

APROXIMACIÓN A LA PRESENCIA DE SPD Y MICROORGANISMOS EN AGUA EMBOTELLADA

• Elisa C. Arévalo-Pérez* • Aida J. Martínez-León • Mildred F. Lemus-Pérez •
• Manuel S. Rodríguez-Susa •

Universidad de los Andes, Colombia

*Autor de correspondencia

Resumen

ARÉVALO-PÉREZ, E.C., MARTÍNEZ-LEÓN, A.J., LEMUS-PÉREZ, M.F. & RODRÍGUEZ-SUSA, M.S. Aproximación a la presencia de SPD y microorganismos en agua embotellada. *Tecnología y Ciencias del Agua*. Vol. V, núm. 2, marzo-abril de 2014, pp. 5-18.

Poca información existe en la literatura acerca de la calidad química referente a subproductos de desinfección (SPD) y su relación con la microbiología del agua embotellada. Por tanto, se evaluó el contenido de trihalometanos (THM) y de ácidos haloacéticos (AHA) como principales SPD en siete marcas de agua embotellada del mercado colombiano, al igual que la presencia de indicadores microbiológicos, enterobacterias, aerobios mesófilos, hongos y levaduras. Los resultados mostraron valores máximos de 135 y 140 µg/l de THM y AHA totales, así como incumplimiento del 28% de la norma propuesta por la FDA. Se encontró la presencia de alguno de los indicadores microbiológicos en el 69% de las muestras e incumplimiento de la norma colombiana de agua potable en el 30%. La relación entre la cantidad de SPD y la calidad microbiológica fue diversa, observándose un escenario recomendable de baja concentración de SPD y microorganismos en dos de las marcas evaluadas. Finalmente, se requiere mayor información para analizar el efecto de la presencia de levaduras como indicador de cambios organolépticos en el agua y su posible relación con la proliferación de otro tipo de microorganismos.

Palabras clave: agua embotellada, subproductos de desinfección, enterobacterias, hongos, levaduras, mesófilos.

Introducción

En los últimos años, el consumo de agua embotellada ha aumentado de forma considerable, no sólo en cantidad sino en variedad. Muchas personas confían más en ésta que en el agua de la llave, entre otras razones por venir en un recipiente cerrado; en países en vía de

Abstract

ARÉVALO-PÉREZ, E.C., MARTÍNEZ-LEÓN, A.J., LEMUS-PÉREZ, M.F. & RODRÍGUEZ-SUSA, M.S. Study of the Presence of DBP And Microorganisms in Bottled Water. *Water Technology and Sciences (in Spanish)*. Vol. V, No. 2, March-April, 2014, pp. 5-18.

Little information exists in the literature about the chemical quality of disinfection by-products (DBP) and their relationship with the microbiological quality of bottled water. Therefore, trihalomethanes (THM) and haloacetic acids (HAA) —the main DBP— were assessed in seven brands of bottled water available on the Colombian market. The presence of microbiological indicators, enterobacteria, mesophilic aerobes, fungi and yeast were also measured as microbiological indicators. Results showed maximum values of 135 for total THM and 140 µg/L for total HAA, and 28% of samples did not comply with FDA regulations. At least one microbiological indicator was found in 69% of samples and 30% did not comply with Colombian norms for drinking water. The association between DBP and microbiological quality varied. A recommended scenario of low DBP concentration and microorganisms was observed in two of the brands evaluated. Finally, more information is needed to analyze yeast as an indicator of organoleptic changes in water and its possible relationship with the proliferation of other types of microorganisms.

Keywords: bottled water, disinfection byproducts, enterobacteria, fungi, mesophiles, yeast.

desarrollo su consumo puede estar relacionado con la ausencia de agua potable en algunas poblaciones. Para 2004, Colombia ocupaba el puesto 52 entre 71 países en consumo per cápita de agua embotellada, con un total de 13.6 litros al año, siendo Italia y México las naciones con mayor índice, con 184 y 169 litros por persona al año (Gleick, 2006). A pesar de su amplio

consumo, existe poca información acerca de la presencia de subproductos de desinfección (SPD), como los trihalometanos (THM) y los ácidos haloacéticos (AHA), así como de la calidad microbiológica en este producto, a diferencia del seguimiento que se realiza al agua potable suministrada por las redes de distribución, la cual está reglamentada de manera distinta al agua embotellada, ya que esta última es considerada un alimento (OMS, 2007). Es así como en el ámbito internacional, los estándares para agua embotellada pueden encontrarse sólo para THM en el caso de la Comunidad Europea, o tanto para THM como para AHA en Japón y los Estados Unidos. En la calidad microbiológica, parámetros como *Giardia* o *Cryptosporidium* que son controlados en agua potable no son exigidos (Graff *et al.*, 2011); además, la frecuencia de medición y los efectos por su incumplimiento son menores a los aplicados al agua de la red (Olson, 1999).

El agua potable embotellada está definida por la Comisión del Codex Alimentarius como el agua utilizada para llenar recipientes herméticamente cerrados, que es inocua y apta para el consumo humano inmediato (OMS, 2001). Sin embargo, es una realidad que en Colombia no todas las empresas que comercializan esta agua cumplen con las normas y los requerimientos necesarios para ello, lo que genera una posible presencia de patógenos o de concentraciones elevadas de otras sustancias que implican riesgo para la salud. Para disminuir las concentraciones de microorganismos patógenos está permitido, de acuerdo con la Resolución 12186 de 1991, recurrir a la cloración o uso de ozono, lo que puede llevar a la generación de SPD (INVIMA, 1991). De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2008), los subproductos más comunes son los THM, los AHA, los acetónitrilos halogenados y los fenoles clorados, de los cuales los THM y los AHA son los grupos predominantes en el agua clorada.

Los THM y los AHA se forman cuando la materia orgánica reacciona con el cloro

residual libre que se encuentra en el agua. De acuerdo con Garrido (2003), la rapidez de formación y la concentración final de estos compuestos dependen de factores como la temperatura, el pH, la concentración de cloro residual, los precursores orgánicos presentes, la concentración de bromo en el agua y el tiempo de contacto del cloro. La fórmula general de los THM es CHX_3 , donde X puede ser cualquier halógeno, o la combinación de varios; por lo general se refiere sólo a los compuestos de cloro y bromo, principalmente cloroformo (CF), bromodiclorometano (BDCM), dibromoclorometano (DBCM) y bromoformo (BF), que conforman lo que se conoce como THM totales (TTHM), los cuales son reglamentados por su asociación con efectos de exposición crónica. Como resultado de su volatilidad, se presume que la mayoría de los THM son transferidos al aire (OMS, 2008). Por otra parte, los AHA son ácidos débiles, no polares, con menor estabilidad que los THM en la red, por lo que su concentración en puntos extremos del sistema tiende a verse reducida, aunque son menos volátiles. Los compuestos con mayor prevalencia en las redes de distribución son los ácidos clorados monocloroacético (MCAA), dicloroacético (DCAA) y tricloroacético (TCAA), de los cuales el TCAA se encuentra en mayores concentraciones al incrementarse el cloro libre (Duarte, 2011). Al igual que los THM, por su posible incidencia en la salud, cinco AHA hacen parte de la reglamentación de la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (US EPA, por sus siglas en inglés): MCAA, DCAA, TCAA, monobromoacético (MBAA) y dibromoacético (DBAA).

Los efectos de exposición continua al agua tratada con altas concentraciones de SPD, como THM, AHA, nitrosaminas, furanonas, han sido asociados con problemas de desarrollo embrionario, así como con la generación de cáncer en hígado, vejiga, riñón y colon, a partir de ensayos toxicológicos y evidencia epidemiológica (Villanueva *et al.*, 2004; Richardson *et al.*, 2007; Nieuwenhuijsen *et al.*, 2009). La Agencia Internacional para

la Investigación sobre el Cáncer (IARC, por sus siglas en inglés) ha clasificado diferentes compuestos de acuerdo con su potencial carcinogénico sobre los humanos. CF, BDCM y DCAA están clasificados en el grupo 2B como posiblemente carcinogénicos para el hombre, pues hay suficiente evidencia en animales, pero no en humanos. Por el contrario, BF, DBCM y TCAA se ubican en el grupo 3: no clasificables como carcinogénicos para los humanos debido a la evidencia limitada en experimentos con animales; MCAA no ha sido clasificado por la IARC, por lo tanto no se considera su riesgo carcinogénico para los humanos. Por su parte, la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (USEPA) (2003) sugiere que existe una relación potencial entre los SPD presentes en el agua clorada y el cáncer de colon, recto y vejiga, la cual se ha analizado a partir de ensayos epidemiológicos, con resultados estadísticamente significativos para el cáncer de colon (Villanueva *et al.*, 2004), el de recto (Hildesheim *et al.*, 1998), y alguna evidencia entre la exposición a los SPD y el desarrollo del cáncer de vejiga (Koivusalo *et al.*, 1998).

Debido a los posibles efectos sobre la salud de los consumidores, varios estudios se han llevado a cabo internacionalmente para determinar las concentraciones de SPD en el agua embotellada. Ikem (2010) evaluó el contenido de compuestos orgánicos volátiles, incluyendo THM, en diferentes tipos de agua potable, encontrando en todas las muestras de agua en botella (19 marcas, incluyendo agua saborizada), CF, BDCM, DBCM y BF por debajo de la concentración máxima permisible por la Administración de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos (FDA) de 80 $\mu\text{g}/\text{l}$ para TTHM. En Egipto, Saleh *et al.* (2001) analizaron la concentración de CF, BDCM y DBCM en cinco marcas de agua embotellada presentes en el mercado; en una de ellas se identificaron concentraciones de los tres compuestos analizados por debajo de los valores guía establecidos por la OMS, y en otra sólo se observaron concentraciones de CF y DBCM

por debajo de las reportadas para la marca anterior. Asimismo, Leivadara *et al.* (2008), en Grecia, y Al-Mudhaf *et al.* (2009), en Kuwait, evaluaron 13 y 71 marcas de agua embotellada, respectivamente, evidenciando la presencia de THM y AHA en concentraciones por debajo de la máxima establecida por la FDA (80 $\mu\text{g}/\text{l}$ para TTHM y 60 $\mu\text{g}/\text{l}$ para el total de los AHA). La presencia de AHA en el agua en botella fue también observada en Beijing por Liu y Mou (2004), donde en cinco de diez marcas de agua se encontraron concentraciones entre 0.4 y 0.6 $\mu\text{g}/\text{L}$ de DCAA, mientras que no se detectaron MCAA y TCAA en ninguna de las muestras.

Por otro lado, la reducción en la concentración del desinfectante para controlar la presencia de los SPD puede conllevar a un recrecimiento de los microorganismos en el agua embotellada, cuyo tiempo de almacenamiento puede ser relevante en su proliferación. Con base en la caracterización microbiológica realizada por Varga (2011) en agua embotellada en Hungría, a partir de indicadores como *Clostridium*, coliformes totales, *E. coli*, *Enterococcus* spp. y *Pseudomonas aeruginosa*, pudo observar resultados positivos en al menos uno de los indicadores en 5.3% y 10.2% de las aguas carbonatadas y no carbonatadas evaluadas, respectivamente. También se han podido aislar hongos de agua mineral embotellada del mercado argentino en 33% de muestras que cumplía con la reglamentación de coliformes totales, *E. coli*, *Enterococcus* spp. y *Pseudomonas aeruginosa* (Cabral y Fernández-Pinto, 2002).

En Colombia se han realizado pocos estudios concernientes a la calidad del agua embotellada. En Sincelejo, Vidal *et al.* (2009) analizaron la calidad microbiológica del agua en bolsa que se distribuye en esa ciudad, pero aunque en el estudio se menciona la generación de THM en el agua de la llave, no se evalúa su presencia en el agua embotellada. La falta de información concerniente está ligada a que la Resolución 12186 de 1991 no establece límites para SPD. Por otra parte, la concentración máxima para TTHM en agua distribuida en las redes se establece como 0.2 mg/l, mientras

que para los AHA no existe una concentración límite (MAVDT, 2007). En cuanto a la calidad microbiológica, la Resolución 12186 establece valores máximos para coliformes totales, fecales y *Pseudomonas aeruginosa* de 2 NMP/100 ml, mientras que para el agua potable es 0 UFC/100 ml para coliformes totales y 100 UFC/100 ml para microorganismos mesófilos (MAVDT, 2007). La presencia de hongos no se encuentra regulada; sin embargo, son importantes desde la perspectiva de salud, pues muchos de estos organismos son capaces de causar enfermedades infecciosas e irritación en las mucosas, efectos especialmente perjudiciales en personas con inmunodeficiencias. Asimismo, aunque las levaduras no generan un efecto en la salud de la población expuesta, pueden causar alteraciones organolépticas en el agua y generar un ambiente propicio para el crecimiento de otros microorganismos, al cambiar el pH (Ancasi *et al.*, 2006).

Teniendo en cuenta la falta de información en este campo en el país, el objetivo del presente trabajo fue realizar una primera aproximación a la calidad química y microbiológica del agua embotellada, a partir del contenido de THM y AHA como principales SPD generados por la cloración, y de la presencia de microorganismos mesófilos, enterobacterias, hongos y levaduras como indicadores de calidad microbiológica. Además, a partir de estos resultados, observar la relación entre los SPD y los microorganismos presentes en el agua embotellada.

Materiales y métodos

Muestreo

Se recolectaron muestras de siete marcas de agua embotellada presentes en el mercado colombiano, en diferentes puntos de venta escogidos al azar. Tres de ellas pertenecen a dos grandes compañías de bebidas; dos son marcas propias de grandes hipermercados; una pertenece a una reconocida tienda nacional, y la última es una marca de poca participación en el mercado. La principal razón por la cual

se realizó el estudio con estas muestras fue el alto consumo que pueden representar las seis primeras marcas y, en el caso de la última, para realizar una comparación de su calidad con respecto a compañías de mayor prestigio.

En el cuadro 1 se presentan algunas características de las muestras recolectadas. Todas, con excepción de la primera, indican en su etiqueta “agua potable tratada”. El proceso de tratamiento previo al embotellamiento del agua de cada marca no fue conocido, ya que es información restringida por los fabricantes. Se utilizaron dos muestras de lotes diferentes, con excepción de la marca ECA1; una para cada grupo de SPD (*i.e.* THM, AHA), debido a que el análisis no se realizó en paralelo y la preservación no permitió utilizar la misma muestra.

Análisis de THM

Para la cuantificación de los THM se trasvasaron las muestras a un recipiente de vidrio ámbar de 250 ml, al cual se había adicionado 25 mg de tiosulfato de sodio pentahidratado (Sharlau®, España), obteniendo una concentración final de 100 mg/l, para la eliminación del cloro residual hasta una concentración de 15 mg/l, con el fin de evitar la formación adicional de THM al momento de analizar las muestras (USEPA, 1981). Los envases se llenaron completamente y se cubrieron con papel aluminio para evitar la reacción de los THM por la presencia de oxígeno o luz. Las muestras se mantuvieron tapadas y refrigeradas hasta el momento del análisis. De las siete muestras evaluadas, cinco se hicieron por duplicado.

Se realizó una microextracción en fase sólida (SPME) y posterior análisis por cromatografía gaseosa con detector de captura de electrones, usando el método de referencia ASTM D 6520-06 (2006), USEPA 551-1 (1995), en un cromatógrafo Hewlett Packard® (GC) 5890 Series II (Estados Unidos). Las condiciones operacionales del método fueron las indicadas en el cuadro 2. La microextracción se realizó como se describe: se adicionaron 3 gramos

Cuadro 1. Información del tipo, vencimiento y envase de las muestras de agua embotellada analizadas.

Muestra		Tipo		Fecha de vencimiento	Envase	Contenido neto
ECA1	T	APM	TA	14/08/2012	PET	500 ml
	A			14/08/2012		
ECA2	T	APT	PB	15/02/2012	PET	600 ml
	A			10/03/2012		
ECA3	T	APT	PB	12/02/2012	PET	600 ml
	A			04/03/2012		
ECA4	T	APT	PB	31/01/2012	PET	600 ml
	A			12/02/2012		
ECA5	T	APT	PR	30/02/2012	PET	600 ml
	A			19/03/2012		
ECA6	T	APT	AC	05/12/2011	PET	600 ml
	A			15/01/2012		
ECA7	T	APT	AC	11/02/2012	PET	600 ml
	A			06/03/2012		

APM: agua pura de manantial; APT: agua potable tratada; TA: tienda de alimentos; PB: productor de bebidas; AC: almacén de cadena; PR: marca de poco reconocimiento; T: muestra usada para el análisis de THM; A: muestra usada para el análisis de AHA.

Cuadro 2. Condiciones operacionales utilizadas de los métodos de detección de THM y AHA.

Parámetro	Condición THM	Condición AHA
Columna	HP-5	HP-5
Inyección	Splitless	Splitless
Gas Carrier	Nitrógeno	Nitrógeno
Gas Make up	Helio	Helio
Rampa de temperatura	40 °C (2 min) hasta 50 °C @ 3 °C/min (10 min); 50 °C hasta 75 °C @ 8 °C/min (10 min); 75 °C hasta 250 °C @ 10 °C/min (0 min)	40 °C (2 min) hasta 50 °C @ 3 °C/min (10 min); 50 °C hasta 75 °C @ 5 °C/min (10 min); 75 °C hasta 250 °C @ 8 °C/min (8 min)
Temperatura del inyector	250 °C	250 °C
Temperatura del detector	300 °C	250 °C

de NaCl (grado analítico, Merck®, Estados Unidos) a un vial grafable (30% p/v de la muestra); se tomaron 10 ml de la muestra de agua embotellada y se adicionaron al vial. Posteriormente se ajustó el pH a 2 con H₂SO₄ (grado analítico, CarloErba®, Francia) 0.5M y se sumergió el vial cerrado en baño de aceite a 50 °C durante 20 minutos. A continuación se expuso la fibra por 10 minutos; una vez concluido el tiempo, se realizó la exposición en el puerto de inyección del cromatógrafo.

Análisis de AHA

El método analítico que se utilizó para la medición de AHA fue SPME por medio de *head-space*, el cual consiste en una derivatización de los ácidos a sus respectivos ésteres para reducir su punto de ebullición y de esta forma poder ser recuperados por adsorción en una fibra afín de carboxen-polidimetilxilosano (CAR-PDMS) de 75 µm para ser expuesta en un cromatógrafo de gases. El equipo utilizado fue un Agilent

Technologies® 7890A GC System (Estados Unidos) con las condiciones listadas en el cuadro 2. El procedimiento de cuantificación utilizado fue el propuesto por Pérez (2010): a una muestra de agua en botella de 10 ml en un frasco de vidrio ámbar de 30 ml agregar 2.25 ml de H₂SO₄ y sulfato de sodio (Na₂SO₄, JTBaker®, Estados Unidos), en una proporción del 40% p/v; disolver la sal y agregar 30% v/v del metanol grado HPLC (3 ml) (Panreac®, España) para llevar a cabo la derivatización de los AHA; sumergir el frasco cerrado en baño de aceite mineral a una temperatura de 55 °C, exponiendo inmediatamente la fibra por 15 minutos con agitación constante a 750 rpm; retraer y exponer en el puerto de inyección, e iniciar la corrida de inmediato. Las muestras de agua en botella se mantuvieron selladas y refrigeradas hasta el momento del análisis.

Los límites de detección y cuantificación fueron de 0.5 y 1 µg/l para cloroformo (CF), bromodichlorometano (BDCM), dibromoclorometano (DBCM), bromoformo (BF) y ácido tricloroacético (TCAA), y de 1.5 y 3 µg/l para ácido monocloroacético MCAA y ácido dicloroacético DCAA.

Cultivo de microorganismos

Para el aislamiento de los microorganismos se usaron tres medios de cultivo: agar (SPC) Plate Count Agar (Oxoid®, Inglaterra); agar Eosina Azul de Metileno (EMB, por sus siglas en inglés) (Sharlau®, España), y agar Papa Dextrosa (PDA) (Pronadisa®, España). El primero es un medio no selectivo que permite el recuento y la detección de microorganismos aerobios mesófilos (ICMSF, 1978); el segundo es un medio selectivo y diferencial utilizado para el aislamiento de bacilos gram-negativos, que permite el desarrollo de especies de la familia *Enterobacteriaceae* y es utilizado en la fase de confirmación de coliformes totales (Oranusi *et al.*, 2003; Ngwai *et al.*, 2010), también ha sido reportado para el recuento de *E. coli* en agua embotellada (Ramalho *et al.*, 2001); el PDA es uno de los medios más usados para el

crecimiento de hongos y levaduras (Hurtado, 2011). La técnica utilizada en los tres casos fue el recuento en placa. Se aplicaron controles negativos sin inoculación para el aislamiento en todos los medios.

Tanto las muestras usadas para el análisis de THM como las que se utilizaron para el análisis de los AHA fueron cultivadas en los tres medios. La siembra de 0.1 ml de las muestras se realizó en fondo y éstas se incubaron a una temperatura de 37 °C durante 36 horas, para los primeros dos medios. Para el PDA, las muestras se sembraron en superficie y se incubaron a una temperatura de 25 °C durante seis días. El recuento se realizó a partir del conteo total en SPC y PDA, y diferencial en EMB: coliformes (fermentadores positivos de lactosa) como colonias moradas o negras. Aunque el conteo en EMB se realizó sólo para las colonias de coliformes, el reporte de los resultados se dio como enterobacterias debido a que no se llevó a cabo la prueba presuntiva (conteo por NMP) o la filtración por membrana (FDA, 2002).

Resultados y discusión

El cloroformo se encontró en todas las marcas, excepto en la primera, en un rango entre 1.8 y 132.8 µg/l; aunque la concentración de cloroformo en el agua embotellada no es regulada (cuadro 3), su cantidad en dos marcas excedió la norma de la FDA para TTHM. Por su parte, el bromodichlorometano se encontró por encima del límite de cuantificación (1 µg/l) sólo en cuatro marcas; mientras que los otros dos compuestos, el dibromoclorometano y el bromoformo, estuvieron por debajo del límite de detección (0.5 µg/l). En cuanto a los AHA, el MCAA se encontró en tres de las marcas (entre 3 y 7.1 µg/l), mientras que los otros dos ácidos se detectaron en cuatro de las siete marcas (5.6 y 73 µg/l). El TCAA presentó las mayores concentraciones, entre 9 y 73 µg/l. A diferencia de los THM, en tres marcas no se cuantificaron concentraciones significativas de ningún ácido (figura 1).

Cuadro 3. Estándares internacionales para agua potable y agua embotellada.

Parámetro (µg/l)	OMS (AP)	Japón (AP)	Australia (AP)	ICBWA (AE)	EUA (AE)	Colombia (AP)	Argentina (AE)	Sudáfrica (AE)	CE (AE)	UK (AE)
MCAA	20	20	150	-	-	-	-	-	-	-
DCAA	50	40	100	50	-	-	-	-	-	-
TCCA	200	200	100	100	-	-	-	-	-	-
HAA5	-	-	-	-	60	-	-	-	-	-
BDCM	60	30	-	60	-	-	-	-	-	-
BF	100	90	-	100	-	-	-	-	-	-
DCM	100	100	-	100	-	-	-	-	-	-
CF	300	60	-	200	-	-	-	-	-	-
TTHM	-	100	250	-	80	200	100	200	100	100

ICBWA: International Council of Bottled Water Associations; EEUU: Estados Unidos; CE: Comunidad Europea; UK: Reino Unido; AP: norma para agua potable; AE: norma para agua embotellada.

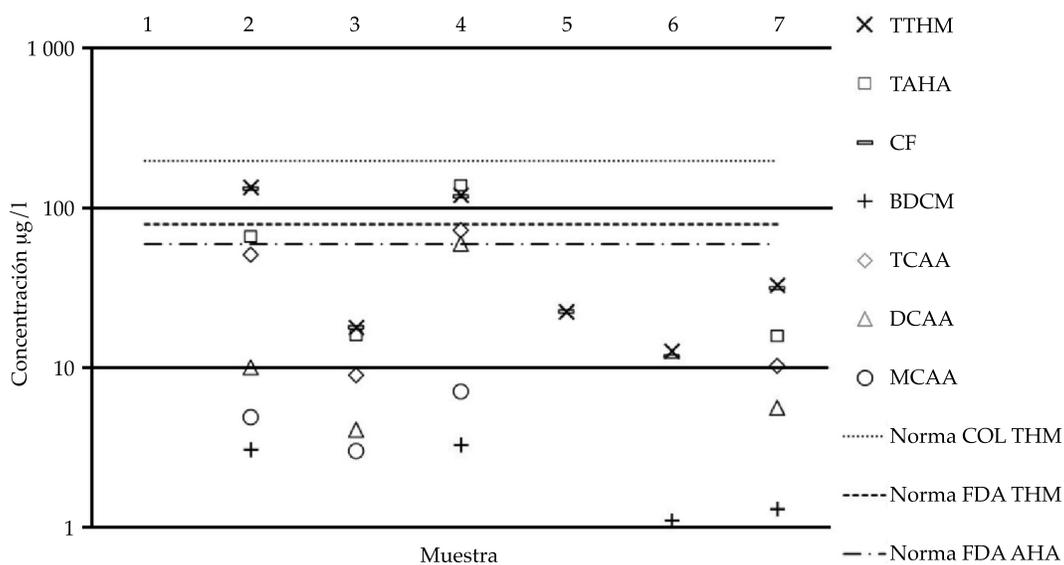


Figura 1. Contenido de THM y AHA en agua embotellada y su relación con la norma colombiana de agua potable y FDA de agua embotellada.

Por su parte, el cultivo de microorganismos también arrojó resultados importantes. De las siete marcas estudiadas, sólo dos no presentaron crecimiento de bacterias, enterobacterias o mesófilos (ECA6 y ECA4). En tres hubo crecimiento de aerobios mesófilos (ECA1,

ECA5, ECA7), y en las marcas ECA5 y ECA7 se presentó crecimiento tanto de microorganismos aerobios mesófilos como de enterobacterias. Ninguna de las muestras presentó colonias con brillo metálico típicas de *E. coli*. En el caso de hongos y levaduras, únicamente la marca

ECA5 no mostró crecimiento (figuras 2 y 3); tres marcas exhibieron crecimiento de levaduras y en las otras tres hubo crecimiento de hongos.

El análisis de los datos permitió observar que las marcas ECA2 y ECA4 fueron las que mayor contenido de SPD presentaron, con concentraciones de TTHM de 135.9 µg/l y 122.2

µg/l, respectivamente, y concentraciones de AHA de 66.9 µg/l para la marca ECA2 y 140.4 µg/l para la marca ECA4. Lo anterior puede deberse a la reclusión del agua potable para garantizar la concentración residual entre 0.5 y 1 mg/l exigida por la resolución 12186 de 1991, y a la presencia de materia orgánica natural

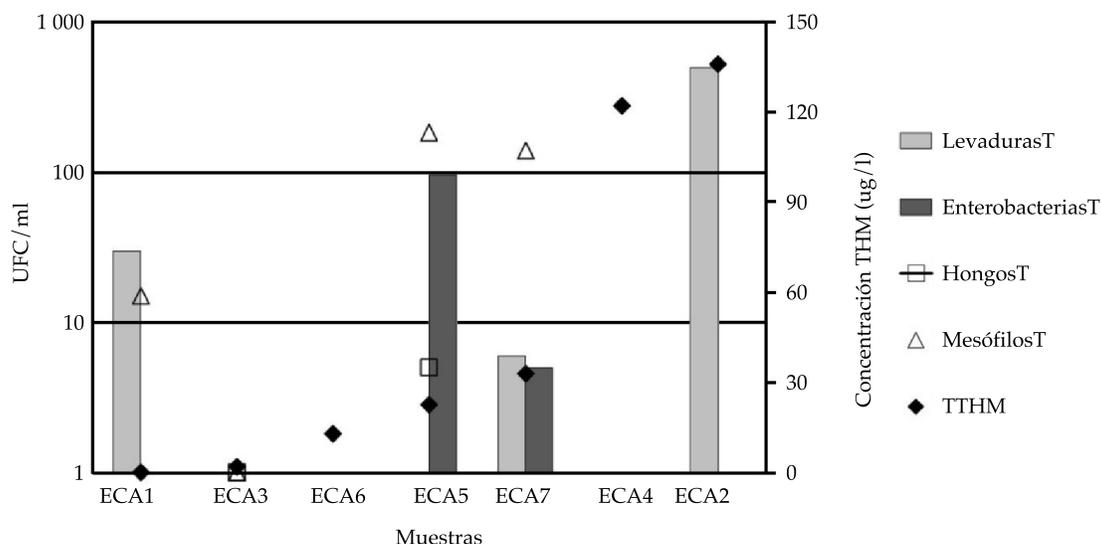


Figura 2. Relación entre el contenido de los THM en el agua embotellada con la presencia de mesófilos, enterobacterias, hongos y levaduras.

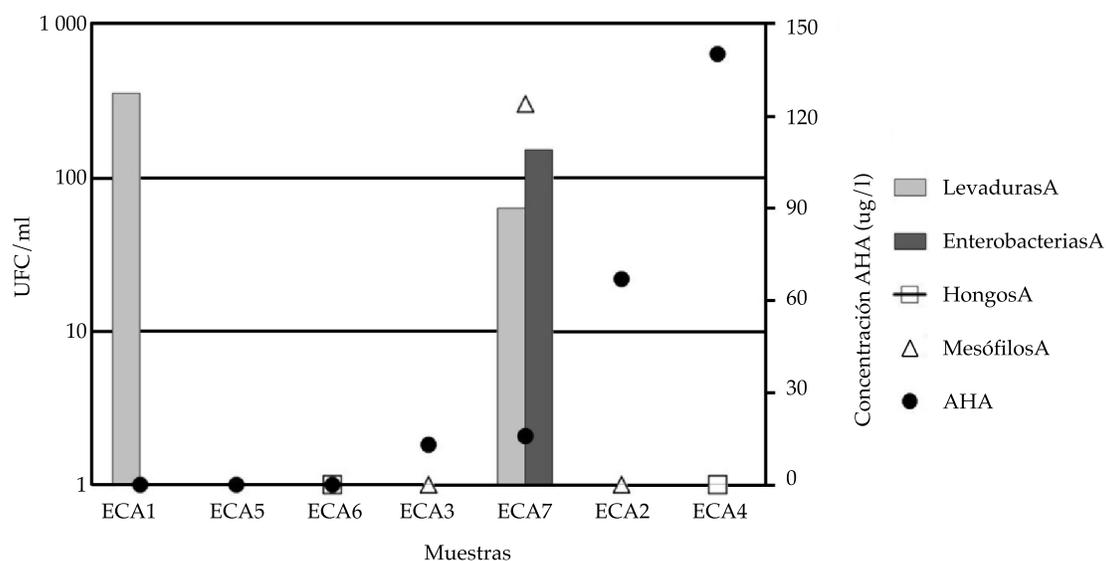


Figura 3. Relación entre el contenido de los AHA en el agua embotellada con la presencia de mesófilos, enterobacterias, hongos y levaduras.

en el proceso. En general, los compuestos que predominaron fueron el cloroformo y el TCAA, similar a lo que sucede en las redes de distribución de agua potable, donde el cloroformo alcanza valores hasta del 95% de TTHM (Gang *et al.*, 2003) y el TCAA entre 49 y 66% del total de AHA regulados (Uyak *et al.*, 2007). El cloroformo estuvo presente en mayores concentraciones que el TCAA en cinco de las siete muestras, posiblemente por su transformación abiótica en el agua, que ha sido estudiada, entre otros, por Xiang *et al.* (2005), o por el efecto del cloro de manera diferencial para los THM y los AHA (Rodríguez *et al.*, 2004).

La figura 1 deja ver que todos los resultados para THM cumplen con la Resolución 2115 de 2007, para la cual el límite máximo permitido es de 200 $\mu\text{g/l}$; sin embargo, dos de las marcas analizadas, ECA2 y ECA4, no cumplen con la norma estadounidense de 80 $\mu\text{g/l}$. Lo mismo ocurre con los AHA, pues aun cuando en la regulación colombiana no se establecen valores máximos permitidos, estas dos muestras no cumplen con la norma estadounidense (60 $\mu\text{g/l}$), la más restrictiva de las consideradas internacionalmente, tal como se observa en el cuadro 3 de estándares aplicados en diferentes países para SPD en agua potable y agua embotellada.

Aunque no es posible hacer una correspondencia entre las concentraciones encontradas de THM y AHA, ya que fueron evaluadas en muestras diferentes, sí se observó que la relación THM/AHA de las marcas ECA2 y ECA7 están dentro del mismo rango (2.04 y 2.14). Asimismo, las concentraciones de THM y AHA para una misma marca (ECA4 y ECA7) se encuentran en similar orden de magnitud, tendencia que estaría asociada posiblemente a que los factores que inciden en la formación de estos subproductos se mantienen dentro de cada uno de los procesos de producción, como materia orgánica y dosis de desinfectante. También debe tenerse en cuenta la estabilidad de los componentes que para el caso de los THM es mayor que para los AHA (Rodríguez *et*

al., 2004), los cuales pueden ser biodegradados por microorganismos encontrados dentro de las redes de agua potable (Pérez, 2010).

A pesar de que estas muestras cumplan con la legislación colombiana, se debe considerar que al ser menor que la norma internacional restrictiva, se puede estar exponiendo a los consumidores a niveles significativos de cloroformo, BDCM, DCAA y TCAA, principalmente, los cuales son considerados como posibles carcinogénicos por los resultados encontrados en animales, mientras que para el TCAA no se tiene evidencia suficiente. Asimismo, elevadas concentraciones de cloroformo, componente principal de los THM, pueden tener un efecto depresor en el sistema nervioso central, al igual que efectos tóxicos en los riñones y el hígado, tal como se observó en perros de raza Beagle expuestos a dosis de 15 mg por kilogramo de peso corporal (OMS, 2004). Además, el cloroformo se activa metabólicamente formando fosgeno, que al reaccionar con macromoléculas inicia la toxicidad (Fang *et al.*, 2008). El BDCM sería capaz de interferir en la acción de la hormona gonadotropina, vital para el desarrollo embrionario. También, los ácidos cloroacéticos (MCAA, DCAA, TCAA) generarían problemas de desarrollo por la producción de radicales libres durante su metabolismo, actuando sobre la membrana lipídica celular (Nieuwenhuijsen *et al.*, 2009).

Las figuras 2 y 3 muestran la concentración de los SPD evaluados y la presencia de los indicadores microbiológicos en las siete marcas de agua embotellada, pudiéndose observar su relación. Se diferenciaron a partir de los resultados cuatro escenarios: alta concentración de SPD, baja presencia de microorganismos (MO); media concentración de SPD, alta presencia de MO; baja concentración de SPD, baja presencia de MO; ausencia de SPD y alta presencia MO. En el primer caso, el bajo crecimiento de bacterias y hongos en las marcas ECA4 y ECA2 es otro indicativo del uso de altas concentraciones de cloro en el proceso de desinfección; sin embargo, sería necesario un

estudio más profundo, que tenga en cuenta este aspecto, para corroborar los resultados. En el segundo grupo, el mayor crecimiento de enterobacterias y de aerobios mesófilos fue producido en la marca ECA7, donde se detectaron tanto en la muestra usada para el análisis de AHA como en la de THM, para las cuales se reportaron concentraciones medias de estos SPD (33.1 y 15.9 $\mu\text{g/l}$). Esto indicaría que posiblemente no existió rechloración del agua tratada y que la materia orgánica natural, así como los SPD provenientes de la red, podrían haber servido de fuente de carbono de estos microorganismos. En esta marca también se observó un alto crecimiento de levaduras, asociado con condiciones propicias de proliferación en agua con bajo contenido de desinfectante y presencia de materia orgánica asimilable. En el tercer escenario, para las muestras de las marcas ECA3 y ECA6, se determinó un crecimiento bajo de microorganismos, 1 UFC/ml y nulo, además de las dos menores concentraciones de THM y de AHA (1.8 y 13 $\mu\text{g/l}$ para ECA3 y 13 $\mu\text{g/l}$, y no detectable para ECA6). Lo anterior sugiere que el proceso de desinfección usa dosis adecuadas, o que se lleva a cabo por vías diferentes a la cloración clásica, que existe un bajo contenido en materia orgánica natural en el agua potable, y/o que es utilizado un sistema de remoción de materia orgánica previo a la desinfección, como el carbón activado, que a su vez reduce la concentración de los SPD provenientes de la red. Para el cuarto grupo, en el cual está la muestra de agua mineral, la ausencia de estos SPD mostraría que la desinfección con cloro no es utilizada o se realiza a dosis muy bajas, por lo que la inexistente acción residual beneficiaría la presencia de microorganismos, como levaduras y mesófilos. El objetivo del control de los procesos de tratamiento y envasado debería garantizar calidades similares a las encontradas para el escenario tres, con bajo contenido de SPD y microorganismos.

Además, las figuras 2 y 3 permitieron identificar relaciones entre el crecimiento de los diferentes microorganismos. En primer lugar es importante tener en cuenta que

entre los organismos mesófilos se encuentran las enterobacterias, lo que coincide con lo observado en las figuras 2 y 3. Para la muestra ECA5, la gran parte de los organismos mesófilos fueron enterobacterias, y para la muestra ECA7 hubo crecimiento de estos microorganismos, pero en menor proporción, resultado similar al mostrado en la figura 3, donde la muestra ECA7 presentó mesófilos correspondientes en su mayoría a enterobacterias.

Al igual que en otros estudios realizados a agua embotellada, no se observó una relación entre la presencia de levaduras con otros indicadores de contaminación (Yamaguchi *et al.*, 2007). Por otra parte, las levaduras pueden ser indicio de algún cambio en las características del medio, lo que podría llevar a la aparición de otros microorganismos y finalmente a la desaparición de las levaduras debido a su menor competitividad. A partir de esto, una segunda relación se pudo considerar cuando se observó el comportamiento de las levaduras en la figura 2. En las muestras de agua embotellada analizadas se identificaron diferencias en la presencia de levaduras que podrían estar asociadas, además de la concentración de desinfectante, con la fase de la proliferación de microorganismos en la que se realizó el recuento. Es así como la primera fase se habría observado en la muestra ECA2, para la cual hubo una gran cantidad de levaduras y nulo de mesófilos, indicando un posible cambio en las características del agua, pero no el requerido para el crecimiento de estos microorganismos. La muestra ECA1 indicaría el siguiente estado, en el cual las levaduras fueron menores y apareció el crecimiento de mesófilos. Un estado más avanzado se habría identificado en la muestra ECA7, que presentó un crecimiento de levaduras, aunque en menor magnitud, y un mayor recuento de mesófilos, junto con la aparición de enterobacterias. Finalmente, en la muestra ECA5 no se evidenció crecimiento de levaduras, pero sí de mesófilos, en específico de enterobacterias, siendo el de mayor concentración entre todas las muestras, lo que podría ser una evidencia de

la ausencia de levaduras por competitividad. En la figura 3 también se pudo distinguir esta tendencia en las muestras ECA1 y ECA7. Además, en otros estudios se ha observado una incidencia del tiempo de almacenamiento con la liberación de ftalatos, aditivos del PET, que servirían de sustrato para las esporas de hongos, como *Penicillium citrinum* y *Alternaria alternata* (Criado et al., 2005); es así como el tiempo entre el embotellamiento y el consumo puede modificar la diversidad bacteriana. Un indicador de los primeros estadios podría ser útil para determinar si existen condiciones que llevarían a la proliferación en el tiempo de almacenamiento de otros microorganismos regulados, como los coliformes, que hacen parte de las enterobacterias; se requiere una mayor cantidad de información de la relación de los indicadores microbiológicos.

Al comparar los resultados obtenidos con la norma colombiana para agua potable de 100 UFC/100 ml para microorganismos mesofílicos, se determinó que las marcas ECA2, ECA3, ECA4 y ECA6 cumplieron en su totalidad con los límites máximos. Por su parte, la marca ECA1 sobrepasa el valor máximo para aerobios mesófilos en una de las muestras. La marca ECA5 estuvo dentro de la reglamentación en la muestra usada para AHA, pero presentó crecimiento por encima del valor máximo para aerobios mesófilos en la muestra usada para THM; la marca ECA7 no cumplió con los valores máximos permitidos para ninguna muestra. Las marcas ECA5 y ECA7 podrían estar incumpliendo también el límite de coliformes totales de 0 UFC/100 ml de acuerdo con el recuento de enterobacterias en el medio EMB. Por otra parte, las marcas ECA1, ECA2, ECA5 y ECA7 no presentaron crecimiento de hongos, mientras que el recuento para las muestras ECA3, ECA4 y ECA6 fue de 1 UFC/ml.

Los datos observados sugerirían que la calidad microbiológica puede variar entre muestras provenientes del mismo proceso (marcas ECA2, ECA3, ECA5), pero de lotes diferentes; por ello es importante aplicar la resolución 12186, que indica que se deben

analizar cinco muestras por lote (tres para calidad microbiológica, dos fisicoquímica y una contra muestra). El cumplimiento de la norma para mesófilos en las muestras ECA3, ECA4 y ECA6 no indicaría seguridad microbiológica, ya que la presencia de algunos hongos no regulados como *A. alternata* y *P. citrinum*, que han sido aislados de agua embotellada, pueden generar micotoxinas (Criado et al., 2005). Existieron diferencias importantes entre la calidad microbiológica de las marcas reconocidas y aquella que de manera reciente ingresa al mercado, ya que esta última fue positiva para tres de los cuatro indicadores, por lo que el control en la entrada de nuevos productos debería ser más restrictivo.

Debido a que este estudio tuvo resultados importantes, concernientes a la calidad del agua embotellada y, por lo tanto, a su posible efecto sobre la salud humana, es fundamental continuar con esta investigación, realizando estudios más profundos y detallados que incluyan un mayor número de muestras, análisis del contenido de cloro y análisis microbiológicos más específicos. Otro factor fundamental a tener en cuenta es la legislación; es necesario evaluar el cumplimiento de la norma en la mayoría de industrias comercializadoras de agua embotellada, para así poder justificar y aplicar una norma más restrictiva en cuanto a SPD, pues, como se puede observar, Colombia tiene una de las normas más laxas en este tema.

Conclusiones

Los resultados obtenidos permitieron dar cuenta de las altas concentraciones de THM y de AHA en dos de las más importantes marcas de agua embotellada, lo que constituye un riesgo potencial para la salud de los consumidores, aunado a una norma que no restringe la presencia de SPD en Colombia. Este estudio determinó que estas mismas aguas presentan un bajo crecimiento de microorganismos, que podría estar relacionado con el uso de altas concentraciones de cloro como mecanismo de desinfección. Todas las

demás muestras presentaron concentraciones por debajo del límite exigido por la norma estadounidense para TTHM y AHA. En cuanto a calidad microbiológica, dos de las marcas con concentración media de SPD presentaron crecimiento de enterobacterias, además de un alto recuento de aerobios mesófilos, lo que podría sugerir el uso de bajas concentraciones de cloro, con las cuales no es posible realizar la desinfección de forma adecuada. En las otras marcas se encontraron tanto concentraciones bajas de SPD como débil crecimiento de microorganismos, lo que puede deberse al uso de mecanismos alternativos de desinfección y/o remoción de materia orgánica natural. De acuerdo con la normatividad de agua potable, tres marcas incumplieron con el estándar de mesófilos. Por último, se evidenció que la presencia de levaduras puede actuar como un indicador de la posible generación de microorganismos mesófilos, enterobacterias y probablemente coliformes totales.

Agradecimientos

Este proyecto fue financiado por el Departamento de Ingeniería Civil y Ambiental y el Centro de Investigaciones de Ingeniería Ambiental de la Universidad de los Andes. Los autores agradecen especialmente al equipo de profesionales de los Laboratorios de Ingeniería Ambiental de la Universidad de los Andes.

Recibido: 16/01/2013

Aceptado: 31/05/2013

Referencias

- AL-MUDHAF, H. and ALSHARIFI F ABU-SHADY, A. A survey of organic contaminants in household and bottled drinking waters in Kuwait. *Sci. Total Environ.* Vol. 407, 2009, pp. 1658-1668.
- ANCASI, E., CARRILLO, L. y BENÍTEZ, M. Mohos y levaduras en agua embotellada y bebidas sin alcohol. *Rev. Argent. Microbiol.* Vol. 38, 2006, pp. 93-96.
- ASTM. *Standard Practice for the Solid Phase Microextraction (SPME) of Water and its Headspace for the Analysis of Volatile and Semi-Volatile Organic Compounds.* D 6520-06. Pennsylvania, USA: American Society for Testing and Materials International, 2006, 6 pp.
- CABRAL, D. and FERNÁNDEZ-PINTO, V.E. Fungal spoilage of bottled mineral water. *Int. J. Food Microbiol.* Vol. 72, 2002, pp. 73-76.
- CRIADO, M.V., FERNÁNDEZ-PINTO, V.E., BADESSARI, A., and CABRAL, D. Conditions that regulate the growth of moulds inoculated into bottled mineral water. *Int. J. Food Microbiol.* Vol. 99, 2005, pp. 343-349.
- DUARTE, C. *Formación química de ácidos haloacéticos (AHAs) a partir de la reacción de las fracciones hidrófila e hidrófoba de la materia orgánica natural (MON) del agua cruda.* Tesis de Maestría en Ingeniería Civil. Bogotá: Universidad de los Andes, 2011, 52 pp.
- FANG, C., BEHR, M., XIE, F., LU, S., DORET, M., LUO, H., YANG, W., ALDOUS, K., DING, X., and GU, J. Mechanism of chloroform-induced renal toxicity: Non-involvement of hepatic cytochrome P450-dependent metabolism. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* Vol. 227, 2008, pp. 48-55.
- FDA. *Bacteriological Analytical Manual Online. Chapter 4: Escherichia coli and the Coliform Bacteria.* Feng, P., Weagant, S.D., Michael, A., Grant, M.A., and Burkhardt, W (editors). Online: 2002 [citado el 24 de mayo de 2013]. Disponible para *World Wide Web*: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm064948.htm>.
- GANG, D., CLEVENGER, T.E., and BANERJI, S.K. Relationship of chlorine decay and THMs formation to MON size. *J. Hazard Mater.* Vol. A96, 2003, pp. 1-12.
- GARRIDO, S.E. Consideraciones sobre los subproductos de la desinfección. En: *Agua potable para comunidades rurales, reuso y tratamientos avanzados de aguas residuales domésticas.* Delgado, C.D., Fall, C., Quentin, E., Jiménez, M.C., Esteller, M.V., Garrido, S.E., López, C.M. y García, D. (editores). México, D.F.: Red Iberoamericana de Potabilización y Depuración del Agua, CYTED Press, 2003, pp. 172-174.
- GLEICK, P.H. Per capita bottled water consumption by country 1999 to 2004. In: *The World's Water 2006-2007.* Cooley, H., Katz, D, Lee E., Morrison, J., and Palaniappan, M. (editors). Washington, D.C.: Island Press, 2006, pp. 284-286.
- GRAFF, J., NEIDELL, M., and SCHLENKER, W. Water quality violations and avoidance behavior: evidence from bottled water consumption. *Americ Economic Rev.: Papers Proceed.* Vol. 101, 2011, pp. 448-453.
- HILDESHEIM, M.E., CANTOR, K.P., LYNCH, C.F., DOSEMECI, M., LUBIN, J., ALAVANJA, M., and CRAUN, G.F. Drinking water source and chlorination byproducts: risk of colon and rectal cancers. *Epidemiology.* Vol. 9, 1998, pp 29-35.
- HURTADO, S. *Caracterización de la diversidad de los hongos presentes en las biopelículas de las redes de distribución de agua potable en la ciudad de Bogotá.* Tesis de Grado en Ingeniería Ambiental. Bogotá: Universidad de los Andes, 2011, 125 pp.

- ICMSF. *Microorganisms in Foods. I. Their Significance and Methods of Enumeration*. Second edition. Toronto, Canada: University of Toronto Press, 1978, 452 pp.
- IKEM, A. Measurement of volatile organic compounds in bottled and tap waters by purge and trap GC-MS: Are drinking water types different? *J. Food Composition Anal.* Vol. 23, 2010, pp. 70-77.
- INVIMA. *Resolución 12186 de 1991. Por la cual se fijan las condiciones para los procesos de obtención, envasado y comercialización de agua potable tratada con destino al consumo humano*. Bogotá, D.C.: Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos, 1991, 7 pp.
- KOIVUSALO, M., HAKULINEN, T., VARTAINEN, T., PUKKALA, E., JAAKKOLA, J.J.K., and TUOMIST, J. Drinking water mutagenicity and urinary tract cancers: a population-based case-control study in Finland. *Amer. J. Epidemiol.* Vol. 148, 1998, pp. 704-712.
- LEIVADARA, S., NIKOLAOU, A., and LEKKAS, T. Determination of organic compounds in bottled waters. *Food Chem.* Vol. 108, 2008, pp. 277-286.
- LIU, Y. and MOU, S. Determination of bromate and chlorinated haloacetic acids in bottled drinking water with chromatographic methods. *Chemosphere.* Vol. 55, 2004, pp. 1253-1258.
- MAVDT. *Resolución 2115 de 2007. Por medio de la cual se señalan las características, instrumentos básicos y frecuencias del sistema de control y vigilancia para la calidad del agua para consumo humano*. Bogotá D.C.: Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial, 2007, 32 pp.
- NGWAI, Y.B., SOUNYO, A.A., FIABEMA, S.M., AGADAH, G.A., and IBEAKUZIE, T.O. Bacteriological safety of plastic-bagged sachet drinking water sold in Amassoma, Nigeria. *Asian Pacific J. Tropic Med.* Vol. 3, 2010, pp. 555-559.
- NIEUWENHUIJSEN, M.J., GRELLIER, J., SMITH, R., ISZATT, N., BENNETT, J., BEST, N., and TOLEDANO, M. The epidemiology and possible mechanisms of disinfection by-products in drinking water. *Philos. Trans. R. Soc. A.* Vol. 367, 2009, pp. 4043-4076.
- OLSON, E. (editor). *Bottled water: Pure drink or pure hype?* Report In: Natural Resources Defense Council. (Online): 1999 [citado el 10 de septiembre de 2011]. Disponible para *World Wide Web*: <http://www.nrdc.org/water/drinking/bw/chap4.asp#table6>.
- OMS. Organización Mundial de la Salud (editor), 2008. *Guidelines for Drinking-Water Quality*. WHO Press. (Online) [citado el 10 de septiembre de 2011]. Disponible para *World Wide Web*: http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/fulltext.pdf, pp. 179-180.
- OMS. *Codex Alimentarius. Waters*. Rome: FAO/WHO, 2007, pp 16.
- OMS. *Trihalomethanes in drinking-water: background document for development of WHO guidelines for drinking-water quality HO/SDE/WSH/03.04/64*. Ginebra, Suiza: Organización Mundial de la Salud, 2004, 49 pp.
- OMS. *Codex Alimentarius. Código de prácticas de higiene para las aguas potables embotelladas distintas de las aguas minerales naturales ALINORM 01/20*. Ginebra. Suiza.: Organización Mundial de la Salud, 2001, 31 pp.
- ORANUSI, S.U., UMOH, V.J., and KWAGA, J.K.P. Hazards and critical control points of kunun-zaki, a non-alcoholic beverage in Northern Nigeria. *Food Microbiol.* Vol. 20, 2003, pp. 127-132.
- PÉREZ, A. *Degradación de ácidos haloacéticos (AHA) clorados por medio de microorganismos presentes en biopelículas de redes de distribución de agua potable*. Tesis de Maestría en Ingeniería Civil. Bogotá: Universidad de los Andes, 2010, 38 pp.
- RAMALHO, R., AFONSO, A., CUNHA, J., TEIXEIRA, P., and GIBBS, P.A. Survival characteristics of pathogens inoculated into bottled mineral water. *Food Control.* Vol. 12, 2001, pp. 311-316.
- RICHARDSON, S.D., PLEWA, M.J., WAGNER, E.D., SCHOENY, R., and DEMARINI, D.M. Occurrence, genotoxicity, and carcinogenicity of regulated and emerging disinfection by-products in drinking water: A review and roadmap for research. *Mutat. Res.* Vol. 636, 2007, pp. 178-242.
- RODRIGUEZ, M.J., SÉRODES, J.B., and LEVALLOIS, P. Behavior of trihalomethanes and haloacetic acids in a drinking water distribution system. *Water Res.* Vol. 38, 2004, pp. 4367-4382.
- SALEH, M., EWANE, E., JONES, J., and WILSON, B. Chemical evaluation of commercial bottled drinking water from Egypt. *J. Food Composition Anal.* Vol. 14, 2001, pp. 127-152.
- USEPA. *Treatment Techniques for Controlling Trihalomethanes in Drinking Water, EPA/600/2-81/156*. Washington, D.C.: US Environmental Protection Agency, 1981, 302 pp.
- USEPA. *Method 551.1. Determination of chlorination disinfection by-products, chlorinated solvents, and halogenated pesticides/herbicides in drinking water by liquid-liquid extraction and gas chromatograph with electron-capture detection*, Cincinnati, USA: US Environmental Protection Agency, Office of Research and Development, 1995, 61 pp.
- USEPA. *National Primary Drinking Water Regulations: Stage 2 Disinfectants and Disinfection Byproducts Rule, EPA 815Z03005*. Washington, D.C.: US Environmental Protection Agency, 2003, 135 pp.
- UYAK, V., OZDEMIR, K., and TOROZ, I. Multiple linear regression modeling of disinfection by-products formation in Istanbul drinking water reservoirs. *Sci. Total Environ.* Vol. 378, 2007, pp. 269-280.
- VARGA, L. Bacteriological quality of bottled natural mineral waters commercialized in Hungary. *Food Control.* Vol. 22, 2011, pp. 591-595.
- VIDAL, J., CONSUEGRA, A., GOMESCASERES, L. y MARRUGO, J. Evaluación de la calidad microbiológica del agua embotellada en bolsas producida en Sincelejo-Colombia. *Rev. MVZ Córdoba.* Vol. 14, 2009, pp. 1736-1744.

VILLANUEVA, C.M., CANTOR, K.P., CORDIER, S., JAAKKOLA, J.J.K., KING, W.D., LYNCH, C.F., PORRU, S., and KOGEVINAS, M. Disinfection byproducts and bladder cancer. A Pooled Analysis. *Epidemiology*. Vol. 15, 2004, pp. 357-367.

XIANG, W., XIANG, J., ZHANG, J., WU, F., and TANG, J. Geochemical transformation of trichloroacetic acid to chloroform in freshwaters – The results based upon laboratory experiments. *Water Air Soil Pol.* Vol. 168, 2005, pp. 289-312.

YAMAGUCHI, M.U., PONTELLO-RAMPAZZO, R., YAMADA-OGATTA, S.F., NAKAMURA, C.V., UEDA-NAKAMURA, T., and PRADO DIAS-FILHO, B. Yeasts and filamentous fungi in bottled mineral water and tap water from municipal supplies. *Braz Archív. Biol. Tech.* Vol. 50, 2007, pp. 1-9.

Dirección institucional de los autores

Ing. Elisa C. Arévalo Pérez
M.C. Aida J. Martínez León
M.C. Mildred F. Lemus Pérez
Dr. Manuel S. Rodríguez Susa

Universidad de los Andes, Colombia
Carrera Primera # 18A-12,
Bogotá, D.C., COLOMBIA
Teléfono: +57 (1) 3394 949
ec.arevalo114@uniandes.edu.co
ai-marti@uniandes.edu.co
mf.lemus39@uniandes.edu.co
manuel-r@uniandes.edu.co