

## Evaluación de la calidad microbiológica de cuatro diferentes marcas de agua embotellada comercializadas en el estado de Nuevo León

Garza Ruizsparza R.I.\*, Martínez Morales J.F.X.

Universidad de Monterrey, Departamento de Ciencias Básicas. Laboratorio de Microbiología, Av. Ignacio Morones Prieto 4500, Jesús M. Garza, 66238 Monterrey, N.L.

\*rosa.garza@udem.edu

### RESUMEN:

En México el agua potable es un servicio esencial y debe ser asegurada su calidad e inocuidad y evitar riesgos sanitarios, ya que el consumo de agua contaminada genera enfermedades de origen hídrico. Objetivo: Evaluar y comparar la calidad microbiológica de marcas de agua embotellada y el agua entubada del estado de Nuevo León. Materiales y Métodos: Se evaluaron 4 marcas de agua embotellada (A, B, C y D) de 10 municipios del Estado de Nuevo León, México, el tamaño de muestra fue de 10 unidades para cada una de las marcas de agua embotellada. Teniendo una muestra de agua potable (AP) de cada municipio como control. Para evaluar la calidad microbiológica se analizaron los microorganismos indicadores de contaminación; coliformes totales, mesófilos aerobios y *E. coli* con base a la NOM-112-SSA1-1994 y NOM-092-SSA1-1994. Resultados y Conclusiones: Los resultados encontrados después del análisis experimental indicaron que el agua embotellada de la marca B puede presentar problemas de calidad microbiológica pues se encontró la presencia de *E. coli* en 9 de las 10 muestras. Se puede indicar que en algunos casos el adquirir agua de marcas prestigiadas no es sinónimo de mejor calidad que suministrada por el estado de Nuevo León..

### ABSTRACT:

In Mexico, drinkable water is an essential good in which its quality and safety must be assured in order to avoid sanitary risks, since the consumption of polluted water generates diseases. Objective: Evaluate and compare the microbiological quality of several comercial bottled water brands along with the public water provided by the state of Nuevo León. Materials and methods: 4 bottled water brands (A, B, C and D) from over 10 municipalities of the state of Nuevo León, Mexico were evaluated. Sample size consisted of 10 units for each one of the brands. A control of drinkable water (DW) was taken from each municipality. To evaluate its microbiological quality, the presence of pollution indicator microorganisms was analyzed; such as total coliforms, aerobic mesophiles and *E. coli* using the methods described in NOM-112-SSA1-1994 and NOM-092-SSA1-1994. Results and conclusions: The results obtained after the experimental analysis showed that "B" Brand bottled water could have microbiological quality issues since it was found the presence of *E. coli* in 9 samples. In some cases, consumption of bottled water of prestigious brands isn't a synonym of better quality than that provided by the state of Nuevo Leon..

**Palabras clave:** Inocuidad, agua potable, agua embotellada, evaluación microbiológica.

**Área:** Microbiología y biotecnología

## INTRODUCCIÓN

El agua constituye el 75 % de la tierra y forma parte de los alimentos, siendo esencial para la vida (EFSA, 2010), incluyendo para el ser humano que requiere agua diariamente para poder mantener sano su organismo ya que casi 75% del cuerpo está formado por agua o sus hidratos (EFSA, 2010). Económicamente el desarrollo de la población mundial a su vez es dependiente en gran medida del agua, siendo la contaminación y el deterioro de sus fuentes de obtención factores que limitan el crecimiento poblacional (UNESCO, 2016).

Conforme a la Guía para la calidad del agua potable de la OMS del 2006 se le conoce como agua potable o agua inocua, cuando la misma puede ser consumida sin riesgo significativo para la salud, considerando las distintas vulnerabilidades o riesgos que puede sufrir un ser humano en cualquier etapa de la vida. El término también se aplica al agua que cumple con las normas de calidad anunciadas por las autoridades locales e internacionales.

Mundialmente se han establecido foros, conferencias y acuerdos que velan por cuidar la inocuidad, la higiene y seguridad del agua:

*La Conferencia Internacional sobre Atención Primaria de Salud que tuvo lugar en Alma Ata, Kazajstán (ex Unión Soviética) en 1978, conferencias sobre el agua, como la Conferencia Mundial sobre el*

*Agua del Mar de Plata (Argentina) de 1977, que dio inicio al Decenio Internacional del Agua Potable y del Saneamiento Ambiental, así como los Objetivos de Desarrollo del Milenio aprobados por la Asamblea General de las Naciones Unidas (ONU) en 2000 y el documento final de la Cumbre Mundial sobre el Desarrollo Sostenible de Johannesburgo de 2002. Más recientemente, la Asamblea General de las Naciones Unidas declaró el periodo de 2005 a 2015 como Decenio Internacional para la Acción «El agua, fuente de vida» (Guía para la calidad del agua potable de la Organización Mundial de la Salud, 2006, p.1).*

Las organizaciones e institutos nacionales e internacionales han establecido un gran número de parámetros e índices para marcar estándares de la calidad del agua. El parámetro más aceptado es el que está relacionado con la salud. La Organización Mundial de la Salud (OMS, o sus siglas en inglés WHO) ha establecido guías de seguridad que establecen los componentes que puede contener el agua para ser potable (es decir agua segura para beber). La OMS divide los parámetros de calidad de agua en dos categorías: (i) Enfocadas a la salud, que toman en consideración componentes radiológicos y químicos que tienen el potencial de daño directo a la salud humana y (ii) aquellos otros componentes que no afectan de forma directa a la salud, pero le confieren al agua mal sabor u olor. (OMS, 2017).

Sin embargo, se encontró que el agua con alta turbidez, que presenta coloración, sabor y olor altos, conduce a los consumidores de la misma a pensar que no es apta para el consumo humano. No obstante, el parámetro más importante que se debe tener en cuenta al controlar la calidad del agua es determinar que el agua no contenga contaminantes como excremento humano, de animales o pájaros. Una directiva de la OMS es controlar que el conteo de microorganismos en muestras de 100ml sea 0. Y si se detecta cualquier cantidad en el conteo, el agua se considerará no apta para el consumo humano (34).

En México el agua para suministro en la población debe provenir de una fuente conocida y limpia, y deberá cumplir con los estándares de agua potable de la modificación a la norma NOM-012-SSA1-1994. Por lo general, el control microbiológico del agua se realiza para verificar la limpieza del suministro, actividades de su manejo y la efectividad de las medidas de tratamiento implementadas; este monitoreo debe realizarse de manera periódica y de acuerdo a un programa establecido por la planta proveedora del suministro o producto.

La participación del mercado está repartido en más del 99% por grandes empresas siendo la marca Bonafont del Grupo Danone la número uno con 34% en ventas de más por \$3,412 millones de dólares, el segundo lugar lo ocupa la marca Ciel de Coca-Cola con el 22.9% de participación, el tercer puesto con el 8.8% Epura de la empresa PepsiCo, un poco más atrás está la empresa Nestlé con su marca Santa María, luego otras para dar un total del mercado por \$10,036.5 millones de dólares en el 2013 (Espinosa, 2014).

Es importante atender los sistemas de distribución de agua, ya que la fuentes de contaminación de la misma (contaminación fecal, contaminación por almacenaje o el arrastre de solutos) durante la distribución por malas prácticas es un factor considerable para enfermedades diarreicas o intoxicaciones y el deterioro de las fuentes de abastecimiento de agua, elevando nivel de riesgo sanitario (Burrows, 1993).

Los principales factores de impacto en la salud se consideran las propiedades organolépticas, físicas, químicas y biológicas alterando directamente las fuentes de obtención del agua y elevando el nivel de riesgo sanitario. (Guía para la vigilancia y control de la calidad del agua, 2002), este riesgo se debe a la posibilidad de propagar por el transporte y distribución del agua agentes contaminantes causales de enfermedades o modificar labores y/o producto en el sector industrial o el hogar (Sabogal, 2000).

De acuerdo con la norma NOM-251-SSA1-2009 que establecen las buenas prácticas de manufactura (BPM's) toda el agua que se ponga en contacto con alimento o que su destino sea consumo humano debe cumplir con los estándares que el agua para beber estipule de acuerdo a la norma correspondiente, cumpliendo con la característica de ser inocuo para el consumidor, evitando y minimizando cualquier tipo de riesgo y asegurando la inocuidad.

- Riesgo físico
- Riesgo químico
- Riesgo biológico

La norma NOM-251-SSA-1-1994, considerando los tipos de riesgo menciona que la calidad de cualquier producto para consumo humano es un reflejo de tres factores:

- Calidad biológica: presencia de organismos en la fuente de agua que pueden significar un riesgo para la salud humana.
- Calidad química: presencia de iones disueltos y su concentración dentro de la fuente de agua.
- Calidad física: presencia de partículas potencialmente de causar un riesgo físico a la salud humana.

De esta manera nos plantea en lo que refiere al suministro de agua potable los aspectos más importantes son la ausencia de microorganismos patógenos y la de productos químicos nocivos o desagradables. Estas normas se aplican tanto a los pozos o fuentes que se usen para el suministro de agua para consumo humano o de uso industrial. Por lo que se pensaría que, en el control sanitario del agua, deberían aislarse organismos patógenos sin embargo no es así porque:

- Los organismos patógenos, se presentan esporádicamente y no sobreviven mucho tiempo en ella, y por lo tanto no encontrarse en la muestra enviada al laboratorio.
- Si existen en pequeño número es fácil que escapen a las técnicas de investigación.
- El examen de una muestra de agua en el laboratorio requiere 24 h o más para obtener resultados, y en ese tiempo el agua podría haberse consumido.

Por lo anterior se dirige la atención a demostrar la presencia de especies bacterianas cuyo origen fecal es conocido, en especial los del grupo de los coliformes. Debido a que existen en gran número en el intestino humano y sobreviven más tiempo en el agua que los organismos patógenos.

Las bacterias coliformes forman parte del medio ambiente, en la tierra, la vegetación, así también como en los intestinos de los mamíferos. Las bacterias coliformes no son susceptibles a causar enfermedades, pero su presencia indica que el suministro de agua puede ser vulnerable a la contaminación por microorganismos más dañinos. *Escherichia coli* (*E. coli*) es el único miembro del grupo de coliformes totales que se encuentra sólo en los intestinos de mamíferos, incluyendo seres humanos. La presencia de *E. coli* en el agua indica contaminación fecal reciente y la posible presencia de patógenos causantes de enfermedades, tales como bacterias, virus y parásitos. Aunque la mayoría de las cepas de bacterias *E. coli* son inofensivas, algunas cepas, tales como *E. coli* 0157: H7 (Office of the Chief Medical Officer of Health. Government of New Brunswick, 2016), pueden causar enfermedades graves.

De esta manera el factor biológico más importante para garantizar la pureza del agua es llevar un control microbiológico adecuado que permita establecer los parámetros aceptados para considerarse como producto inocuo; estos parámetros deberán permitir validar el estado del producto asumiendo que el agua de marcas comerciales que se distribuye está libre de microorganismos patógenos, pues en ocasiones pueden no estar de acuerdo a las normas nacionales establecidas para su control de calidad, como se menciona en éste y otros estudios; por ejemplo, el realizado con mil muestras en 103 marcas diferentes de aguas purificadas llevado a cabo por la “*Natural Resources Defense Council of United States* (NRDC)” en 1999 que encontró que los niveles de patógenos superaba al de la norma vigente.

Los métodos de laboratorio para determinar la carga microbiana son: el recuento de bacterias mesofílicas y coliformes totales en placa y sin embargo dada la sensibilidad del método de NMP para el grupo coliforme, ya que detecta como mínimo 1 bacteria por mililitro es la más empleada la cual se lleva a cabo en tres etapas: prueba presuntiva, confirmativa y completa. La aplicación más ventajosa de la cuenta de mesofílicos aerobios es para evaluar la eficiencia de un proceso de tratamiento de agua, cuando esta se ha manejado correctamente durante su procesamiento y envasado, se ha almacenado en empaques o tanques limpios y protegidos contra contaminaciones; el recuento de estas arroja cantidades muy bajas generalmente menos de 50 UFC/ml. Por otro lado, la estimación de organismos coliformes fecales permite evaluar los riesgos de contaminación fecal reciente en el agua. El agua para beber no debe contener bacterias coliformes en un número que haga pensar en la contaminación con aguas residuales de origen fecal.

Por otro lado, la norma NOM-093-SSA1-1994 referente al agua y hielo potable menciona como límites permisibles para la cuenta total de mesofílicos aerobios 100 UFC/ml y de coliformes totales < 2 NMP/100 ml.

Por último, el impacto económico debe ser considerado pues en ocasiones el precio de compra por adquirir una botella de agua purificada oscila entre 774 a 2721 veces el valor que se podría ahorrar si se utiliza agua potable entubada disponible a través de la red de distribución municipal, con el mismo nivel de pureza o en veces superior al que se adquiere al comprar aguas envasadas por la industria. Este dato fue calculado en base a los datos publicados por la Procuraduría Federal de Consumidor del Gobierno de México (PROFECO) realizado en mayo 2007; el precio medio por adquirir 1.5 lt de agua embotellada fue de \$11.00 Pesos M.N. (Abaroa, 2007) mientras que sí se utiliza agua de la llave de acuerdo con los datos para tarifa residencial en mayo 2007 para hasta 5 metros cúbicos el precio fue \$47.82 Pesos M.N. (CESPT, 2007). Mientras que en la ciudad de Monterrey con precios de marzo 2016 de Servicios de Agua y Drenaje de Monterrey IPD (SADM) este valor del metro cúbico es \$7.01 Pesos M.N. (SADM, 2016) y al adquirir en línea 12 botellas de agua Bonafont de 1.5lt en SAMS Club México por \$103.00 Pesos M.N. (SAMS Club México, 20012).

En este estudio se buscó determinar la situación actual, si el agua embotellada brinda una mejor calidad microbiológica que el agua entubada y cuál es la calidad real que las marcas de mayor venta están llevando al mercado para que el público en general tenga un parámetro objetivo y numérico de que es más conveniente para su salud, bolsillo y poder aminorar en alguna medida el gran impacto que provoca arrojar cerca de 21.3 millones botellas de PET y sus derivados al medio ambiente por día en México (Oxfam, 2011). En el 2013 en México se consumieron 8,234.5 millones de galones de agua embotellada que representa un aumento del 4.8% respecto al 2008. El volumen de agua per cápita es superior a los 67 galones lo que lo ubica como el mayor consumidor de agua embotellada por persona del mundo. A nivel mundial con datos del 2013 presentados por la IBWA (International Water Bottled Association) México pasó al lugar número 3 desplazando a Estados Unidos y con China en primer lugar con un consumo de 10,418.4 millones de galones. El total mundial se ubicó en 70,371.6 millones de galones de agua embotellada (Rodwan, 2013).

Es por ello que se considera conveniente evaluar distintas marcas de agua embotellada entre ellas mismas, y también analizar el agua de la ciudad para tomarla de referencia y así actuar con seguridad a la hora de decidir qué hacer, si consumir el agua de la llave o comprarla ya embotellada.

El objetivo de este estudio será evaluar la calidad microbiológica de cuatro marcas de agua potable de consumo preferente en el estado de Nuevo León.

## **MATERIALES Y METODOS**

### **Sitio de estudio y población.**

El presente estudio fue realizado en diez municipios del estado de Nuevo León. La población objeto de este estudio será el agua envasada para consumo humano de marcas comerciales provenientes de establecimientos en la ciudad. Se desarrolló en el Laboratorio Microbiología del Departamento de Ciencias Básicas de la Universidad de Monterrey.

### **Tipo de estudio, tamaño de la muestra y recolección de datos.**

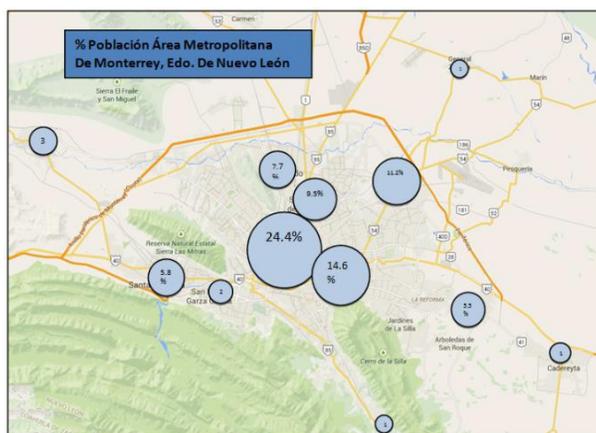
Para la recolección de muestras se seleccionaron 10 municipios del estado: Monterrey, Guadalupe, Apodaca, San Nicolás de los Garza, Gral. Escobedo, Santa Catarina, Ciudad Benito Juárez, Cadereyta Jiménez, García y San Pedro Garza García; elegidos por ser los más poblados del Estado, ver tabla 1 (INEGI 2015).

Tabla 1. Municipios más poblados del Edo. De Nuevo León

Municipio	Población total	Porcentaje
039 Monterrey	1,109,171	21.7%
026 Guadalupe	682,880	13.3%
006 Apodaca	597,207	11.7%
046 San Nicolás de los Garza	430,143	8.4%
021 General Escobedo	425,148	8.3%
031 Juárez	333,481	6.5%
048 Santa Catarina	296,954	5.8%
018 García	247,370	4.8%
019 San Pedro Garza García	123,156	2.4%
009 Cadereyta Jiménez	95,534	1.9%
041 Pesquería	87,168	1.7%
033 Linares	79,853	1.6%
		<b>88.1%</b>
<b>Total Estado de Nuevo Leon</b>	<b>5,119,504</b>	

Fuente: INEGI 2015.

Figura 1. Porcentaje Poblacional en Área Metropolitana de N.L.



\*Fuente Datos INEGI 2015 (95) elaboración propia.

Para determinar las marcas el agua embotellada sin gas más consumidas entre la población se realizó una encuesta aleatoria con 6 personas en cada uno de los 10 municipios con mayor densidad de población. Y de acuerdo al resultado de la encuesta, las marcas con mayor preferencia adquiridas por la población en tiendas de conveniencia fueron 4 designadas con las letras A, B, C y D. (Nota: se omite mencionar las marcas para no infringir ninguna ley local sobre el manejo y confidencial del estudio). Los resultados de la encuesta se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2. Estadística censal de marcas de aguas embotelladas.

MARCAS	VOTO	%
1 A	25	41.67
2 B	14	23.33
3 C	10	16.67
4 D	8	13.33
5 E	2	3.33
6 F	1	1.67
60 VOTOS		100.00

Encuesta realizada a 6 personas de cada municipio donde se realizó muestreo del Estado de Nuevo León. Fuente: Elaboración propia.

### Instrumentos de medición y técnicas

El proceso de selección de la técnica de muestreo fue el no probabilístico con el tipo de muestreo empírico según Hernández en el 2013. Para determinar el tamaño de la muestra se usó el Teorema de Límite Central (CLT) (Kiemele, 2000), que establece que el tamaño de la muestra debe ser mayor o igual a 30 para que la muestra tienda a ser normal. En base a lo anterior, se decidió recolectar una muestra de 40 botellas de agua para su análisis. Las 40 muestras se obtuvieron al azar de los 10 municipios elegidos. Para recolectar estas 40 muestras se tomaron botellas de 600 ml ó 1000 ml de los distintos municipios; en cada municipio se colectó una botella de cada una de las 4 marcas diferentes para que los datos sean representativos y las muestras se recolectaron en las tiendas de conveniencia, por ser los lugares más concurridos por los habitantes de cada municipio para la adquisición de agua embotellada.

**Tabla de selección de muestra\*\***

Municipios	No. Botellas x Marca	Marcas	Total Muestra	Codificación de la muestra	Tabla de Marcas Seleccionadas			
					A	B	C	D
Monterrey	1	4	4	Monterrey	1	1	1	1
Guadalupe	1	4	4	Guadalupe	1	1	1	1
Apodaca	1	4	4	Apodaca	1	1	1	1
San Nicolás de los Garza	1	4	4	San Nicolás de los Garza	1	1	1	1
Gral. Escobedo	1	4	4	Gral. Escobedo	1	1	1	1
Santa Catarina	1	4	4	Santa Catarina	1	1	1	1
Juárez	1	4	4	Juárez	1	1	1	1
García	1	4	4	García	1	1	1	1
San Pedro Garza García	1	4	4	San Pedro Garza García	1	1	1	1
Cadereyta	1	4	4	Cadereyta	1	1	1	1

Muestra Total	40
---------------	----

Muestras por Marca	10	10	10	10
--------------------	----	----	----	----

Tabla 3. de selección de muestra de agua embotellada no gaseosa en base a la población relativa del área metropolitana de Nuevo León; tomando en cuenta las 4 marcas de mayor venta distribuidas en tiendas de conveniencia. (Fuente: Elaboración Propia).

### Procedimientos

- Se eligieron los 10 municipios más poblados del estado de nuevo león.
- Se obtuvieron 40 muestras en total.
- Se realizaron 10 muestreos de las 4 marcas diferentes de agua embotellada.
- Para correlacionar los resultados con la hipótesis, se obtuvo una muestra del agua potable en cada municipio identificándola como AP.
- Las muestras de agua fueron colectadas a temperatura ambiente y se transportaron en hieleras para no modificar las características iniciales del producto.
- En el laboratorio se etiquetaron asignando un código para dar confidencialidad a este estudio
- A cada botella de agua se le realizaron los análisis microbiológicos.
- Finalmente se obtuvo un resultado por cada marca de agua embotellada (4 marcas) y del agua potable.

Análisis microbiológico: Las técnicas para el análisis de agua embotellada que se emplearon fueron las de mayor validez para estos fines en la determinación de bacterias coliformes según la NOM-201-SSA1-2002.

- La técnica de tubos múltiples para la determinación del número más probable (NMP) de coliformes totales (prueba presuntiva)
- Las pruebas: confirmatoria y complementaria, y,
- El recuento en placa de mesofílicos aerobios.

## Análisis microbiológico

Las técnicas para el análisis de agua embotellada que se emplearon fue la determinación de bacterias coliformes conforme la NOM-201-SSA1-2002.

- La técnica de tubos múltiples para la determinación del número más probable (NMP) de coliformes totales (prueba presuntiva)
- Las pruebas: confirmatoria y complementaria, y,
- El recuento en placa de mesofílicos aerobios.

Los medios de cultivo se prepararon con 2 días de anticipación, los utilizados para la técnica de tubos múltiples para detección de coliformes fueron:

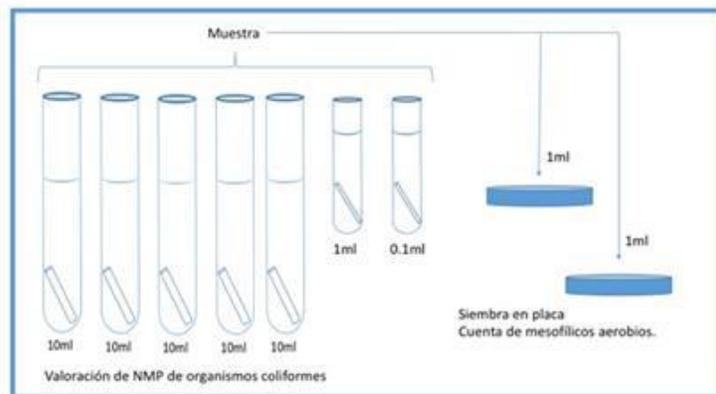
- Prueba presuntiva: Caldo lactosado de simple y doble concentración.
- Prueba confirmatoria: Caldo bilis verde brillante 2%.
- Prueba complementaria: Agar EMB selectivo para enterobacterias patógenas.
- Sistema bioquímico: para identificación de bacterias.
- Medio de Esculina para probar contaminación fecal.
- Mesofílicos aerobios: Agar para métodos estándar.

Método de tubos múltiples para NMP de organismos coliformes.

Prueba presuntiva

1. Se colocaron las series de tubos que se iban a utilizar en gradillas.
2. Se identificaron cada serie de tubos.
3. Se agitó la muestra y se transfirieron volúmenes de 10 ml a cada uno de los 5 tubos con 20 ml de caldo lactosado de doble concentración y 1.0 ml y 0.1 ml de muestra respectivamente a dos tubos con 10 ml de caldo lactosado de concentración sencilla.
4. A todos los tubos se les puso la campana de fermentación para la determinación de gas.

**Figura 2.** Esquema de inoculación de la muestra (SSA, 1989).

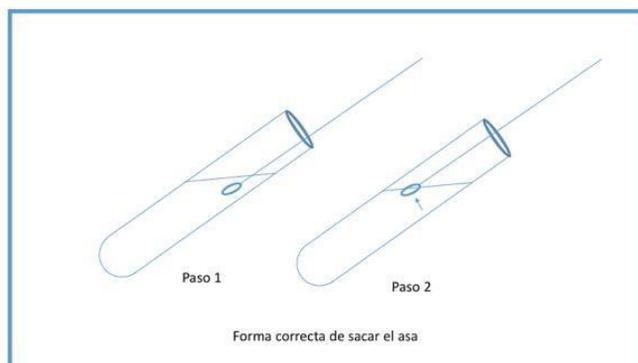


5. Se incubaron a 35° C.
6. Se examinaron a las 24 horas.
7. Se prosiguió con la incubación hasta completar las 48 horas.
8. Se separaron los tubos que presentaron gas para someterlos a la prueba confirmatoria.
9. Si no hubo formación de gas en 48 h. de incubación, la prueba se consideró negativa.

**Prueba confirmatoria.**

1. Se sometieron a la prueba confirmatoria todos los tubos de caldo lactosado que mostraron cualquier cantidad de gas a las 24 o 48 horas de incubación.
2. Se agitaron suavemente los tubos y se transfirió un inóculo de cada uno de los tubos positivos a un tubo con caldo lactosa bilis verde brillante también con la campana de fermentación a cada tubo.
3. Este procedimiento se efectuó de la siguiente manera: inclinando el tubo, se introdujo el asa y se sacó del líquido en sentido perpendicular a la superficie, esto fue para que se formara un menisco bien definido.

**Figura 3.** Esquema de la correcta extracción del inóculo (SSA, 1989)



4. Se metieron a incubar a 35° C durante 24 a 48 horas. La formación de gas se considera una prueba confirmatoria positiva.
5. En seguida se determinó el NMP de organismos coliformes/100 ml consultando la tabla de NMP.

#### **Prueba complementaria.**

1. Esta prueba se usa cuando la confirmatoria es positiva; y sirve para identificar al organismo.
2. Se agitó el tubo positivo con el caldo bilis verde brillante, se tomó un inóculo y se siembra en una placa de agar EMB y otro inóculo en agar esculina. Se incubó por 24 horas a 37°C.
3. Después de 24 horas se observó el crecimiento.
4. Se tomaron unas colonias con el asa de picadura que viene en el mismo kit de pruebas bioquímicas y se inoculan en todos los medios para el sistema bioquímico.
5. En este estudio se utilizó el método: “EnteroPluri-Test with VP” y en base a los resultados positivos o negativos de cada prueba se formó un número codificador y luego se consultó el libro de códigos donde te menciona que bacteria es la aislada (101).

#### **Cuenta de mesofílicos aerobios**

1. Se distribuyeron las cajas Petri en la mesa de trabajo, sobre una superficie lisa y bien nivelada y se identificaron con el código de muestra ya asignado.
2. Se transfirió un volumen de 1 ml de la muestra a una caja Petri.
3. Se añadió de 12-15 ml del medio de cultivo estándar fundido y mantenido a 45°C de temperatura.
4. Se mezclaron las cajas con la muestra por medio de movimientos rotatorios.
5. Se solidificaron.
6. Se llevó a incubación en posición invertida por 24 hr a 35°C.

7. En el caso que creciera algo; se cuentan todas las colonias desarrolladas usando un contador de colonias tipo Quebec.

**Análisis de datos**

Se determinaron los porcentajes de presencia bacteriológica en el agua envasada de diferentes marcas con las variables del municipio de muestreo. Se determinó la distribución de las variables mediante el uso de la distribución de Poisson.

**RESULTADOS**

Se evaluaron 4 marcas de agua embotellada (A, B, C y D) de 10 municipios del Estado de Nuevo León, México, el tamaño de la muestra fue de 10 para cada una de las marcas de agua embotellada. Teniendo una muestra de agua potable (AP) de cada municipio como grupo control.

- De 51 municipios se seleccionaron 10
- De 6 marcas de botellas de agua se seleccionaron 4 (ABCD)
- Se tomaron muestras de agua potable de cada municipio 10 (AP)
- Total 40 muestras de agua embotellada (10 x 4) grupo experimental,
- A 1 al 10/ B 1 al 10/ C 1 al 10/ D 1 al 10.
- Total 10 muestras de agua potable (10 x 1), grupo control
- AP 1 al 10

**Determinación del NMP para coliformes totales y el conteo en placa para mesofílicos aerobios.**

Se realizaron las pruebas preliminares y confirmatorias para determinar el NMP para coliformes totales para las marcas denominadas como "A, B, C, D y AP", para las 10 muestras de más marcas A, C, D y AP se obtuvo un resultado de <2 NMP/ml, a su vez, el recuento de mesófilos aerobios fue de <1 UFC/ml.

En la muestra B, se obtuvieron 9 unidades positivas, solo una unidad fue negativa; todas las unidades fueron negativas en el conteo de mesofílicos aerobios (ver **Tablas** ).

**Tabla 4.** Representativa de los resultados obtenidos del análisis microbiológico realizado a las muestras de las marcas "A, C, D y AP"

Tiempo de incubación	NMP Colif. Totales /100 Ml V.N	Mesofílicos aerobios V.N : hasta 200 col. /ml	
		Caja 1	Caja 2
24 hrs presuntiva	<2	<1	<1
48 hrs.presuntiva		<1	<1
24 hrs confirmatoria		<1	<1
48 hrs confirmatoria		<1	<1
24 hrs. presuntiva	<2	<1	<1
48 hrs. presuntiva		<1	<1
24 hrs. confirmatoria		<1	<1
48 hrs. confirmatoria		<1	<1
24 hrs. presuntiva	<2	<1	<1
48 hrs. presuntiva		<1	<1
24 hrs. Confirmatoria		<1	<1
48 hrs. Confirmatoria		<1	<1
24 hrs. presuntiva	<2	<1	<1
48 hrs. presuntiva		<1	<1
24 hrs. confirmatoria		<1	<1
48 hrs. confirmatoria		<1	<1
24 hrs. presuntiva	<2	<1	<1
48 hrs. presuntiva		<1	<1
24 hrs. confirmatoria		<1	<1
48 hrs. confirmatoria		<1	<1
24 hrs. presuntiva	<2	<1	<1
48 hrs. presuntiva		<1	<1
24 hrs. confirmatoria		<1	<1
48 hrs. confirmatoria		<1	<1
24 hrs. presuntiva	<2	<1	<1
48 hrs. presuntiva		<1	<1
24 hrs. confirmatoria		<1	<1
48 hrs. Confirmatoria		<1	<1
24 hrs. presuntiva	<2	<1	<1
48 hrs. presuntiva		<1	<1
24 hrs. confirmatoria		<1	<1
48 hrs. Confirmatoria		<1	<1
24 hrs. presuntiva	<2	<1	<1
48 hrs. presuntiva		<1	<1
24 hrs. confirmatoria		<1	<1
48 hrs. confirmatoria		<1	<1

El agua embotellada A, C y D, no mostraron producción de gas; el agua potable AP 1 a 10 no mostró producción de gas tal como se muestra en las por lo cual se indica la ausencia de crecimiento y desdoblamiento del medio.

El agua embotellada “B”, mostró producción de gas en todas las muestras excepto la B1, por lo cual indica presuntivamente el crecimiento bacteriano.

**Prueba confirmatoria**

Como pudimos observar en las pruebas preliminares o presuntivas, el agua embotellada B 2 al B10, mostró producción de gas en todas las muestras, por lo que se continuó con la prueba confirmatoria, dando también positiva produciendo gas en las campanas de fermentación en cada tubo.

**Prueba complementaria**

Debido a que los análisis confirmatorios que se realizaron sobre las muestras del agua identificada con la etiqueta “B” dieron 9 positivas, se procedió a la realización de las pruebas bioquímicas o complementarias. Crecieron colonias de color oscuro con brillo verde metálico como se observa en la figura 4.

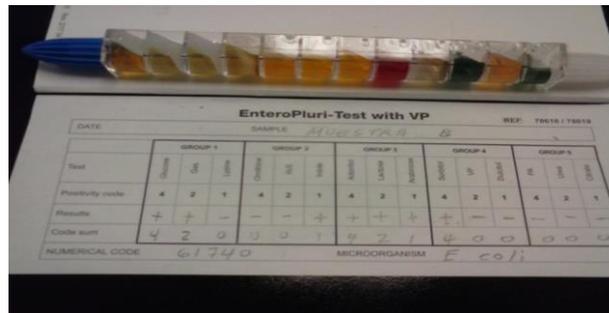
**Tabla 5.** Representativa de los resultados obtenidos del análisis microbiológico realizado a las muestras de las marcas "A, C, D y AP"

Tiempo de incubación	NMP Colif. Totales /100 Mil V.N	Mesofilicos aerobios V.N : hasta 200 col. /ml	
		Caja 1	Caja 2
24 hrs presuntiva	<2	<1	<1
48 hrs presuntiva		<1	<1
24 hrs confirmatoria		<1	<1
48 hrs confirmatoria		<1	<1
24 hrs. presuntiva	38	<1	<1
48 hrs. presuntiva		<1	<1
24 hrs. confirmatoria		<1	>1
48 hrs. confirmatoria		<1	>1
24 hrs. presuntiva	8.8	<1	<1
48 hrs. presuntiva		<1	<1
24 hrs. Confirmatoria		<1	<1
48 hrs. Confirmatoria		<1	<1
24 hrs. presuntiva	38	<1	<1
48 hrs. presuntiva		<1	<1
24 hrs. confirmatoria		<1	<1
48 hrs. confirmatoria		<1	<1
24 hrs. presuntiva	38	<1	<1
48 hrs. presuntiva		<1	<1
24 hrs. confirmatoria		<1	<1
48 hrs. confirmatoria		<1	<1
24 hrs. presuntiva	38	<1	<1
48 hrs. presuntiva		<1	<1
24 hrs. confirmatoria		<1	<1
48 hrs. confirmatoria		<1	<1
24 hrs. presuntiva	38	<1	<1
48 hrs. presuntiva		<1	<1
24 hrs. confirmatoria		<1	<1
48 hrs. confirmatoria		<1	<1
24 hrs. presuntiva	20	<1	<1
48 hrs. presuntiva		<1	<1
24 hrs. confirmatoria		<1	<1
48 hrs. Confirmatoria		<1	<1
24 hrs. presuntiva	20	<1	<1
48 hrs. presuntiva		<1	<1
24 hrs. confirmatoria		<1	<1
48 hrs. confirmatoria		<1	<1

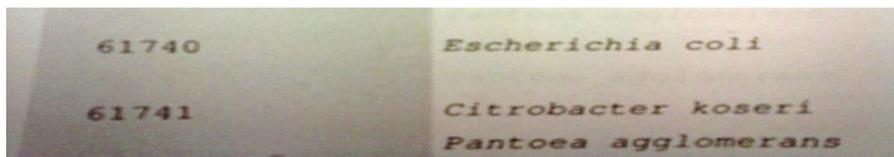


Figura 4. Medio EMB crecimiento de colonias verdes brillantes.

Las pruebas bioquímicas fueron positivas para Glucosa, Gas, Indol, Adonitol, Lactosa, Arabinosa y Sorbitol; y, negativas para Lisina, Ornitina, H<sub>2</sub>S, VP, Dulcitol, PA, Urea y Citrato.

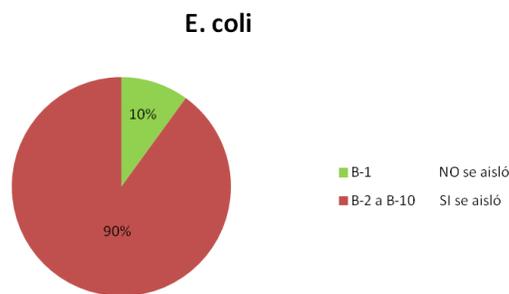


**Figura 5. Pruebas bioquímicas Enteropluri-Test para identificación de coliformes.**  
\*El microorganismo aislado fue *Escherichia coli* con el # de código 61740. Ver Figura 6.



**Figura 7. Códigos de Enterobacterias**

Por lo tanto, de acuerdo a los resultados obtenidos de *E. coli* se observó que de los 10 muestreos de la marca “B”, en 9 se aisló *E. coli*, esto es equivalente al 90% de la marca “B”.



**Figura 6. Porcentaje de la marca de agua embotellada “B” donde se aisló *E. coli*.**

**Fuente:** Elaboración propia

Como se mostró en las **Tablas 4 y 5**. Para la determinación de mesófilos aerobios en placa, deben ser hasta 200 col/ml según la Norma Oficial, habiéndose encontrado que en todas las marcas de aguas embotelladas e inclusive el agua potable el resultado fue negativo, se hizo por duplicado.

## DISCUSIÓN

Los principales microorganismos indicadores de la calidad en alimentos son los mesófilos aerobios (o cuenta total), cuenta de hongos y levaduras y coliformes totales; entre los indicadores de contaminación fecal se encuentran los coliformes fecales, *E. coli*, *enterococos* y *C. perfringens*. La detección de coliformes se usa como indicador de la calidad del agua o indicador de condiciones sanitarias en alimentos. El grupo de coliformes totales incluye microorganismos que pueden sobrevivir y proliferar en el agua, pueden utilizarse como indicador de la eficacia de los tratamientos de agua, normalmente están ausentes en las fuentes de aguas minerales naturales. Por lo tanto, éstos son considerados un indicador de contaminación del agua en la fuente o durante el proceso de envasado (OMS, 2016).

Los resultados obtenidos en el análisis experimental, muestran que las marcas A, C, D y AP resultan negativas a la presencia de microorganismos indicadores de contaminación por lo que se infiere su riesgo biológico es

bajo conforme a la NOM-251-SSA1-2009 que establece los requisitos mínimos de buenas prácticas de higiene que deben observarse en la elaboración de productos alimenticios, por otro lado de acuerdo a la NOM-093-SSA1-1994 la cuenta total de mesofílicos aerobios se encuentra dentro de parámetros establecidos en la misma <100 UFC/ml, a su vez, para coliformes totales nos menciona <2 NMP/100 ml referido también en la NOM-127-SSA1-1994, por lo tanto se asegura la inocuidad para estos parámetros microbiológicos; por otro lado la marca “B” que mostró resultados positivos para coliformes totales y la presencia de la bacteria *E.coli* genérica de igual forma conforme a la NOM-251-SSA1-2009 nos indica un riesgo microbiológico en el producto (9 unidades de 10 muestreadas), se encuentra fuera de los parámetros aceptables para coliformes totales de acuerdo a la NOM-093-SSA1-1994 y la NOM-127-SSA1-1994, pero dentro de límites permisibles para mesofílicos aerobios por lo tanto no es un alimento inocuo.

Los resultados negativos arrojados sobre el análisis de mesofílicos aerobios en el 100% de todas las muestras nos indican la existencia de condiciones desfavorables para la multiplicación de los microorganismos (NOM-127-SSA1-1994). El bajo porcentaje de marcas que presentan bacterias mesófilas en sus productos (100%), indica que para la elaboración del agua envasada las empresas presentan prácticas de higiene y de manipulación de las bebidas en proceso. Por otro lado al sobrepasar el rango de coliformes totales en la muestra “B” es una señal de posible presencia de organismos enteropatógenos. La prueba para *E. coli* fue positiva en un 90% de las muestras del grupo “B,” presentando colonias oscuras con brillo verde metálico. Ambos resultados nos señalan mala higiene del personal y el no cumplimiento de los requisitos sanitarios, la mala desinfección o elaboración del material del empaque podría permitir una contaminación de coliformes de origen fecal, junto con la manipulación del distribuidor, el agua o el hielo para su conservación en contacto directo con el agua envasada (Rojas, 2011).

Cabe resaltar que el consumidor deberá leer cuidadosamente la etiqueta de la marca seleccionada para comprender el contenido del producto, y si esa marca de agua utilizó cierto método de tratamiento de agua (Moazeni, 2013).

Por lo tanto la empresa productora de la marca “B” deberá considerar medidas y acciones correctivas para disminuir el riesgo microbiológico en su producto terminado y además de evaluar sus acciones preventivas o el análisis de riesgos para replantear su programa de Buenas Prácticas de Manufactura.

### CONCLUSIONES

1. Se identificaron y se obtuvieron muestras representativas de 4 marcas diferentes de agua embotellada comercializada en el Estado de Nuevo León.
2. Se realizó el análisis microbiológico de las bacterias indicadoras de calidad (coliformes totales y mesofílicos aerobios) en el agua embotellada por métodos oficiales mexicanos, encontrándose que un 25% de las 4 diferentes marcas de agua embotellada no cumplieron con al menos uno de los parámetros establecidos con la NOM-112-SSA1-1994.
3. Se le realizó también el mismo estudio microbiológico a muestras de agua potable de éstos municipios de Nuevo León para poder considerar si es necesario consumir agua embotellada en lugar de consumir el agua de la ciudad; encontrándose que el 100% del muestreo cumplieron con los parámetros que indica la normatividad para la calidad microbiológica.
4. Se encontró que el 90% de los 10 muestreos de la marca “B” resultó positiva para *E. coli*.

### BIBLIOGRAFÍA Y ANEXOS.

1. Abaroa SI. (2007). Brújula de compra Comparativo de precios: Agua embotellada. México: Procuraduría Federal del Consumidor (PROFECO). [artículo de Internet] 28 de Mayo de 2007. [acceso 5 de septiembre de 2014]; Disponible en: [http://www.profeco.gob.mx/encuesta/brujula/bruj\\_2007/bol40\\_agua.asp](http://www.profeco.gob.mx/encuesta/brujula/bruj_2007/bol40_agua.asp)
2. Burrows W. (1993) Tratado de microbiología, Interamericana. México.
3. European Food Safety Authority. (2010). Scientific Opinion on Dietary Reference Values for water. European Food Safety Authority Journal, 3, 1459-1507.

4. Comisión Estatal de Servicios Públicos en Tijuana (CESPT) 1989 [base de datos en Internet]. Tijuana: CESPT para Tarifas de Agua (Residencial) acceso 10 de septiembre del 2014]. Disponible en: <http://www.cespt.gob.mx/ServTarifas/Tarifas.aspx>
5. Espinosa E. (2014). Danone, lidera mercado del agua. 26 de diciembre de 2015, de Grupo Imagen Sitio web: <http://www.dineroenimagen.com/2014-04-22/36080>.
6. Erik D. Olson, J.D. (1999). Bottled water: pure drink or pure hype? Natural Resources Defence Council (acceso 23 de Agosto de 2014); Recuperado en: [http://www.iatp.org/files/Bottled\\_Water\\_Pure\\_Drink\\_or\\_Pure\\_Hype.htm](http://www.iatp.org/files/Bottled_Water_Pure_Drink_or_Pure_Hype.htm)
7. Hernández RC, Fernández P, Baptista. (2013). Metodología de la investigación. 3er. ed. Mexico. McGraw Hill/Interamericana Editores, S.A. p89-145.
8. Kiemele M, Schmidt SR, Berdine. Ronald J. (2000). Tools for Continuous Improvement In: Basic Statistics. 4ta. ed.; Cap.5-16, 17.
9. Lloyd LE, McDonald BE, Crampton EW. (1978) Water is metabolism. In: Fundamentals of Nutrition. 1st ed. Philadelphia: Lippcott, Williams & Wilkins.; p.2597-2644.
10. M. Moazeni, M. Atefi, A. Ebrahimi, P. Razmjoo, and M. Vahid Dastjerdi, "Evaluation of Chemical and Microbiological Quality in 21 Brands of Iranian Bottled Drinking Waters in 2012: A Comparison Study on Label and Real Contents," Journal of Environmental and Public Health, vol. 2013, Article ID 469590, 4 pages, 2013. <https://doi.org/10.1155/2013/469590>.
11. Norma Oficial Mexicana. (1994). Bienes y servicios. Determinación de bacterias coliformes. técnica del número más probable. (NOM-112-SSA1-1994). D.F., México: DOF.
12. Norma Oficial Mexicana. (1994). Bienes y servicios. Prácticas de higiene y sanidad en la preparación de alimentos que se ofrecen en establecimientos fijos. (NOM-093-SSA1-1994). D.F., México: DOF.
13. Norma Oficial Mexicana. (1994). Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa. (NOM-092-SSA1-1994). D.F., México: DOF.
14. Norma Oficial Mexicana. (2009). Prácticas de higiene para el proceso de alimentos, bebidas o suplementos alimenticios. (NOM-251-SSA1-2009). D.F., México: DOF.
15. Norma Oficial Mexicana. (2002), Productos y servicios. Agua y hielo para consumo humano, envasados y a granel. Especificaciones sanitarias. (NOM-201-SSA1-2002). D.F. México: DOF.
16. Norma Oficial Mexicana (1993). Requisitos sanitarios que deben cumplir los sistemas de abastecimiento de agua para uso y consumo humano públicos y privados (NOM-012-SSA1-1993). D.F., México: DOF.
17. Norma Oficial Mexicana. (1994). Salud ambiental, agua para uso y consumo humano-límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización. (NOM-127-SSA1-1994). D.F., México: DOF.
18. Organización de las Naciones Unidas para la Educación. (2016). Informe de las Naciones Unidas sobre el Desarrollo de los Recursos Hídricos en el Mundo 2016. Recuperado de <http://unesdoc.unesco.org/images/0024/002441/244103s.pdf>
19. Office of the Chief Medical Officer of Health. Government of New Brunswick. (2016). Facts on Drinking Water Coliform Bacteria – Total Coliforms & E.coli . 29 de agosto de 2016, de Office of the Chief Medical Officer of Health. Government of New Brunswick Sitio web: <http://www2.gnb.ca/content/dam/gnb/Departments/hs/pdf/en/HealthyEnvironments/water/Coliforme.pdf>
20. Organización Mundial de la Salud. (2016). Guías para la calidad del agua potable. Ginebra, Suiza: Organización Mundial de la Salud. p. 1-13.

21. Oxfam. (2011). México miembro de confederación internacional de Oxfam. México es ya el mayor consumidor de refresco en el mundo. Acceso 13 de febrero de 2016, de Oxfam Sitio web: <http://www.oxfamMexico.org/mexico-es-ya-el-mayor-consumidor-de-refresco-en-el-mundo-3/#.V1gX43JX-M8>
22. Rodwan JG. (2013). Sustaining vitality U.S. and International developments and statistics. En: International Bottled Water Association (IBWA). 13 de febrero de 2016, de Bottled water Sitio web: [http://www.bottledwater.org/public/2011%20BMC%20Bottled%20Water%20Stats\\_2.pdf#overlay-context=economics/industry-statistics](http://www.bottledwater.org/public/2011%20BMC%20Bottled%20Water%20Stats_2.pdf#overlay-context=economics/industry-statistics).
23. Rojas, A. (2011). Agua pura y saludable En: de la Fuente al consumidor: Innovando en Seguridad Alimentaria. p.2
24. Rojas R. (2002). Guía para la vigilancia y control de la calidad del agua para consumo humano. Lima, Perú: Centro Panamericano de Ingeniería Sanitaria y Ciencias del Ambiente.
25. Sabogal L. (2000). El riesgo sanitario y la eficiencia de los sistemas de tratamiento en la selección de tecnologías para la potabilización del agua. Cali: Universidad del Valle.
26. SAMS Club México. Agua embotellada Bonafont. [tienda en línea en Internet] 2012~. [acceso 5 de enero de 2015]; Disponible en: <https://www.sams.com.mx/Agua-Natural-Bonafont--12-pzas-1-5-1/17357>.
27. Secretario de Salud Subsecretaria de Servicios de Salud Dirección General de Epidemiología Laboratorio Nacional de Salud Pública. (1989). Manual de Técnicas y Procedimientos de Laboratorio para Análisis Microbiológico de Agua Potable. México, D.F.: Secretario de Salud
28. Servicios de Agua y Drenaje de Monterrey I.P.D. (SADM). 1990. [base de datos en Internet]. Monterrey: SADM para Tarifa de Agua (Residencial). [fecha de actualización marzo 2016; acceso marzo 12 de 2016]. Disponible en: [https://www.sadm.gob.mx/PortalSadm/Docs/t\\_TARIFA2\\_CD.pdf](https://www.sadm.gob.mx/PortalSadm/Docs/t_TARIFA2_CD.pdf)