con tapones de metal o de plástico resistente al calor .

Hágase el medio de lauril triptosa con la concentración suficiente para soportar la dilución al inocular la muestra , la concentración final del medio de cultivo , no debe ser menor a la del medio estándar.

**PROCEDIMIENTO :** Agrúpense los tubos de fermentación en hileras de cinco en una gradilla para tubos de ensayo . Para el agua potable utilícese cinco porciones de 10 ml o 10 porciones de 10 ml . Los tubos inoculados se incuban a  $35 \pm 0.5$  °C . Tras  $24 \pm 2$  horas , agítase cada tubo suavemente y se observa si se produce gas o un crecimiento ácido - color amarillo - y , en caso contrario , reincúbese y vuélvase a examinar al final de  $48 \pm 3$  horas . Regístrese la presencia o ausencia de gas o ácido . Si no se ha utilizado la campana de fermentación , un crecimiento con acidez significa una presunta reacción positiva .

**INTERPRETACIÓN :** La aparición de gas o ácido en los tubos a las  $48 \pm 3$  horas constituye una presunta reacción positiva . Los tubos con este tipo de reacción deben ser



estudiados en la fase confirmatoria . La ausencia de crecimiento ácido o de la formación de gas al finalizar las 48 + 3 horas de incubación indica una reacción negativa . El límite arbitrario de 48 horas para la observación excluye sin ninguna duda a los miembros ocasionales del grupo coliforme que crecen de manera muy lenta ( Bacterias coliformes alteradas )

#### FASE CONFIRMATORIA :

En esta fase se utilizarán tubos de fermentación con un medio líquido de verde brillante lactosa bilis .

#### MEDIO VERDE BRILLANTE LACTOSA BILIS

Peptona .....	10.0	g
Lactosa .....	10.0	g
Oxgall .....	20.0	g
Verde brillante .....	0.0133	g
Agua destilada .....	1	litro

Añádase los ingredientes deshidratados al agua , mézclase cuidadosamente y caliéntese para disolverlos . El pH debe ser de  $7.2 \pm 0.2$  después de la esterilización . Antes de ésta colóquense campanas de fermentación . Ciérranse los tubos con tapones de metal o de plástico resistentes al calor .

Procedimiento : Llévase a la fase de confirmación todos los tubos primarios en los que haya aparecido cualquier cantidad de gas o de crecimiento ácido a las 24 horas de incubación . Si se observa una fermentación activa o un crecimiento ácido antes de las 24 horas , los tubos se llevarán al medio de confirmación sin esperar a que transcurran las 24

horas . Si hay otros tubos primarios con crecimiento ácido después de 48 horas de incubación , también se llevarán a la fase confirmatoria .

Agítese suavemente o hágase rotar los tubos primarios que muestran gas o crecimiento ácido suficiente para que se produzca una resuspensión de los microorganismos.

Con una asa estéril de 3 mm de diámetro , pásese un asa completa de cultivo al tubo de fermentación que contiene el medio verde brillante de lactosa bilis o introdúzcase un aplicador de madera estéril en el cultivo , de al menos 2.5 cm retírese rápidamente e introdúzcase hasta el fondo en el tubo de fermentación con el medio mencionado . Retírese y deséchese el aplicador ( calcinar ) . Repítase esta operación en todos los tubos posiblemente positivos .

Incúbese el medio de verde brillante de lactosa bilis a  $35 \pm 0.5$  °C durante  $48 \pm 3$  horas .

La formación de cualquier cantidad de gas en el vial invertido en el medio de fermentación verde brillante de lactosa bilis a las  $48 \pm 3$  horas o antes , constituye un resultado positivo e la fase confirmatoria .

Calcúlese el valor del NMP a partir del número de tubos positivos de acuerdo a la siguiente tabla :

**ÍNDICE DEL NMP PARA DISTINTAS COMBINACIONES DE RESULTADOS POSITIVOS CUANDO SE EMPLEAN CINCO PORCIONES DE 10 ml**

<b>No tubos positivos</b>	<b>ÍNDICE NMP / 100 ml</b>
0	< 2.2
1	2.2
2	5.1
3	9.2
4	16
5	> 16

( Bibliografía 2 , pp 9-90 sec. 9221 D )

**ÍNDICE DEL NMP PARA DISTINTAS COMBINACIONES DE RESULTADOS POSITIVOS CUANDO SE EMPLEAN DIEZ PORCIONES DE 10 ml**

<b>No tubos positivos</b>	<b>ÍNDICE NMP / 100 ml</b>
0	< 1.1 *
1	1.1
2	2.2
3	3.6
4	5.1
5	6.9
6	9.2
7	12.0
8	16.1
9	23.0
10	> 23

( Bibliografía 2 , pp 9-90 sec. 9221 D )

\*/ Puede reportarse como " NO DETECTABLE"

## 7.2.3 RECUENTO TOTAL EN PLACA

### 7.2.3.1 NORMA-092-SSA1-1994

El método de la placa fluida o cuenta estándar , es fácil de ponerse en práctica y puede adaptarse a volúmenes de muestra o de muestra diluida que oscilan entre 0.1 y 2.0 ml.

Las colonias que se producen son relativamente pequeñas y compactas , y muestran menor tendencia a rodear unas a otras que las producidas por crecimiento de superficie . Por otro lado las colonias sumergidas suelen tener un crecimiento más lento , son difíciles de transferir y no se describen en los estudios publicados . El agar debe transferirse a una temperatura de entre 45 a 46 °C . El recuento denominado recuento estándar en placa , se denomina actualmente como recuento heterótrofo de placa .

#### MEDIOS DE CULTIVO :

##### AGAR PARA MÉTODOS ESTÁNDAR

Cuenta directa en placa :

Peptona de caseína ..... 5.0 g

Extracto de levadura.....2.5 g

Dextrosa..... 1.0 g

Agar ..... 15.0 g

Agua destilada ..... 1 litro

El pH debe ser de  $7.0 \pm 0.2$  después de un paso de 15 minutos por autoclave a 121°C

Antes de proceder a su estudio , márchese cada caja con el número de muestra , la fecha y cualquier otra información necesaria . Prepárese cada volumen de muestra como

mínimo por duplicado . Utilídense placas de Petri de vidrio de 65 cm<sup>2</sup> o de plástico desechables de 57 cm<sup>2</sup> . Mézclase cuidadosamente todas las muestras mediante unos 25 movimientos completos de arriba abajo y de adelante atrás . También se puede utilizar un agitador mecánico durante 15 segundos para agitar las muestras .

**SIEMBRA** : Licuefacción del medio : fúndase el medio de agar sólido estéril en agua hirviendo o sometándolo a un chorro de vapor en un envase parcialmente cerrado para evitar una excesiva exposición a temperaturas innecesariamente elevadas durante y después de la licuefacción . Si se funde el medio en dos o más lotes , utilícese por completo cada uno de ellos , siempre que el contenido esté totalmente licuado . Deséchese el agar líquido que contenga precipitados . En un envase diferente , colóquese un termómetro en agua que haya estado expuesto al mismo calentamiento y enfriamiento que el envase que contiene el medio.

No se debe confiar en el tacto como un buen indicador de la temperatura del medio cuando vaya a añadir el agar . Inocúlese 1.0 ml de la muestra por duplicado en las cajas .

**Vertido en las placas** : Límitese el número de muestras de siembra en una serie , de manera que no transcurran más de 20 minutos entre la adición del medio a la primera y la última placa de la serie . Viértase al menos 10 a 12 ml del medio licuado . Una vez añadido el medio en todas las placas mézclase cuidadosamente el medio líquido con la porción de muestra en estudio previamente colocada en la placa , con cuidado de no proyectar la mezcla contra el borde , girando primero el disco en una dirección y después en la contraria , o rotando e inclinando a la vez . Déjense solidificar las placas por diez minutos , e inviértase y colóquese en la incubadora .

Controles estériles : Compruebe la esterilidad del medio preparando blancos con agua estéril . Prepárese controles adicionales para determinar la contaminación de las placas las pipetas y el aire de la habitación .

INCUBACIÓN : Incúbense a  $35 \pm 0.5$  °C por 24 horas . Los informes de los resultados deben recoger el tiempo y la temperatura utilizados .

Recuento y registro : Inmediatamente después de la incubación , cuéntese todas las colonias de las placas seleccionadas . Si hay que retrasar el recuento , guárdese las placas a 5 - 10 °C durante no más de 24 horas , aunque evitando que esta práctica se convierta en habitual .

Regístrese en el informe los resultados de los controles estériles de cada uno de los lotes de muestras . Si se hace recuento manual , utilice un instrumento de recuento adecuado , como el contador de colonias utilícese cualquier otro contador , siempre que proporcione aumento e iluminación equivalentes , Existen aparatos de recuento automático que suelen disponer de un monitor de televisión acoplado a una lente de aumento y una tarjeta electrónica . Pueden ser aceptables siempre que el recuento paralelo manual proporcione resultados compatibles .

Al preparar las placas , introduzca diluciones de la muestra que proporcionen 25 - 250 colonias por placa , si el recuento es menor , se registrará éste . Regístrese el recuento bacteriano por mililitro , multiplicando el recíproco de la dilución efectuada por el número de colonias . Preséntese el informe en Unidades Formadoras de Colonias , UFC , por mililitro . Cuando en la dilución no se presenta desarrollo , repórtese un recuento inferior al recíproco de la dilución más baja , como  $< 1$  UFC / ml ,  $< 10$  UFC / ml , etcétera.

### 7.2.3.2 METODOS NORMALIZADOS EPA USA 1992

Existen medios alternativos , los cuales producen recuentos mayores a los del agar para métodos estándar , por ser medios altamente nutritivos , a continuación se da su composición :

AGAR R2A . Utilizar en métodos de placa fluida y en filtro de membrana :

Extracto de levadura	0.5 g
Proteosa peptona No 3 o polipeptona	0.5 g
Ácido casamino	0.5 g
Glucosa	0.5 g
Almidón soluble	0.5 g
Fosfato de hidrógeno dipotasico ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )	0.3 g
Sulfato de magnesio heptahidratado ( $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ )	0.05 g
Piruvato de sodio	0.3 g
Agar	15.0 g
Agua destilada	1.0 litro

Ajústese el pH a 7.2 con fosfato dipotasico (  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  ) o fosfato monopotasico (  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  ) sólidos antes de añadir el agar . Calientese hasta disolver éste último y esterilítese a 121 °C durante 15 minutos .

**AGAR NWRI ( ARHP )** : Utilizar en métodos de placa fluida y en filtro de membrana

: Este medio tiende a producir mayores recuentos que los dos descritos con anterioridad .

Peptona	3.0	g
Caseina soluble	0.5	g
Fosfato dipotásico ( $K_2HPO_4$ )	0.2	g
Sulfato de magnesio ( $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ )	0.05	g
Cloruro férrico ( $FeCl_3$ )	0.001	g
Agar	15	g
Agua destilada	1	litro

Ajústese el pH a 7.2 antes de pasarlo 15 minutos por autoclave a 121 °C .



## 7.2.2 DETERMINACIÓN DE BACTERIAS COLIFORMES TOTALES Y COLIFORMES FECALES , MÉTODO DE FILTRACIÓN POR MEMBRANA .

### FUNDAMENTO :

Este método se basa en la filtración de una muestra para concentrar células viables sobre la superficie de una membrana y transferirlas a un medio de cultivo apropiado , para posteriormente contar el número de unidades formadoras de colonias desarrolladas después de la incubación .

**MATERIAL :** Autoclave con termómetro y manómetro , capaz de alcanzar temperaturas de esterilización , material para envolver esterilizable , papel Kraft , bolsas de polímero resistente al calor , otros ; membranas para filtración estériles con poro de 0.45 y almohadilla absorbente de 47 mm de diámetro ; sistema de filtración ; bomba de vacío y aditamentos herméticos ; cajas de Petri desechables o de vidrio estériles de 50 X 90 mm ; marcador indeleble o equivalente ; pinzas de acero inoxidable ; propipeta de 50 ml de capacidad ; botellas de borocilicato con capacidad de 150 ml con tapa de rosca ; pipetas bacteriológicas de 1 , 2 , 5 , 10 y 25 ml de capacidad , estériles y protegidas con tapón de algodón , utensilios estériles como : cucharas , cucharones , picahielos , destapadores , abrelatas , otros ; microscopio estereoscópico óptico o equivalente ; incubadora ajustada a temperatura de  $35 \pm 1 ^\circ \text{C}$  ; contador mecánico o manual de Tally ; recipientes estériles para muestras ; balanza granataria con sensibilidad de 0.1 g ; porta asa y asa bacteriológica ; portaobjetos .

Agar cuenta estándar , preparar de acuerdo a instrucciones del fabricante o por ingredientes . El pH final debe ser de  $7.2 \pm 0.2$  después de esterilizar a  $121\text{ }^{\circ}\text{C}$  , 15 libras , por 15 minutos .

#### AGAR ENDO LES

Extracto de levadura	1.2 g
Casitona o tripticasa	3.7 g
Tiopeptona o tiotona	3.7 g
Triptosa	7.5 g
Lactosa	9.4 g
Fosfato ácido potasio ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )	3.3 g
Fosfato de potasio ( $\text{K}_3\text{PO}_4$ )	1.0 g
Cloruro de sodio ( $\text{NaCl}$ )	3.7 g
Desoxicolato de sodio	0.1 g
Lauril sulfato de sodio	0.05 g
Sulfito de sodio ( $\text{Na}_2\text{SO}_3$ )	1.6 g
Fucsina básica	0.8 g
Agar	15 g
Agua destilada	1 litro

Preparación : Rehidratar el medio en un litro de agua que contenga 20 ml de etanol al 95% , no desnaturalizado , ( lo cual reduce el crecimiento retardado , y el tamaño de la colonia ) .

Llevar hasta ebullición para disolver el agar , retirar del calor y enfriar a 45 - 50 °C .

No esterilizar en autoclave . El pH final debe ser  $7.0 \pm 0.2$  Distribuir en cantidades de 5 a 7 ml dentro de cajas de Petri de 60 mm de vidrio o de plástico . Si se utilizan placas de otro tamaño , ajustar la cantidad de medio . No exponer las placas a la luz directa del sol . Almacenar en la oscuridad de 4 a 8 °C , preferentemente en bolsas de plástico selladas u otro recipiente para reducir la pérdida de humedad . Descartar el medio que no se utilizó después de dos semanas .

## MEDIO ENDO

Triptosa o polipeptona	10.0 g
Tiopeptona o tiotona	5.0 g
Casitona o tripticasa	5.0 g
Extracto de levadura	1.5 g
Lactosa	12.5 g
Cloruro de sodio ( NaCl )	5.0 g
Fosfato ácido potasio ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )	4.375 g
Fosfato de potasio ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )	1.375 g
Desoxicolato de sodio	0.10 g
Lauril sulfato de sodio	0.05 g
Sulfito de sodio ( $\text{Na}_2\text{SO}_3$ )	2.1 g
Fucsina básica	1.05 g
Agar ( opcional )	15 g
Agua destilada	1 litro

Preparación : Rehidratar el medio en un litro de agua que contenga 20 ml de etanol al 95% .

Calentar hasta ebullición para disolver el agar , retirar del calor y enfriar a 45 -50 °C.

El pH final debe ser de 7.1 a 7.3 . Distribuir en cantidades de 5 a 7 ml dentro de cajas de Petri de 60 mm de vidrio o de plástico . No esterilizar en autoclave . Si se utilizan placas de otro tamaño , ajustar la cantidad de medio . No exponer las placas a la luz directa

del sol . Almacenar el medio ( caldo o agar ) en la oscuridad de 4 a 8 °C , preferentemente en bolsas de plástico selladas u otro recipiente para reducir la pérdida de humedad . Descartar el caldo o medio que no se utilizó después de 2 semanas .

Medio líquido , dos mililitros por placa sin agar , y una almohadilla absorbente se puede usar si esta certificado libre de sulfito u oro agente tóxico a una concentración que pueda inhibir el desarrollo bacteriano.

#### PROCEDIMIENTO :

Generalmente un procedimiento de enriquecimiento puede incrementar la valoración de la calidad del agua para beber . Sin embargo , este paso puede eliminarse en el análisis de rutina del agua para beber , donde las determinaciones han demostrado que se obtienen resultados adecuados por la técnica simple en un paso por la técnica de filtración en membrana ( MF ) . Se deben verificar todas las muestras de agua que den resultados positivos .

#### SELECCIÓN DEL TAMAÑO DE MUESTRA .

El tamaño de muestra lo determina la densidad banteriana , lo cual en muestras de agua para beber estará limitado solo por el grado de turbiedad o por el crecimiento de bacterias no coliformes sobre el medio . Volumen de muestra sugerida para pruebas de coliformes totales y coliformes fecales por filtro de membrana , 100 ml .

#### FILTRACIÓN DE LA MUESTRA .

Mediante unas pinzas estériles , colocar una membrana estéril , con la parte cuadrículada hacia arriba , sobre el portafiltro poroso . Cuidadosamente coloque el embudo sobre el receptáculo y asegúrelo en su lugar . Filtre la muestra bajo vacío parcial , con el

filtro aún en su lugar enjuague el embudo mediante la filtración de tres porciones de 10 a 30 ml de buffer estéril . Una vez completado el enjuague y que el proceso de filtración haya concluido , quitar el embudo e inmediatamente después retire la membrana con pinzas estériles y coloque sobre el medio selectivo con un movimiento circular a fin de evitar la entrada de aire . Meter un control de 100 ml de solución de buffer estéril cada 10 muestras para verificar posible contaminación cruzada o buffer contaminado . Incubar el control bajo las mismas condiciones de la muestra .

Usar unidades de filtración estériles al principio de cada serie de filtración como precaución mínima para prevenir contaminación accidental . Una serie de filtración se considera cuando hay un intervalo de interrupción de 30 minutos o más entre cada filtración de muestras . Después de tales interrupciones , tratar cualquier muestra como una serie de filtración y se debe esterilizar toda la unidad de filtración en uso .

Descontaminar éste equipo entre filtraciones por medio de exposición a luz ultravioleta ( UV ) durante 2 minutos , exponer todas las superficies del equipo por ese periodo, esterilizar por 2 minutos con un chorro de vapor de agua, someter a agua hirviendo durante 5 minutos . No exponga la preparación de cultivo de filtro de membrana al rango de radiación UV que puede salir de la cabina de esterilización . Se recomienda protegerse lo ojos , pueden usarse lentes de seguridad o de vidrio prescritos , para la adecuada protección contra la luz UV de la lámpara de esterilización que no se aisle durante el tiempo de exposición . Limpie el tubo de UV regularmente y verifique su efectividad para asegurar que haya un 99.99% de muertes bacteriana en 2 minutos de exposición .

### TÉCNICA ALTERNATIVA DIRECTA EN UN SIMPLE PASO :

Si se usa medio de agar base , colocar el filtro preparado directamente sobre el agar , invertir e incubar por  $24 \pm 2$  horas a  $35 \pm 0.5$  ° C . Si se usa medio liquido , colocar una almohadilla en la placa y sature con 1.8 a 2 ml de medio M-ENDO . Colocar el filtro preparado directamente sobre la almohadilla , invierta la caja e incube por  $24 \pm 2$  horas a  $35 \pm 0.5$  °C .

### CONTEO :

Para determinar la cuenta de colonias sobre el filtro de membrana , usar un microscopio binocular de disección de bajo poder ( 10 a 15 aumentos ) u otro aparato óptico similar con lámpara fluorescente de luz blanca con rango perpendicular tanto como sea posible al plano del filtro .

Las colonias típicas de coliformes tienen color rojo oscuro con brillo metálico , El área brillante de tamaño , desde que solo brille la parte superior de la colonia hasta que abarque la superficie total de la colonia , las colonias atípicas de coliformes pueden ser rojo oscuro o nucleadas sin brillo . Las colonias que no tengan brillo pueden ser rosas , rojas , blancas o incoloras y se consideran no coliformes . Existe correlación entre la cuenta de colonias ( coliformes o no coliformes ) sobre el medio tipo ENDO y el número total de bacterias presentes en la muestra original . Sin embargo , una cuenta alta de bacterias no coliformes puede interferir con el máximo desarrollo de coliformes . La refrigeración de los cultivos ( después de 22 horas de incubación ) con alta densidad de colonias no coliformes de 0.5 a 1 horas antes de contar pueden prevenir la dispersión y puede ayudar a discernir el brillo metálico . La incubadora anaerobica a  $35$  °C por 24 horas de algunas muestras de agua

subterránea pueden suprimir el desarrollo de colonias de no coliformes pero debe ser cuidadosamente evaluado para asegurar no perder la recuperación de coliformes .

Las muestras de agua tratada efluente o residual puede incluir bacterias estresadas que crecen relativamente lento y producen un máximo brillo a la 22 - 24 horas . Los organismos de fuentes no tratadas pueden producir brillo a las 16 - 18 horas y el brillo puede , subsecuentemente , disminuir después de 24 - 30 horas .

#### VERIFICACIÓN DE LOS COLIFORMES :

Ocasionalmente las colonias de no coliformes aparecen como colonias típicas con brillo . Las colonias atípicas ( rojo oscuro , nucleadas sin brillo metálico ) ocasionalmente pueden ser coliformes . Es recomendable ambos tipos de colonias , mediante una prueba de fermentación de lactosa o por el uso de procedimientos alternativos que involucren ambos una prueba rápida ( 4 horas ) o por reacciones bioquímicas típicas o un sistema multiprueba para especies .

#### FERMENTACIÓN DE LA LACTOSA :

Verificar colonias típicas y atípicas incluidas en la cuenta directa o un mínimo de 5 , tales colonias de muestras de agua potable por transferencia del crecimiento de cada colonia en caldo lauril triptosa , incubadas por 48 horas a  $35 \pm 0.5$  °C . La formación de gas en caldo lauril triptosa y su confirmación en caldo lactosa con verde brillante dentro de las 48 horas verifica a la colonia probada como coliforme .

#### VERIFICACIÓN ALTERNATIVA DE COLIFORMES :

Aplicar este procedimiento alternativo de verificación para colonias aisladas sobre el filtro de membrana . Si no hay colonias aisladas o si la separación entre las colonias es de



menos de 2 mm , estriar el crecimiento en medio M-ENDO para asegurar la pureza del cultivo y transferir al tubo de fermentación

#### PRUEBA RÁPIDA :

Una verificación rápida de las colonias es la prueba de citocromo oxidasa ( CO ) y beta galactoxidasa ( ONPG ) . La reacción de los coliformes de CO negativa y ONPG positiva en 4 horas de incubación del tubo de cultivo o procedimiento de microprueba .

#### SISTEMA DE MICROPRUEBA COMERCIAL :

Verificar las colonias por estrias para su aislamiento , seleccionar colonias perfectamente separadas , e inocular en un sistema multiprueba para enterobacterias que incluya reacciones de fermentación de lactosa , citocromo oxidasa y beta galactoxidasa .

#### CÁLCULOS :

Hacer el conteo , usar filtros de membrana con 20 a 80 colonias de coliformes y de no más de 200 colonias para cualquier tipo de colonias , según la siguiente ecuación :

$$\text{Colonias de coliformes totales en 100 ml} = \frac{\text{Colonias de coliformes contadas} \times 100}{\text{ml de muestra filtrados}}$$

Con agua de buena calidad , la presencia general de coliformes es mínima . Por lo tanto , se deben contar todas las colonias de coliformes ( cajas con 20 a 80 colonias ) y usar la fórmula dada anteriormente para obtener la densidad de coliformes .

Si existe un crecimiento confluyente , que es un desarrollo que cubre el área de filtración completa de la membrana o una porción y las colonias no están bien distribuidas ,

reportar los resultados como “ crecimiento confluyente con ( sin ) coliformes “ y solicite un nuevo muestreo de la misma locación . Si el número total de colonias bacterianas , coliformes o no coliformes , excede las 200 por membrana o si las colonias no son suficientemente distinguibles una de otra para asegurar el conteo , reportar los resultados como : “ Demasiado número para contar “ ( DNPC ) con al menos una colonia coliforme detectada y verificada . La presencia de coliformes en tales cultivos indica la colocación del filtro de membrana completo dentro de un tubo estéril con caldo bilis verde brillante . Como alternativa , arrastre la superficie completa del filtro con una asa , con un aplicador estéril o con isopos de algodón estéril e inocule un tubo de caldo lactosado y a otro de caldo bilis verde brillante . Si se produce gas de este cultivo dentro de las  $48 \pm 3$  horas a  $35 \pm 0.5$  °C , se concluye la presencia de coliformes . En el caso de una resiembra de un muestreo adicional por resultados de crecimiento confluyente o mayor de 200 , en lugar de filtrar 100 ml , filtre porciones de 50 ml a través de 2 membranas diferentes , porciones de 25 ml a través de cuatro membranas , así sucesivamente . La cuenta de coliformes totales observada sobre todas las membranas se suma y se reporta el número total en 100 ml . ( 2 , 10 ) .

Finalmente , a continuación se presentan un esquema de autoverificación , con el cual se puede localizar y corregir los principales problemas de una planta purificadora de agua por el sistema de filtración rápida por arenas .

En el esquema completo de autoverificación , ( SSA Dir. Gral. Bienes y Servicios ) , se efectuaron algunas modificaciones , y se puede emplear como una herramienta para mejorar la calidad del producto .

\*/J H.C .

### 7.3 AGUA PURIFICADA ENVASADA , ESQUEMA DE AUTOVERIFICACIÓN

ETAPA DEL PROCESO	RIESGOS	CARACTERÍSTICAS A CONTROLAR	ESPECIFICACIONES	MONITOREO	PREVENCIÓN / CORRECCIÓN	REFERENCIA
7.3.1 CLORACIÓN	ORGANO LEPTICO	Sabor y olor.	Características del producto	Análisis sensorial del producto terminado , cada lote.	Concentración de cloro adecuada que no altere las características sensoriales del producto	ART. 227 Medir la concentración de cloro en los autocisternas y verificar su procedencia , medir la concentración de cloro residual en las cisternas o tanques . Revisar los registros de adición de cloro .
	FÍSICO	Concentración y tiempo de contacto.	5 PPM , mínimo de 30 minutos . Característicos del producto , >200 / ml	Concentración de cloro libre , prueba de la ortotolidina	Dar el tiempo especificado para que el cloro ejerza su acción bactericida . Uso de dosificador automático .	Medir el tiempo de contacto del cloro con el agua .
	MICROBIO LÓGICO	Desinfección	mesofilos aerobios , > de 2 NMP/100 ml en coliformes	Análisis Microbiológico	Efectuar una prueba de determinación de punto de inflexión de cloro.	Verificar si se efectuó una prueba de determinación del punto de inflexión de cloro.

ETAPA DEL PROCESO	RIESGOS	CARACTERÍSTICAS A CONTROLAR	ESPECIFICACIONES	MONITOREO	PREVENCIÓN / CORRECCIÓN	REFERENCIA
7.3.2 FILTRACIÓN POR ARENA Y GRAVA	MICROBIO LÓGICAS	Aumento de la carga microbiana	Mesófilos aerobios < a 200 UFC / ml	Análisis microbiológico semestral a la salida del filtro	Retrolavados diarios o cuando se requiera según los resultados microbiológicos y de sólidos totales  Sanitización de grava arena recipientes y líneas. Cambio de gravas y arenas por la presencia de " bolas de lodo "	Verificar la periodicidad de retrolavados , sanitizado de arenas , resultados microbiológicos y de sólidos totales.  Fecha de carga de los tanques y estado general de estos.
	FÍSICO	Materia extraña y sólidos totales	Ausencia de materia extraña Sólidos totales 500 PPM máximo	Análisis semanales de sólidos totales a la salida del filtro	Repintado o cambio de recipientes " Filtros " por su desgaste .	

ETAPA DEL PROCESO	RIESGOS	CARACTERÍSTICAS A CONTROLAR	ESPECIFICACIONES	MONITOREO	PREVENCIÓN / CORRECCIÓN	REFERENCIA
7.3.3 DEODORIZACIÓN FILTRACIÓN CON CARBÓN ACTIVADO	FÍSICO	Sabor, olor y color Concentración de cloro residual	Características del producto 0.10 PPM	Análisis sensorial de producto terminado, cada lote Concentración de cloro residual	Retrolavados diarios o cuando se requiera según los resultados sensoriales y de determinación de cloro residual. Cambio o reactivación de carbón	Verificar la periodicidad de retrolavados. Fecha de carga de los tanques o de la reactivación. Medir antes y después del filtro la concentración de cloro.

ETAPA DEL PROCESO	RIESGOS	CARACTERÍSTICAS A CONTROLAR	ESPECIFICACIONES	MONITOREO	PREVENCIÓN / CORRECCIÓN	REFERENCIA
7.3.4 LUZ ULTRA VIOLETA	MICROBIO LÓGICO.	Tiempo de vida de las lámparas  Calidad microbiológica	7 500 horas o lo especificado por el fabricante.  De cero a 100 UFC / ml	Visual en el panel de la lámpara  Análisis microbiológicos mensuales a la salida del equipo. Mesofilos aerobios < a 100 UFC / ml	Limpieza periódica y regular de los tubos de cuarzo , eliminar incrustaciones y cualquier opacidad.  Cambio de las lámparas al termino de vida útil o cuando los resultados microbiológicos indiquen su mal funcionamiento.	ART. 77 y 81.  Verificar fecha de instalación o de cambio de lámparas . Verificar en la bitácora la periodicidad de limpieza del equipo. En su caso , registro de la intensidad de radiación de la lámpara . Verificar resultados de análisis microbiológicos.

ETAPA DEL PROCESO	RIESGOS	CARACTERÍSTICAS A CONTROLAR	ESPECIFICACIONES	MONITOREO	PREVENCIÓN / CORRECCIÓN	REFERENCIA
7.3.5 LAVADO DE GARRAFON	QUÍMICO	Concentración de hidróxido de sodio ( Sosa ), o detergente.	2.0 al 5.0 % de hidróxido de sodio o uso de detergentes especiales de acuerdo a las especificaciones del fabricante.	<p>Revisar varias veces al día la actividad del hidróxido de sodio mediante el uso de tiras reactivas de pH a 14 unidades, así como la limpieza de la solución .</p> <p>Revisar la actividad del detergente visualmente por la formación de espuma.</p>	Utilizar la concentración adecuada de hidróxido de sodio , verificar la calidad de este . Revisar el tipo de detergente y su uso autorizado por la SSA. Cambio diario o cuando se requiera de la solución de lavado.	<p>ARTS. 71 , 81, 216 y 223 .</p> <p>Verificar el aislamiento de la zona de lavado , observar que se lave el interior de los envases , observar que el enjuague se efectúe con agua purificada , comprobar la eficiencia del enjuague con solución de fenoltaleína , rojo de fenol o papel indicador de pH , siendo este de igual número que el del agua antes del enjuague y después de éste</p>

ETAPA DEL PROCESO	RIESGOS	CARACTERÍSTICAS A CONTROLAR	ESPECIFICACIONES	MONITOREO	PREVENCIÓN / CORRECCIÓN	REFERENCIA
continua LAVADO DE GARRAFÓN	FÍSICO  MICROBIO LÓGICO	Presencia de materia y materiales extraños.  Temperatura del agua.  Calidad del agua empleada en el enjuague	Ausencia de materia extraña.  65 a 70 grados centígrados Emplear agua purificada .  Mesofilicos aerobios > 100 UFC / ml Coliformes : no detectable NMP / 100 ml ; Cero UFC / 100 ml Técnica de filtración por membrana.	Ausencia de materia extraña Revisar que las salidas a presión de la solución limpiadora y del agua funcionen adecuadamente. Medir la temperatura cada hora.  Efectuar análisis microbiológicos del agua de enjuague	Visual del lavado , eficiencia del lavado y enjuague interno y externo . Selección de envases al termino del lavado , rechazando los que presenten deficiencias , en el caso de envases plásticos, rechazar los que tengan perforaciones o se encuentren opacos. Efectuar modificaciones para calentar el agua . La zona de lavado de envases debe de estar cubierta y fuera de corrientes de aire , con pisos resistentes y en buen estado .	Determinar la acción detergente con papel indicador de pH a 14 unidades.  Medir la temperatura del agua .  Verificar los resultados de los análisis microbiológicos del agua purificada.



E.	R.	CARAC.	ESPECIFICACIONES	MONITOREO	PREVENCIÓN / CORRECCIÓN	REFERENCIA
7. 3. 6			<p>Mesófilos aerobios &gt;100 UFC / ml Coliformes totales &gt;2 NMP /100 ml Coliformes fecales : no detectable NMP / 100 ml o cero UFC / 100 ml</p> <p>Estado general de salud aceptable , uso de ropa, cubre boca , cofia , botas mandil etc. Adecuado. Limpieza de manos y uñas adecuado. Ausencia de cosméticos, alhajas y adornos. Lavado de manos antes de iniciar actividades y al regresar a estas.</p>	<p>Análisis Microbiológico de la superficie de las llenadoras cada tres meses . Análisis Microbiológico del aire medio ambiente en el interior de la zona de envase , así como en la zona externa al área de envase . Visual de limpieza y sanitización de equipo. Visual de aspecto general , manos y uñas del operador . Visual del uso adecuado del equipo. Análisis Microbiológico de la superficie de las manos .</p>	<p>Llevar un registro de limpieza de boquillas de la llenadora . La zona de llenado debe de estar aislada y protegida de las corrientes de aire . El estudio Microbiológico del medio ambiente deberá constatar que el número de UFC / 10 minutos del área interna sea menor al mismo del área externa de envase , en caso contrario identificar y reparar el aislamiento de la zona de envase o introducir un sistema de aire forzado y filtrado de presión positiva. Efectuar la limpieza de las boquillas de la llenadora por lote de producción y cotidianamente antes de empezar a llenar . El operador debe de contar con el equipo necesario y debe de usarlo correctamente. De requerirse se modificará la técnica de lavado de manos y se emplearan cepillos y jabones o detergentes o soluciones sanitizantes . El operario gozará de buena salud y no debe tener lesiones .</p>	<p>ARTS. 71 y 78 Revisar el resultado de los análisis microbiológicos de : boquillas o superficies de la llenadora , medio ambiente, y manos. Visualmente Higiene personal , uso de equipo . Higiene de manos , el operario debe seguir las buenas practicas de higiene y de producción .</p>

ETAPA DEL PROCESO	RIESGOS	CARACTERÍSTICAS A CONTROLAR	ESPECIFICACIONES	MONITOREO	PREVENCIÓN / CORRECCIÓN	REFERENCIA
7.3.7 COLOCACIÓN DEL TAPÓN	MICROBIO LÓGICO.	Higiene del tapón. Higiene del operario. Temperatura del agua de tapones.	Desinfección del tapón antes de colocarlo. Higiene del operario, igual al de envasado. 40 a 45 grados centígrados	Visual Si emplea cloro, analizar el contenido de cloro, si emplea otro agente desinfectante, cuantifíquese. Medir la temperatura regularmente.	Desinfectar los tapones Colocar adecuadamente los tapones. Uso adecuado de los implementos y equipos de trabajo. Higiene del operador Aumentar o disminuir la temperatura según lo registrado en el termómetro.	ART. 78 Revisar en la bitácora la concentración del desinfectante. Revisar la temperatura del agua. Revisar el registro de temperaturas del agua.

ETAPA DEL PROCESO	RIESGOS	CARACTERÍSTICAS A CONTROLAR	ESPECIFICACIONES	MONITOREO	PREVENCIÓN / CORRECCIÓN	REFERENCIA
<p>7.3.8</p> <p>SELECCIÓN E INSPECCIÓN DEL PRODUCTO TERMINADO</p>	<p>FÍSICO</p> <p>MICROBIO LÓGICO. Y SENSORIAL</p>	<p>Presencia de materia extraña</p> <p>Presencia de algas</p>	<p>Ausencia de materia extraña</p> <p>Ausencia</p> <p>El agua envasada no se tornara de color verde en al menos el periodo de caducidad descrito por el fabricante .</p>	<p>Visual antes de la salida del producto al mercado .</p> <p>Visual , permita el contacto con la luz solar a una muestra por lote ó por día por el tiempo de caducidad , reemplazando cada muestra por el día respectivo reciclando</p>	<p>Observar que se realice eficientemente la selección de producto y verificar el registro de estos .</p> <p>Rotar regularmente al personal que efectúa esta actividad .</p> <p>Realizar la sanitización de cisternas líneas de distribución , tanques, filtros , pisos paredes .</p> <p>Verificar la buena aplicación de las técnicas de selección y lavado de envases .</p> <p>Verificar la correcta aplicación de los sanitizantes .</p>	<p>Revisar en la bitácora.</p> <p>Revisar la bitácora , cambio de empleados .</p>

ETAPA DEL PROCESO	RIESGOS	CARACTERÍSTICAS A CONTROLAR	ESPECIFICACIONES	MONITOREO	PREVENCIÓN / CORRECCIÓN	REFERENCIA
7.3.9 PRODUCTO TERMINADO	MICROBIO LÓGICOS.	Características Microbiológicas	De acuerdo con el reglamento de la Ley General de Salud .	Análisis Microbiológico por lote de producto terminado.	Realizar buenas prácticas de elaboración , y realizar los análisis indicados regular y periódicamente .	Revisar en la bitácora.
	FISICO-QUÍMICO	Características Fisicoquímicas del producto	De acuerdo con el reglamento de la Ley General de Salud .	Análisis Fisicoquímico del producto por lote.	Realizar buenas prácticas de elaboración , y realizar los análisis indicados regular y periódicamente	Revisar los resultados de análisis y en su caso la carta de control de calidad NOM-SSA1-041-1993

## VIII. BIBLIOGRAFÍA :

- 1.- MANUAL OF INSTRUCTION FOR WATER TREATMENT PLANT OPERATORS , 1962 , New York State Department of Health , Albany, N.Y. USA . Versión en Español, Guerrero Torres Raul, Ingeniero Químico. Título en Español : Manual de Tratamiento de aguas . Dirección de saneamiento del medio ambiente y oficina de entrenamiento profesional , departamento de salud del estado de Nueva York , Albany , U.S.A. . Ed. Limusa México 1976.
- 2.- STANDARD METHODS FOR THE EXAMINATION OF WATER AND WASTEWATER , MÉTODOS NORMATIZADOS PARA EL ANÁLISIS DE AGUAS POTABLES Y RESIDUALES , preparado y editado conjuntamente por : American Public Health Association , American Water Works Association , Water Pollution Control Federation ; APHA , AWWA , WPCF . Mary Ann H. Franson directora de edición , Ed. Diaz de Zantos , S. A. 1992 Madrid España.
- 3.-Vernon L. Snoeyin, David Jenkins .WATER CHEMISTRY. Ed. John Wiley & Sons , inc. Versión española : Sanguines , Ma. . Franchini , Química del agua . Ed. Limusa , S. A. de C.V. México 1987.
- 4.- Vernon I. Snoeyin, David Jenkins , James O. Leckie John F. Ferguson . QUÍMICA DEL AGUA MANUAL DE LABORATORIO . Versión española : Sanguines Ma. .Franchini . Ed. Limusa , S. A. de C.V. México 1983.
- 5.- Jimenez G. F., Wesche E. P., Galaviz S. , Segovia S. , Garza F.H.. PARASITOS Y ENFERMEDADES DEL BAGRE ( *Ictalurus spp* ) Compilación : Laboratorio de

Parasitología “ Dr . Eduardo Caballero y Caballero “ Facultad de Ciencias Biológicas ,  
Universidad Autonoma de Nuevo Leon , San Nicolas de los Garza , N.L. México 1986  
Secretaria de Pesca . ISBN 968-817-124-7 . Impreso en Manufacturas Lusac, S. A . ;  
México 1988.

6.- Hopkins , Edward Scott , Elwood L. Bean , WATER PURIFICATION CONTROL , 4a  
ed. , Baltimore E.U.A. , 1986 Williams & Wilkins Ed.

7.- Maier Franz J. . FLUORURACIÓN DEL AGUA POTABLE ,. Título en Ingles :  
Manual of water fluoridation practice , 1963 McGraw Hill Book Company . Inc E.U.A. ,  
versión española : Corona R. H. . Berkeley , E.U.A. , 1971 De. Limusa Wiley , S.A.  
Impreso en México .

8.- Masschelein W.J. . OZONE ET OZONATION DES EAUX , Coordonateur , 2a ed.  
Comete Euroren , Ed. Lavoisier Tec. & Doc Editorial , F. 75384 , Paris Cedex 08 1993 ,  
ISBN : 2-85206-689-0

9.- Betty H . Olson y Laslo A. Nagy . MICROBIOLOGY OF POTABLE WATER ..  
University of California , Irvine U.S.A. Advances in applied Microbiology , Volumen 30 , pp  
75-117 , 1984 Academic Press , Inc.. ISBN 0-12-0026309 .

10.- NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-041-SSA1-1993 BIENES Y SERVICIOS .  
AGUA PURIFICADA ENVASADA , ESPECIFICACIONES SANITARIAS . Diario  
oficial de la federacion , 24 de marzo de 1995 México.

11.- NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-092-SSA1-1994 , MÉTODO PARA LA  
CUENTA DE BACTERIAS AEROBIAS EN PLACA .

12.-NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-109-SSA1-1994 PROCEDIMIENTO PARA LA TOMA , MANEJO Y TRANSPORTE DE MUESTRAS DE ALIMENTOS PARA SU ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO .

13.- NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-112-SSA1-1994 Bienes y servicios . Determinación de Bacterias coliformes . Técnica del número más probable . Diario Oficial de la Federación 15 de Agosto de 1994 . México .

14.- NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-127-SSA1-1994 . AGUA PARA USO Y CONSUMO HUMANO , LIMITES PERMISIBLES DE CALIDAD Y TRATAMIENTOS A QUE DEBE SOMETERSE EL AGUA PARA SU POTABILIZACIÓN . Diario Oficial de la Federacion 15 de agosto de 1994 México .

15.- Gilbert Charles E., Edward J. Calabrese , Editado por . REGULATIN DRINKING WATER QUALITY . Ed. Lewis Publishers , Chelsea , Michigan , 1962 E.U.A.

16.- Tebutt T.H.Y. . PRINCIPIES OF WATER QUALITY CONTROL ., University of Birmingham , Ed. Permamon Press , printed by BPC Wheatons Ltd , Exeter. 1991 Great Britain

17.- James A. and Evison L, Edited by . BIOLOGICAL INDICATORS OF WATER QUALITY . Ed. Jhon Wiley & Sons , 1979 Great Britain .

18.- Montgomery J. M. WATER TREATMENT PRINCIPLES AND DESIGN , Ed. Jhon Wiley & Sons U.S.A.1985

19.- Hamer P., Edited . INDUSTRIAL WATER TREATMENT PRACTICE ., B.A. Ed.. Butterworth & Co. 1961 London and Tondridge .

- 20.- Kawamura Susuma. INTEGRATED DESIGN OF WATER TREATMENT FACILITIES, Ed. John Wiley & Sons , Inc. 1993 U.S.A.
- 21.- SECRETARIA DE SALUD . 1988 REGLAMENTO DE LA LEY GENERAL DE SALUD EN MATERIA DE CONTROL SANITARIO DE ACTIVIDADES , ESTABLECIMIENTOS , PRODUCTOS Y SERVICIOS . México D. F.
- 22.- Bipin S. Parekh . Edited by. REVERSE OSMOSIS TECHNOLOGY ., Millipore Corporation Bedford. Massachusetts . , Ed.. Marcel Dekker, Inc. 1988 New York and Basel . U.S.A.
- 23.- LEY GENERAL DE SALUD Ed. Porrúa , México 1993
- 24.- GUIDELINES FOR DRINKING WATER QUALITY Vol 2 , World Health Organization , Geneva 1996. ISBN 92 4 154480 5 ( v. 2 ) ( NLM Classification : WA 675 ).
- 25.- CODE OF FEDERAL REGULATIONS , U.S. GOVERNMENT PRINTING OFFICE WASHINGTON OFFICE OF FEDERAL REGISTER , Title 21 , Volume 2 Part 100 to 169 . 21CFR 103.35 Subpart B Standarts of Quality off Bottled Water . April 1966.
- 26.- FEDERAL REGISTER . U.S. GOVERNMENT , Nov. 13 , 1995 , Vol 60 , Num. 218. From de federal Register Online via GPO Acces ( wais.access .gpo.gov ) ( DICID:fr13no95-16 ) Departamnet of Health and Human Services ( DHH ) , Food and Drug Administration ( FDA ) . 21CFR Part 103 et al . FR 57123 . effective May 13 , 1996 , consulta en jun 26 ,1998
- 27.- Kasinath Banerjee , P. N. Cheremisinoff , STERILIZATION SYSTEMS , Ed. Technomic Publishing Company Inc, 1985 Lancaster, Pennsylvania , U.S.A.



- 28.- Lykins Benjamin W. Jr. , R.M. Clark , J. A. Goodrich , POINT-OF-USE / POINT-OF-ENTRY FOR DRINKING WATER TREATMENT , Ed. Lewis Publishers , 1991 , Chelsea , Michigan , U.S.A.
- 29.- Mitchell Ralph . Edited , McKay Gordan, WATER POLLUTION MICROBIOLOGY . Ed. Wiley-Interscience , John Wiley & Sons,Inc . U.S.A. 1972 . pp. 207-235 , 333-344 .
- 30.- Parrilla C. Ma. , Saldate C. O., Nicolí T. L.M. , MANUAL DE TÉCNICAS Y PROCEDIMIENTOS DE LABORATORIO PARA ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE AGUA POTABLE . Secretaria de Salud , Subsecretaria de Servicios de Salud , Dir. Gral. De Epidemiología , Laboratorio Nacional de Salud Publica . México 1989 . pp 7-20 .
- 31.- Bonilla Ubaldo , MANUAL DEL CURSO DE : ANÁLISIS DE AGUAS Y AGUAS DE DESECHO . SRH , Subsecretaria de Planeación , Dir. Gral. De usos del agua y prevención de la contaminación , centro de investigación y entrenamiento . México 1994 . pp 2-8
- 32.- Otte J. , Editor. J. M. Aguilar Bartolomé . y colaboradores . EL GRAN LIBRO DE LA SALUD . Ed. Reader's Digest México , S.A. de C.V. México 1971 .