

Caracterización bacteriológica del agua embotellada comercializada en la zona centro-oriental de Honduras

Rafael Antonio Quijada Landaverde

**Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano
Honduras**

Noviembre, 2015

ZAMORANO
CARRERA DE INGENIERIA EN AMBIENTE Y DESARROLLO

Caracterización bacteriológica del agua embotellada comercializada en la zona centro-oriental de Honduras

Proyecto especial de graduación presentado como requisito parcial para optar al título de Ingeniero en Ambiente y Desarrollo en el Grado Académico de Licenciatura

Presentado por

Rafael Antonio Quijada Landaverde

Zamorano, Honduras

Noviembre, 2015

Caracterización bacteriológica del agua embotellada comercializada en zona centro-oriental de Honduras

Presentado por:

Rafael Antonio Quijada Landaverde

Aprobado:

Erika Tenorio, M.Sc.
Asesora Principal

Laura Suazo, Ph.D.
Directora
Departamento de Ingeniería en
Ambiente y Desarrollo

Victoria Cortes, M.Sc.
Asesora

Raúl Zelaya, Ph.D.
Decano Académico

Estela Aguilar, M.Sc.
Asesora

Caracterización del agua embotellada comercializada en la zona centro-oriental de Honduras.

Rafael Antonio Quijada Landaverde

Resumen. En Honduras, el consumo de agua embotellada aumenta por la falta de confianza en el agua de los sistemas comunitarios y la percepción del público de que el agua embotellada garantiza la calidad. El objetivo del estudio fue evaluar la calidad bacteriológica de agua embotellada comercializada en la zona centro-oriental de Honduras. Incluyó el 19% de las plantas registradas en la zona. Se analizó agua cruda, agua después de su purificación y luego de ser embotellada el día 1, 7 y 31 en diferentes botellones del mismo lote de producción. Se analizaron por el método Quanty-Tray® y se reportaron como Número Más Probable/100 mL. En el 92% de las muestras de las diversas fuentes de abastecimiento se detectó presencia de coliformes totales y en un 25% de *E. coli*. En el agua purificada sin embotellar, en ninguna de las muestras se detectó *E. coli*. En el 72% de los botellones se encontraron coliformes totales y en un 8% de ellos *E. coli*. Los valores son similares a los obtenidos por otros estudios dentro y fuera de la región y sobrepasan los valores permitidos para el agua de consumo humano de sistemas públicos. Se recomienda diseñar e implementar normativas específicas para la industria embotelladora de agua, que incluyan mayor control en el lavado de los botellones y monitoreo del agua en el proceso de distribución. Se deben realizar estudios que evalúen otras presentaciones de agua purificada, y los impactos económicos y ambientales del consumo y comercialización de agua embotellada.

Palabras clave: Botella reutilizable, coliformes totales, purificada, Quanty-Tray®.

Abstract. In Honduras, the consumption of bottled water is fueled by the lack of trust in the community water systems and by the public's perception that bottled water quality guarantees purity. The aim of the study was to evaluate the bacteriological quality of bottled water sold in the central-eastern area of Honduras. It included 19% of the bottling plants registered in the area. Untreated water, water after purification and after being bottled was analyzed on days 1, 7 and 31 in different bottles of the same production batch. They were analyzed by the Quanty-Tray® method and reported as most probable number/100 ml. In 92% of the samples of the various supply sources presence of total coliform was detected and 25% *E. coli*. In purified water bottle in any samples *E. coli* was detected. In 72% of bottles total coliforms were found and *E. coli* in 8 %. The values are similar to those obtained by other studies within and outside the region and beyond those permitted for public drinking water systems. The purified water is re-contaminated by contact with reusable bottles without proper management and lose the quality obtained after purification. We recommended implementing specific regulations for the water bottling industry including greater control in washing the bottles and water monitoring in the distribution process. Studies should be conducted to evaluate other presentations of purified water, as well as economic and environmental impacts of the consuming of bottled water.

Key words: Bottle water, Quanty -Tray®, reusable bottle, total coliforms.

CONTENIDO

Portadilla	i
Página de firmas	ii
Resumen	iii
Contenido	iv
Índice de cuadros, figuras y anexos.....	v
1. INTRODUCCIÓN	1
2. MATERIALES Y MÉTODOS	4
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	6
4. CONCLUSIONES	13
5. RECOMENDACIONES	14
6. LITERATURA CITADA.....	15
7. ANEXOS	19

ÍNDICE DE CUADROS, FIGURAS Y ANEXOS

Cuadros	Página
1. Promedios de contaminación bacteriológica por coliformes totales en diferentes tipos de agua.....	6
2. Promedios de contaminación bacteriológica por coliformes totales en botellones reusables de 20L (n=12).....	6
3. Tratamientos de purificación de agua y lavado de botellones utilizados por las plantas embotelladoras de la zona centro oriental de Honduras.....	9
Figuras	
1. Porcentaje de muestras positivas a coliformes totales en agua sin tratamiento y de diferentes fuentes de abastecimiento en plantas embotelladoras de agua de la zona centro oriental de Honduras, 2015.....	7
2. Porcentaje de muestras positivas a <i>E. coli</i> en agua cruda y de diferentes fuentes de abastecimiento en las plantas embotelladoras de la zona centro oriental de Honduras.....	8
3. Porcentaje de muestras positivas a coliformes totales en aguas con tratamiento de purificación en las plantas embotelladoras de la zona centro oriental de Honduras, 2015.....	10
4. Porcentaje de muestras positivas a coliformes totales en botellones reutilizables de 20L en las plantas embotelladoras de la zona centro oriental de Honduras, 2015.....	10
5. Porcentaje de muestras positivas a <i>E. coli</i> de botellones reutilizables de 20 L. en las plantas de embotellamiento de la zona centro oriental de Honduras	11

Anexos	Página
1. Modelo de encuesta aplicada a plantas embotelladoras de agua.	19
2. Bandeja Quanta-Tray 200 y medio de cultivo Colilert.	20
3. Bandejas con celdas positivas para coliformes totales.	20
4. Bandejas con celda positivas para <i>E. coli</i>	21
5. Personal de planta embotelladora sin Equipo de Protección Personal (EPP).	21
6. Reporte de bacterias por el método del Numero Más Probable (NMP).	22
7. Tabla del método del Numero Más Probable (NMP).	25
8. Almacenado de botellones reutilizables en plantas embotelladoras.	27
9. Transporte inadecuado de botellones reutilizables.	27

1. INTRODUCCIÓN

En la actualidad el acceso a fuentes de agua segura es una preocupación mundial por el crecimiento poblacional y los altos índices de contaminación. En el mundo existen alrededor de 783 millones de personas, es decir, un 11% de la población, que aún vive sin acceso a agua potable y saneamiento (OMS 2012). Muchos países están afrontando una distribución desigual en espacio y tiempo ocasionada por la fuerte contaminación y el agotamiento de fuentes superficiales y subterráneas (Gössling *et al.* 2012). Se prevé que para el año 2,100, más 3.2 millones de personas enfrentarán problemas de acceso a agua bajo un escenario de aumento de 4°C debido al cambio climático (Parry *et al.* 2009).

El garantizar la calidad e inocuidad en el agua de consumo humano es un reto especialmente para países en desarrollo donde más del 80% de las enfermedades están relacionadas con la mala calidad del agua y saneamiento (Water4 2015). En 2010, cuatro millones de personas murieron por el consumo de agua contaminada (Clasen *et al.* 2014). Hasta el año 2012, África y Asia sudoriental se ubicaban como las dos regiones con mayor exposición a agua con contaminación fecal y con el menor índice de mejora en el acceso al agua y saneamiento. América Latina se ubica en quinto lugar a nivel mundial en las mismas problemáticas (Pruss-Ustun *et al.* 2014).

El acceso a una fuente de agua inocua garantiza una mejoría en la calidad de vida de los consumidores principalmente en países en desarrollo (OMS 2006). Los aspectos como mortalidad infantil, índice de educación y niveles de ingresos económicos se ven afectados por el acceso al agua (ECODES 2006). Son muchos los esfuerzos en el tema de recursos hídricos a nivel mundial. Una de las prioridades de la Organización de las Naciones Unidas (ONU), en sus Objetivos de Desarrollo del Milenio es garantizar el acceso al agua limpia y saneamiento de todos los pobladores de Honduras (ONU 2015).

El agua potable, se define como aquella cuyo consumo no causa ningún daño, considerando las vulnerabilidades de los seres humanos en cada etapa de la vida (OMS 2006). En Honduras, al igual que en la mayoría de países en desarrollo, los sistemas de distribución de agua potable son deficitarios y se basan en estructuras que no pueden abastecer con agua en óptima calidad y cantidad a la población. Esto, combinado con un deterioro frecuente del agua por fallas en los sistemas de distribución y tratamientos utilizados para la purificación del agua (Trevett *et al.* 2005), contribuyen al incremento de la población sin acceso al agua potable. Ante esta necesidad, el consumo de agua embotellada se ve en aumento (CONASA 2014).

La situación actual en torno a este tema resulta en una oportunidad de beneficio empresarial con mercados ilimitados y que se ha convertido en un negocio para corporaciones de diferente escala. El aprovechamiento económico del agua se evidencia con claridad en la industria del agua embotellada (Velázquez *et al.* 2011). Esta industria está definida como la más dinámica del rubro alimentario con un aumento anual del 7% en ventas, a pesar de comercializarse con precio mucho mayor que el del agua de grifo (Ferrier 2001). Según encuestas realizadas por la OMS-OPS en Honduras en 2011, el 59% de los hogares urbanos y el 16% rurales están tomando agua embotellada y muchas veces sin calidad y con dudoso origen (INE 2012).

Uno de los principales problemas de la industria embotelladora de agua en muchos países de América Latina es la falta de regulaciones específicas. Las normas internacionales para calidad de agua potable desarrolladas por la Comisión del *Codex Alimentarius*, un organismo integrado por la FAO y la OMS son el fundamento regulatorio para la producción de agua embotellada. Estas normas, sin embargo, no cubren todas las etapas del proceso de producción y comercialización, y son de carácter voluntario (OMS 2006). La importancia de la supervisión de estos procesos, radica en que con frecuencia se observa que la calidad bacteriológica del agua es menor en los puntos de consumo, en comparación a la fuente o finalización del sistema de purificación, lo que sugiere que la contaminación es generada en alguna de las etapas del proceso productivo (Wright *et al.* 2004).

En Estados Unidos se establece a partir de 1974 la Ley de agua segura para el consumo, la cual exige a la Agencia de Protección Ambiental la determinación de los niveles de contaminantes que no ocasionan daños a la salud de los seres humanos; incluyendo contaminantes físicos, químicos y biológicos (EPA s.f). En Honduras, la Norma Técnica para la calidad del Agua Potable es utilizada para la regulación de la producción de agua embotellada, y establece como indicadores bacteriológicos de calidad de agua los valores permisible de 0 UFC/100 ml para coliformes totales y fecales (SSH 1995). Los lineamientos de agua para consumo establecen que la presencia de contaminantes fecales, especialmente *Escherichia coli*, no deberían ser detectados en ninguna muestra de 100 mL de agua debido a que su presencia se relaciona en la mayoría de los casos a patógenos de origen fecal causantes de muchas enfermedades infecciosas en países en desarrollo (Bain *et al.* 2014).

En Honduras no existen estudios que demuestren la calidad bacteriológica del agua embotellada que se comercializa, los factores que degradan la calidad final del producto y las implicaciones del consumo. La importancia del estudio radica en un incremento del consumo de agua embotellada por la desconfianza en sistemas públicos de abastecimiento de agua y cambios en los patrones de consumo basados en la percepción de limpieza y calidad del agua embotellada (Kassenga 2007 y Ahmed *et al.* 2011).

El objetivo principal de la investigación fue evaluar la calidad bacteriológica del agua embotellada comercializada por ocho plantas en la zona centro-oriental de Honduras y los factores que pueden deteriorarla, para establecer recomendaciones a las embotelladoras de agua para verificar los puntos en sus sistemas que podrían representar focos de contaminación y reducir así el riesgo de enfermedades infecciosas transmitidas por el agua. Los objetivos específicos del estudio fueron i) verificar la eficiencia de los procesos de tratamiento utilizados por las plantas embotelladoras seleccionadas en la remoción de

coliformes totales y *E. coli*, ii) cuantificar la carga bacteriana en diferentes etapas del proceso de embotellamiento y comercialización de agua en las plantas estudiadas, iii) determinar la relación entre contaminación bacteriológica y tiempo de almacenamiento del producto, y iv) establecer las diferencias en calidad de agua entre diferentes plantas e indagó sobre los factores que determinan la calidad final del producto.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Para la realización del estudio se analizaron plantas embotelladoras ubicadas en las ciudades de Danlí y Tegucigalpa. Danlí se encuentra ubicada a 92 Km de la ciudad de Tegucigalpa, tiene una población de aproximadamente 170,420 habitantes y 12 plantas embotelladoras de agua. Tegucigalpa tiene una población de 1,300,000 habitantes y un total de 32 plantas embotelladoras de agua registradas. El estudio incluyó ocho plantas (19%) del total de las plantas embotelladoras registradas en la Secretaría Nacional de Salud Pública. El estudio se desarrolló de junio a septiembre de 2015. El estudio se basa en la metodología desarrollada por y aplicada por Water Ecuador (Mills 2015).

El agua embotellada de ocho marcas de la zona centro-oriental de Honduras fue analizada en tres ocasiones diferentes, con un intervalo de tiempo de una semana entre los muestreos, obteniendo un total de 120 muestras para el análisis. En cada visita se recolectaron por cada planta:

- Una muestra de la fuente de abastecimiento antes de la purificación (agua cruda).
- Una muestra de agua tratada previo al embotellado (agua tratada).
- Tres muestras en envases de 20 L reusables ya envasadas; que fueron analizadas en el día 0, 7 y 31 posterior a su envasado.

Las empresas fueron codificadas con letras correlativas del alfabeto (A, B, C, D, E, F, G y H). Las plantas de la A-D están ubicadas en Danlí y el resto en Tegucigalpa. Durante el muestreo se registró información de identificación y diferenciación de cada muestra y se recolectó información de la planta embotelladora, para esto se realizó una entrevista sobre el manejo del sistema de purificación y parámetros de calidad de agua embotellada.

Las muestras de agua cruda y tratada antes del embotellado fueron recolectadas en bolsas estériles Whirl-pack®. Los botellones adquiridos en cada planta fueron rotulados para su posterior inspección visual y análisis en el Laboratorio de agua de Zamorano. Los botellones se almacenaron sin ninguna alteración, contra una pared y sin exposición a la luz solar. Un termómetro midió la temperatura permanentemente en el almacenamiento y se registraron tres temperaturas diarias (mañana, media tarde y noche) y la hora de medición. Las muestras se analizaron en el orden en que fueron etiquetadas. Antes de hacer cualquier acción con las muestras se preparó la incubadora, para que ésta estabilizara la temperatura de incubación a $35^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$.

Al obtener las muestras en botellones reutilizables, se retiró por completo la tapa evitando contaminar la muestra. Se realizó una inspección a la muestra para identificar la presencia

de materia suspendida, partes de la tapa u otro tipo de partícula que pudiera representar contaminación. Las muestras de la fuente de abastecimiento y pre embotellamiento se prepararon en la bolsa Whirl-pack® de recolección y para las muestras en botellones se transfirieron 100 mL del envase con la muestra a una nueva bolsa estéril Whirl-pack®. Se utilizaron técnicas asépticas de laboratorio durante todo el proceso y se descartó el resto de la muestra.

Los análisis de coliformes totales y *E. coli* se realizaron mediante el método Colilert®. Con todas las muestras colocadas en bolsas Whirl-Pack®, y se agregó un paquete de medio de cultivo Colilert® a cada una de las muestras, manteniendo el cuidado de no derramar ninguno de los elementos. Se mezcló hasta que el medio de cultivo estuvo completamente disuelto. Una vez homogenizada la muestra y el medio de cultivo, se colocó la mezcla en una bandeja Quanti-Tray 2000®, se selló la bandeja con un sellador especial; se procuró llenar todo los compartimientos de cada bandeja, se marcó en la parte blanca de la bandeja con información de identificación. Las bandejas se incubaron a $35^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ durante 24 horas. Se utilizaron dos controles: Uno negativo de una marca de agua comercial de alta reputación, Uno positivo, inoculado de agua de conocida contaminación fecal. Fue la última muestra en analizarse.

Completado el ciclo de incubación de las muestras, se realizó la cuantificación de las celdas largas y cortas que presentaron parcial o completamente una coloración. La coloración amarilla indicó presencia de coliformes totales y la coloración azul fluorescente indicó positivo a *E. coli*. Para la cuantificación de *E.coli* se utilizó una fuente de luz UV y un espacio con poca luz. La cuantificación de celdas se reportó como Número Más Probable (NMP) de Unidades Formadoras de Colonia (UFC), con base en la tabla de conteo del fabricante. El límite máximo de detección del método es 200.5 NMP coliformes totales y *E. coli* (IDEXX Laboratories 2013).

Análisis estadístico. Se utilizó estadística descriptiva y porcentajes de las muestras contaminadas para cada tipo de agua, y los factores que degradan la calidad final del producto. Además, se realizó un primer modelo exacto de Fisher y se determinó la diferencia en el nivel de contaminación entre las plantas estudiadas y un segundo modelo que utilizó la planta H, como testigo con un nivel de significancia de 99%. Se realizó un análisis de varianza (ANDEVA) con un nivel de significancia de 95% para determinar cuál de las variables analizadas tiene mayor influencia en el nivel de contaminación del agua embotellada. Para los análisis se utilizó el programa Base SAS® 9.3 TS1M2. SAS Institute Inc., Cary, NC.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las fuentes de abastecimiento utilizados por las plantas de embotellado provienen del sistema de agua público y de pozos privados. El 63% (n=8) de las plantas obtienen su agua de pozos privados y el resto se abastece del sistema de agua público. Las variaciones principales encontradas en el agua tratada se encontraron por planta y están relacionadas con el número de tratamientos, los volúmenes de producción y algunos otros factores. Los niveles de contaminación en los diferentes tipos de agua en las plantas estudiadas fueron altamente variables (Cuadro 1). Además, la calidad bacteriológica del agua envasada varía considerablemente dependiendo de la planta embotelladora (Cuadro 2).

Cuadro 1. Promedios de contaminación bacteriológica por coliformes totales en diferentes tipos de agua.

Tipo de agua	n	Media	Desviación estándar
Cruda	24	86.6	76.6
Tratada	24	1.6	5.4
Envasada en botellones	72	79.6	92.8

Las fuentes de abastecimiento de agua de las plantas embotelladoras analizadas presentaron niveles altos de contaminación por coliformes totales y fecales. El 92% (n=24) de las muestras de agua de la fuente de abastecimiento estuvieron contaminadas con coliformes totales. En las plantas C y H se encontraron los porcentajes más bajos de contaminación (Figura 1). Un 25% (n=24) de las muestras presentaron contaminación por *E. coli*. Las plantas A, B, C y D son únicamente las que presentaron contaminación fecal y están todas ubicadas en el municipio de Danlí (Figura 2).

Cuadro 2. Promedios de contaminación bacteriológica por coliformes totales en botellones reusables de 20 L (n=12).

Compañía	Media	Desviación estándar
A	51.2	90.0
B	71.8	89.0
C	82.5	94.0
D	22.3	57.2
E	77.0	96.1
F	75.3	93.9
G	101.0	104.0
H	0.0	0.0

Estudios previos realizados por Ramos y Andino (2011) indicaron que el 75% de los pozos estudiados en la zona oriental de Honduras superan los valores permisibles por la norma para agua de consumo humano de coliformes totales. Los resultados bacteriológicos, sugieren contaminación fecal en pozos privados y también un deficiente funcionamiento en el sistema de purificación y distribución público de agua de la ciudad de Danlí (Leclerc *et al.* 2002).

En Honduras en los sistemas de agua públicos, solo el 44% del agua tratada recibe una cloración efectiva y no existen sistemas de control y vigilancia de la calidad de agua. Este es un factor determinante del hecho que en Honduras las enfermedades de origen hídrico se ubican en el primer lugar de morbilidad y segundo en mortalidad infantil (COSUDE 2003). Según Letini (2011) en América Latina, la mayoría de las fuentes de agua naturales están contaminadas por coliformes totales y los sistemas públicos de tratamiento y abastecimiento de agua son deficientes en el tratamiento de la misma.

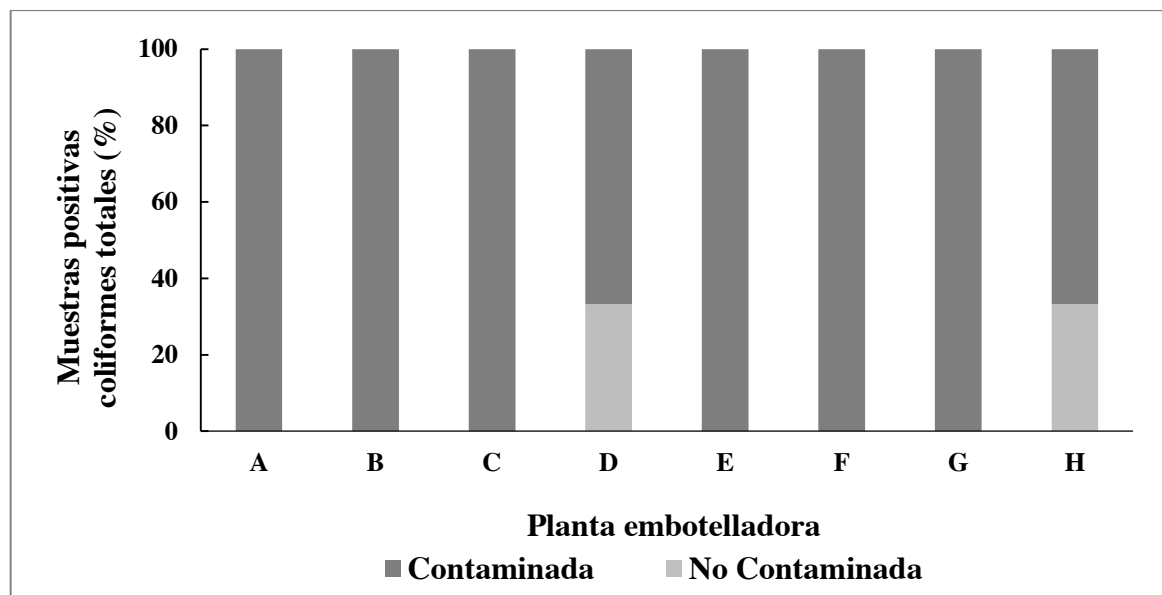


Figura 1. Porcentaje de muestras positivas a coliformes totales en agua sin tratamiento y de diferentes fuentes de abastecimiento en plantas embotelladoras de agua de la zona centro oriental de Honduras, 2015.

La eficiencia de los tratamientos de purificación de las plantas se evidencia en un 87.5% (n=24) de muestras no contaminadas por coliformes totales; a excepción de las plantas A, C y F en las que se encontró contaminación aún después del tratamiento de purificación y representan el 12.5% (n=24) (Figura 3). El 100% (n=24) de las muestras obtenidas después del tratamiento de purificación fueron negativas a la presencia de *E. coli*.

Existe gran variedad en los tratamientos de purificación de agua, lavado y desinfección de botellones en las plantas embotelladoras estudiadas (Cuadro 3). Las muestras de agua después del tratamiento de purificación y en los botellones reutilizables de 20 L han recibido diversos tratamientos y combinaciones de éstos. Estudios previos realizados por Shannon

et al. (2008), afirman que la combinación de luz UV y ozono es la más utilizada a nivel mundial en el tratamiento de agua por su alta efectividad en la reducción de carga bacteriana en el agua. La contaminación en las plantas estudiadas es menor comparada con los resultados obtenidos por Golden *et al.* (2015), donde se reportó que el 17 % (n=12) de las muestras analizadas fueron positivas para coliformes totales y fecales. El estudio incluyó seis marcas y se repitió dos veces el muestreo.

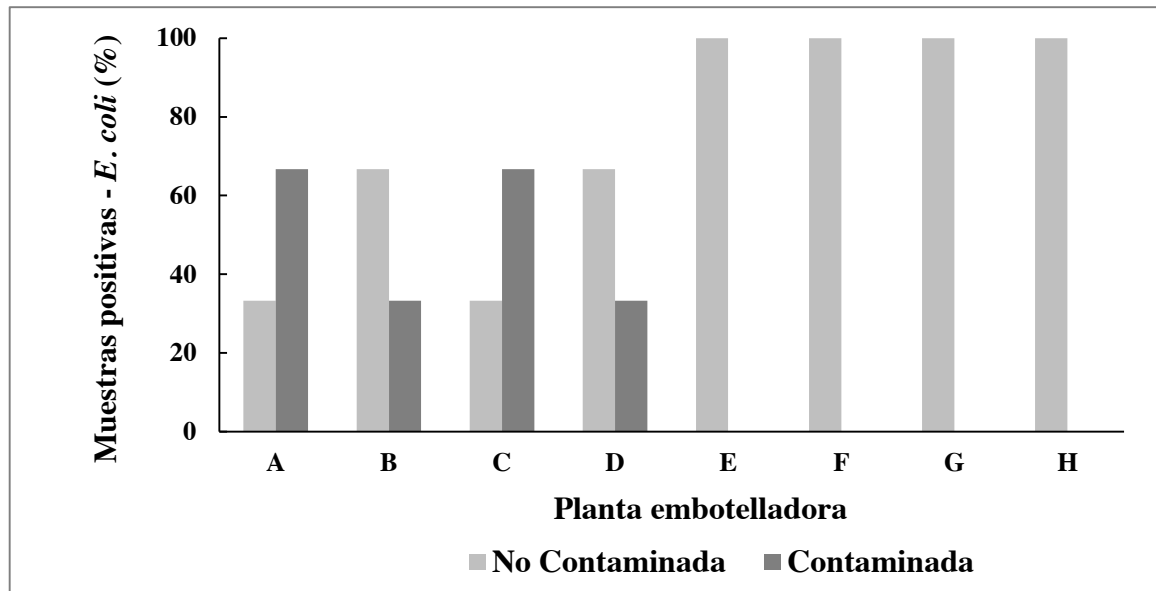


Figura 2. Porcentaje de muestras positivas a *E. coli* en agua cruda y de diferentes fuentes de abastecimiento en las plantas embotelladoras de la zona centro oriental de Honduras.

Un lavado mecanizado y con aplicación de ozono como desinfectante, es únicamente utilizado en la planta H, la que mantiene los niveles más altos de producción. Las muestras en botellones de esta, fueron negativas para coliformes totales. La efectividad del ozono como mejor método de desinfección, se afirma en lo publicado por la Environmental Protection Agency (2007), donde establece al ozono con niveles de purificación y desinfección más altos en comparación que otros métodos como el cloro y la luz ultravioleta. Khadre *et al.* (2001) determinan que la principal limitante de los usos de ozono en las embotelladoras con volúmenes de producción medios o bajos son los altos costos de la tecnología.

Las muestras de botellones reutilizables presentaron contaminación por coliformes totales en un 72% (n=72) del total de la muestras. La planta H fue negativa para coliformes totales en las muestras analizadas. Las plantas C y F fueron las plantas con los mayores niveles de contaminación (100%) (Figura 4). Del total de las muestras de botellones, un 8% (n=72) presentaron contaminación por *E. coli*, específicamente provenientes de las plantas A, B, C, y G (Figura 5).

Cuadro 3. Tratamientos de purificación de agua y lavado de botellones utilizados por las plantas embotelladoras de la zona centro oriental de Honduras.

Tratamientos	Plantas embotelladoras							
	Purificación							
	A	B	C	D	E	F	G	H
Filtros (Carbono activado)	x	x	x	x	x	x	x	x
Filtros (Cuarzo y arena)	x	x	x	x	x	x	x	x
Microfiltrado					x			
Osmosis inversa		x			x	x	x	x [†]
Filtro de minerales					x			
Esterilización UV	x	x	x		x	x	x	x [†]
Esterilización de ozono					x	x	x	x [†]
Lavado de botellones								
Agua caliente (manual)			x	x		x	x	
Agua caliente (mecanizada)								x
Esterilización con ozono					x			
Desinfección con detergente (manual)	x	x		x		x	x	x
Agua fría (manual)	x	x	x			x	x	

[†]El tratamiento se repite en un mismo flujo de producción.

Las diferencias en niveles de contaminación entre los diferentes tipos de agua (tratada y botellones 20 L), determinan que la contaminación se puntualiza en el envase reutilizable y en los procesos de lavado y esterilización utilizados en las plantas embotelladoras (Golden *et al.* 2015). El crecimiento de bacterias después de que el agua es embotellada puede ser ocasionado por la oxigenación del agua durante el procesamiento, el aumento en el área superficial de la botella, el aumento de la temperatura, y la cantidad de nutrientes derivados de la botella (Warburton 2000).

Los resultados siguen la misma tendencia que los presentados por Ahmed *et al.* (2011) quienes identificaron que el 86% (n=14) de las marcas analizadas fueron positivas a la presencia de coliformes totales y *E. coli* en Bangladesh y se determinó una alta variabilidad entre las empresas embotelladoras del estudio. Kassenga (2007) obtuvo resultados diferentes, al sólo encontrar un 2.5% (n=80) positivo a coliformes totales y un 1.3% (n=80) positivo a *E. coli* en Dar es Salamm, Tanzania, considerada la ciudad con mayor consumo de agua embotellada del país. El 57% (n=38) de las marcas registradas se ubican en esta ciudad. La diferencia con ambos estudios es que los envases no son reutilizables pero recibieron de igual forma el proceso de lavado y esterilización de botellones antes de ser envasados.

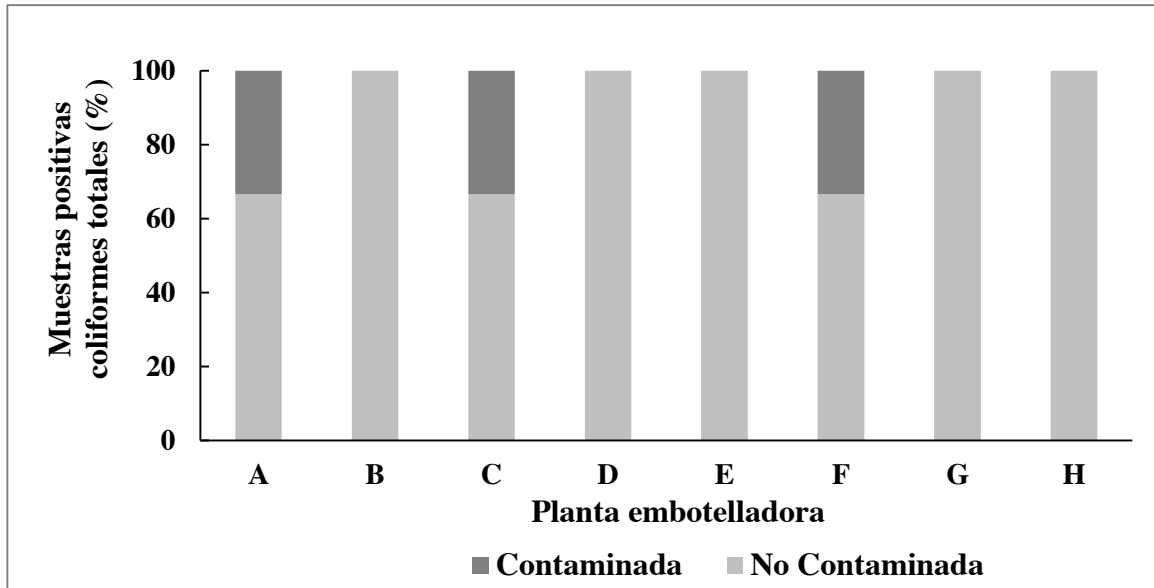


Figura 3. Porcentaje de muestras positivas a coliformes totales en aguas con tratamiento de purificación en las plantas embotelladoras de la zona centro oriental de Honduras, 2015.

Del total de las muestras de botellones reutilizables, 27 superaron el límite de detección del método. La calidad bacteriológica del agua en botellones reutilizables de 20 L presenta diferencia estadística ($p < 0.001$) entre las plantas estudiadas. El resultado fue similar al comparar la planta H con los niveles más bajos de contaminación, con las otras 7 plantas del estudio. La diferencia se enmarca en la ausencia de muestras contaminadas en la planta H (0/9, 0%). El resto de las plantas tienen un nivel de contaminación del 83%.

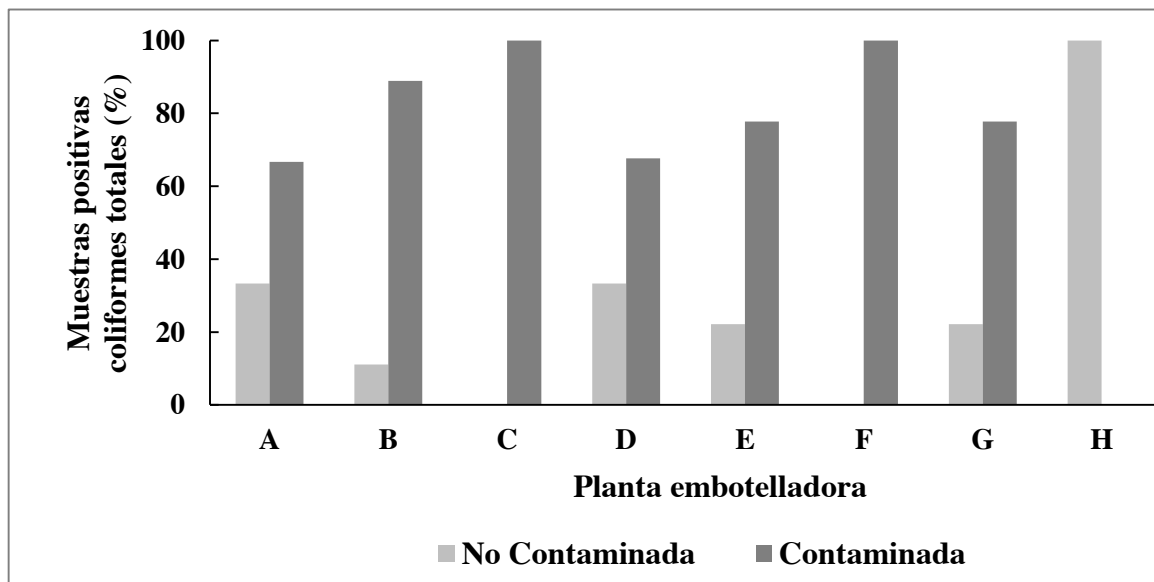


Figura 4. Porcentaje de muestras positivas a coliformes totales en botellones reutilizables de 20 L en las plantas embotelladoras de la zona centro oriental de Honduras, 2015.

De las variables que pudiesen alterar la calidad final del producto que reciben los consumidores, la temperatura fue descartada en el estudio debido a que la óptima de crecimiento para coliformes es $35^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ y las muestras se mantuvieron en un promedio de 26.7°C . Investigaciones realizadas por Loy *et al.* (2008) y Rosenberg (2003), demuestran que la concentración bacteriológica aumenta en botellones llenos y sellados almacenados a temperatura ambiente. La disponibilidad de materia orgánica en el botellón influencia este aumento sobre un efecto menor que tiene la temperatura.

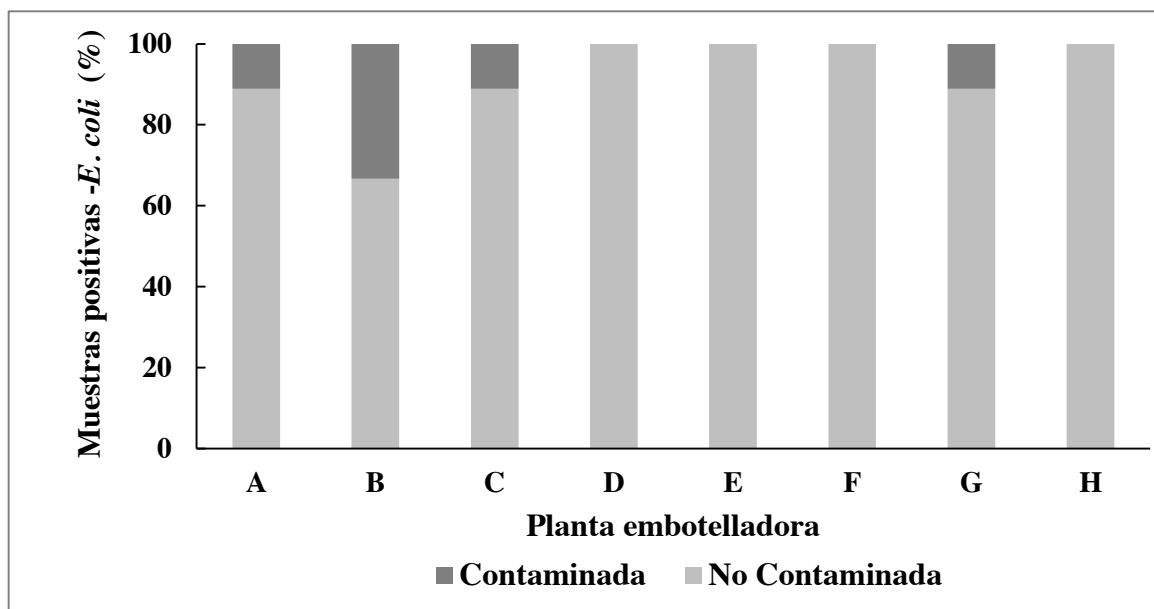


Figura 5. Porcentaje de muestras positivas a *E. coli* de botellones reutilizables de 20 L. en las plantas de embotellamiento de la zona centro oriental de Honduras.

Las variables que presentaron significancia estadística ($p < 0.005$) fueron compañía y tipo de agua (cruda, tratada y envasada), es decir las diferencias en contaminación bacteriológica dependen únicamente de la compañía y el tipo de agua que se está analizando. El tiempo de almacenamiento no presentó diferencia estadística en el porcentaje de contaminación de las muestras ($p = 0.4665$). El número de tratamientos y la repetición del muestreo tampoco evidenciaron una relación estadísticamente significativa ($p = 0.0826$ y $p = 0.0485$). Los estudios de Golden *et al.* (2015) demostraron resultados similares al no encontrar diferencias significativas en la relación tiempo y contaminación bacteriológica. Para el análisis se transformó el conteo de coliformes totales utilizando el logaritmo de la variable.

Algunos de los factores identificados que influyen en la calidad final del producto en las plantas estudiadas dependen potencialmente del personal operativo. Sólo el 12.5% ($n = 8$) de las plantas estudiadas mantiene una cultura de uso del equipo de protección personal (EPP). El resto trabaja sin ningún tipo de protección hacia el empleado y el producto final. La no utilización y el mal uso del EPP en la industria alimentaria son un peligro potencial para la transmisión de contaminantes (Green *et al.* 2005, Ewen *et al.* 2010). A nivel mundial, el 59%

de las enfermedades transmitidas por productos de la industria alimentaria se remontan a los operarios (Roberts *et al.* 2008).

Las plantas estudiadas mantienen niveles de producción muy diferentes. Varían desde 1,000-175,000 botellones semanales. Los niveles altos de producción les permiten a las plantas asumir mejor las pérdidas por botellones defectuosos, viejos y contaminados. La rotación de botellones es una estrategia para la reducción de puntos de contaminación. La mejoría de los contenedores de transporte y almacenamiento sugiere una mejoría en la calidad del agua potable y la salubridad en un ambiente donde la calidad del agua en el punto de origen es bueno, pero existe una re-contaminación generalizada lo que declina la calidad del agua en el punto de uso (Günther *et al.* 2012).

De los botellones de 20 L reutilizables analizados el 20% (n=72) tenían sellos de seguridad flojos o mal colocados. El 9% (n=72) de los botellones presentaban goteo en el tapón. Según el *Codex Alimentarius* (2001), se debería revisar botellón por botellón para garantizar la limpieza y correcto sellado de los botellones. Los sellos mal colocados son potenciales puntos de contaminación. De una muestra (n=32) de botellones al final del estudio, el 38%(n=32) están en mal estado y con apariencia de exceso de uso.

Se identificaron botellones reparados con elementos químicos que no son permitidos en la industria alimentaria como esmalte de uñas. Según *Codex Alimentarius* (1993), se deben utilizar envases estériles y sin ningún tipo de defecto. Los envases reutilizables de alimentos no pueden ser reparados, todos los envases dañados deberán ser descartados. Uno de los principales requerimientos del etiquetado de agua envasada es la fecha de vencimiento no mayor a 31 días en los botellones (*Codex Alimentarius* 2001). Solamente 12.5% (n=72) de los botellones analizados en el estudio presentaban fecha de vencimiento en el envase.

Existen parámetros técnicos pre establecidos para el diseño y construcción de plantas embotelladoras de agua. Algunos de los aspectos que se incluyen son la separación de áreas de acuerdo a sus operaciones, tipo de piso, paredes, techo, entre otros (COSUDE 2014). El 25 % (n=8) de las plantas embotelladoras del estudio operan en instalaciones que cumplen las normativas de diseño y construcción.

El *Codex Alimentarius* (2001), establece que las operaciones de envasado, sellado y almacenado de botellones llenos y vacíos deberán efectuarse en instalaciones cerradas que reduzcan la exposición del producto y el envase a contaminación. Las plantas del estudio almacenan sus envases en instalaciones inapropiadas y con exposición a fuentes puntuales de contaminación. Los puntos de comercialización también mantienen los botellones en lugares inapropiados. Según Jong Gyu (2007), existen oportunidades de re contaminación dependiendo de las condiciones de procesamiento y almacenamiento de materias primas, equipos y producto final.

El transporte de los botellones desde la planta a los puntos de comercialización no debería exponer al producto a potenciales fuentes de contaminación. *El Codex Alimentarius* (2015), establece que el transporte de alimentos debe ser una etapa con altos niveles de rigurosidad y de aplicación de Buenas Prácticas de Manufactura (BPM). Las plantas embotelladoras no cumplen con los requerimientos de transporte del producto final y botellones vacíos.

4. CONCLUSIONES

- Los tratamientos de purificación de agua utilizados por las plantas embotelladoras de la zona centro-oriental de Honduras son eficientes en la remoción de carga bacteriana y garantizan el cumplimiento de parámetros bacteriológicos de agua para consumo después del tratamiento.
- Las fuentes de abastecimiento de agua de las plantas embotelladoras de agua en la zona centro-oriental de Honduras se encuentran contaminadas con materia fecal. Esto se observó principalmente en las plantas embotelladoras del municipio de Danlí. Algunas de las plantas con agua contaminada se abastecen de sistemas municipales de distribución, lo que significa deficiencia en la purificación del agua y el incumplimiento de la norma hondureña de agua potable en los parámetros bacteriológicos.
- En su mayoría el agua embotellada comercializada en la zona centro-oriental de Honduras no cumple con los requisitos bacteriológicos exigidos por las normas que regulan el mercado. La contaminación varía de acuerdo a la marca evaluada y a la etapa del proceso luego de su tratamiento.
- El principal punto de contaminación en el proceso de embotellado de agua es el envase reutilizable. La falta de regulación del lavado y desinfección del envase y el embotellado en sí mismo propician la adición de cargas bacterianas al agua que recibe el consumidor.
- No existe una relación directamente proporcional entre el tiempo de almacenamiento del agua en botellones reutilizables y la concentración de coliformes totales y *E. coli* en botellones envasados en un mismo lote productivo, y almacenados bajo condiciones iguales de comercialización. La contaminación del agua en botellones potencialmente se debe a otros factores como el uso del equipo de protección personal en planta, los lugares de almacenamiento y las tapas y sellos de seguridad mal colocados.

5. RECOMENDACIONES

- Las normativas de regulación de embotellado de agua deberían ser exclusivas y de carácter obligatorio para el funcionamiento de plantas embotelladoras, dichas normativas deberán incluir en sus regulaciones todas las etapas del proceso de embotellado, es decir hasta que el producto final llegue al consumidor.
- Se deberían caracterizar bacteriológicamente otras presentaciones de agua embotellada para conocer de manera más específica aquellas que garantizan mayor seguridad de consumo en la población e indagar aún más sobre los factores que degradan la calidad del agua.
- Investigar sobre las implicaciones económicas, sociales y de manejo de recursos hídricos que devienen del aprovechamiento de cuerpos de agua para embotellado y comercialización en los sitios de estudio.
- Educar a la población sobre la importancia de la protección de fuentes naturales de agua y no sobre una ideología falsa de pureza y calidad en el agua embotellada.
- Para la Secretaría de Salud Pública, implementar protocolos rigurosos de muestreo en las plantas embotelladoras en el agua después del tratamiento de purificación. Seleccionar al azar botellones con agua listos para la comercialización y verificar el cumplimiento de la Norma Hondureña de calidad de agua en parámetros bacteriológicos y monitorear el cumplimiento de los protocolos de operación y funcionamiento para industrias alimentarias.

6. LITERATURA CITADA

Agencia Suiza para el Desarrollo y la Cooperación (COSUDE). 2003. Análisis sectorial de agua potable en Honduras. Consultado el 27 de septiembre de 2015. Disponible en <http://www.bvsde.paho.org/bvsaas/fulltext/honduras/parte1.pdf>

Agencia Suiza para el Desarrollo y la Cooperación (COSUDE). 2014. Guía ilustrativa para la el diseño e instalación de plantas de procesamiento de alimentos a nivel de PYMES. Consultado el 05 de octubre de 2015. Disponible en <http://www.pymerural.org/uploaded/content/category/1620703034.pdf>

Ahmed, W., R, Yusuf., I, Hasan., W, Ashraf., A, Goonetilleke., S, Toze., T, Gardner.2011. Fecal indicators and bacterial pathogens in bottle water. *Brazilian Journal of Microbiology*, 44(1), 97-103.

Bain, R., R, Cronk., R, Hossain., S, Bonjour., K, Onda., J, Wright., Y, Hong., T, Slagmaker., P, Hunter., A, Pruss-Ustum. y J.Bartram. 2014. Global assessment of exposure to faecal contamination through drinking water based on a systematic review. *Tropical Medicine & International Health*, 19(8), 917-927.

Clasen, T., A, Pruss-Ustum., C, Mathers. O, Cumming. S, Cairncross & JM Jr., Colford. 2014. Estimating the impact of unsafe water, sanitation and hygiene on the global burden of disease: evolving and alternative methods. *Tropical Medicine & International Health*, 19(8), 894-905.

Codex Alimentarius. 1993. Código de prácticas de higiene para alimentos poco ácidos elaborados y envasados asépticamente. Consultado el 05 de octubre de 2015. Disponible <http://www.codexalimentarius.org>.

Codex Alimentarius. 2001. Código de prácticas de higiene para las aguas potables embotelladas/envasadas, distintas de las aguas minerales naturales CAC/RCP 4. Consultado el 02 de octubre de 2015. Disponible <http://www.codexalimentarius>.

Codex Alimentarius. 2015. Código de prácticas de higiene para el transporte de alimentos a granel y alimentos semienvasados. Consultado el 05 de octubre de 2015. Disponible en <http://www.codexalimentarius.org>.

Consejo Nacional de Agua y Saneamiento (CONASA). 2014. Agua potable, saneamiento y calidad en Honduras: Desde una visión consensuada a la acción concertada. Tegucigalpa, Honduras, 2 p.

ECODES. 2006. Las aguas contaminadas causan el 20% de las muertes por enfermedades infecciosas. Disponible en <http://ecodes.org/noticias/las-aguas-contaminadas-causan-el-20-de-las-muertes-por-enfermedades-infecciosas#.VWyar2DnmCQ>. Consultado el 30 de mayo de 2015.

Environmental Protection Agency. s.f. Basic Information about Regulated Drinking Water Contaminants: Basic Information about Pathogens and Indicators in Drinking Water. Consultado el 09 de mayo de 2015. Disponible en: <http://water.epa.gov/drink/contaminants/basicinformation/pathogens.cfm>.

Environmental Protection Agency.2007. Removal of synthetic organic chemical contaminants in drinking water. Consultado el 03 de octubre de 2015. Disponible en <http://archive.epa.gov/nrmrl/archive-etv/web/pdf/600etv07053.pdf>.

Ewen, T., M, Michael. J, Greig., D, Smith., CH, Bartleson.2010. Outbreaks where food workers have been implicated in the spread of foodborne disease. Part 8. Gloves as barriers to prevent contamination of food by workers. *Journal of Food Protection*, 9(12), 1762-1773.

Ferrier, C. 2001. Water bottle: Understanding a social phenomenon. *World Wildlife Fund*, 3.

Golden, J., K, Mills., A. Bilinsky., A, Beckam., K, McDaniel., A, Harding., A, France., H, Napa., C, Vecitis. 2015. Bacterial contamination in reusable bottles used for drinking water in Ecuador. Unpublished data.

Gössling, S., P, Peeters. M, Hall. J, Ceron., G, Dubois., V, Lehmann., D, Scott.2012. Progress in tourism management: tourism and water use: supply, demand, and security. an international review. *Tourism Management*, 33 (2012), 1-15.

Green, L., C, Selman.2005. Factors impacting food workers' and managers' safe food preparation practices: a qualitative study. *Food Protection Trends*, Vol. 25(12), 981-990.

Günther, I., & Y, Schipper.2012. Pumps, germs and storage: the impact of improved water containers on water quality and health. *Health Economics*, 22(7), 754-774.

IDEXX Laboratories, Inc. (2013). Quanti-Tray/2000: Insert and Most Probable Number (MPN) Table. Retrieved from IDEXX. Consultado el 03 de junio de 2015. Disponible en <https://www.idexx.com/resource-library/water/quanti-tray-2000-procedure-en.pdf>.

Instituto Nacional de Estadística. 2012. Honduras: Encuesta Nacional de Demografía y Salud 2011-2012. Consultado el 10 de junio de 2015. Disponible en: <http://dhsprogram.com/pubs/pdf/SR200/SR200.pdf>.

Kassenga, G.2007. The health-related microbiological quality of bottled drinking water sold in Dar es Salaam, Tanzania. *Journal of Water and Health*, 5(1), p 179-185.

Khadre, M., A, Yousef., J, Kim.2001. Microbiological Aspects of Ozone Applications in Food: Reviews. *Journal of Food Sciences*. 66(9), p 1242-1252

Jonh Gyu, K. 2007. A Study on the Microbiological Quality of Drinking Water and Changes During Storage. *Korean Journal of Environmental Health*. 33(6), p 517-521.

Letini, E. 2011. Servicios de agua potable y saneamiento: Lecciones de experiencias relevantes. Ministerio Federal de Cooperación y Desarrollo del Gobierno de Alemania. Comisión Económica para América Latina y el Caribe, p 11.

Loy, A., W, Beisker., H, Meier.2005. Diversity of Bacteria Growing in Natural Mineral Water after Bottling. *Applied and Environmental Microbiology*. 71(7), p 3624–3632.

Mills, K. 2015. Water Jug Sanitation Study: Study Design, Interview and testing procedures. *WaterEcuador*. Esmeraldas, Ecuador, p 1-10.

Ministerio de Salud, Gobierno de Honduras. 1995. Norma técnica para la calidad del Agua Potable. Tegucigalpa, Honduras, 7.

Organización de las Naciones Unidas (ONU). 2015. Objetivos de Desarrollo del Milenio, Informe 2015. Consultado el 01 de octubre de 2015. Disponible en http://www.un.org/es/millenniumgoals/pdf/2015/mdg-report-2015_spanish.pdf

Organización Mundial de la Salud (OMS), 2006. Guías para la calidad de agua potable (en línea). 3(1), 11.

Organización Mundial de la Salud (OMS), 2012. Agua, saneamiento y salud (ASS): Progresos sobre el agua potable y saneamiento. Consultado el 07 de mayo de 2015. Disponible en http://www.who.int/water_sanitation_health/monitoring/jmp2012/es/.

Parry, M., J, Lowe. & C, Hanson.2009. Overshoot, adapt and recover. *Nature*, 485(2), 1112-110.

Prüss-Ustün, A., J, Bartram., T, Clasen., T, Colford., O, Cumming., V, Curtis., S, Bonjour., A, Dangour., J, De France., L, Frewtrell., M, Freeman., B, Gordon., P, Hunter., R, Jhonson., C, Mathers., D, Mausezahl., K, Medlicott., M, Mera., M, Stocks., J, Wolf., & S, Cairncross .2014. Burden of disease from inadequate water, sanitation and hygiene in low- and middle-income settings: a retrospective analysis of data from 145 countries. *Tropical Medicine & International Health*, 19(8), 894-905.

Ramos, A., L, Andino.2011. Caracterización regional de la calidad del agua subterránea y superficial en el Departamento de El Paraíso, Honduras. Tesis Ingeniero en Ambiente y Desarrollo. El Zamorano, Honduras, Escuela Agrícola Panamericana. 41p.

Roberts, k., B, Barret., A, Howells., C, Shanklin., V, Pilling., L, Brannon.2008. Food safety training and foodservice employees' knowledge and behaviors .*Food Protection Trends*, 28(4), 252-260.

Rosenberg, F. 2003. The microbiology of water bottle. *Clinical Microbiology Newsletter*. 4399 (03), p 41-44.

Shannon, M., P, Bohn., M, Elimelech., J, Georgiadis., B, Mariñas., A, Mayes. 2008. Science and technology for water purification in the coming decades. *Nature*. (452)20, p 301-310.

Trevett, A., R, Carter & S, Tyrrel., 2005. Mechanisms leading to post - supply water quality deterioration in rural Honduran communities. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 208(3), 153-161.

Velasquez, E. Dinares, M. 2011. El Comercio Internacional del Agua Embotellada-La Hidromafia. VII Congreso Ibérico sobre Gestión y Planificación del Agua “Ríos Ibéricos +10. Mirando al futuro tras 10 años de DMA, 1.

Water4. 2015. Water and sanitation: Water facts. Consultado el 07 de mayo de 2015. Disponible en <http://www.water4.org/what-we-do/our-crisis/water-and-sanitation/>.

Warburton, D. 2000. Methodology for screening bottled water for the presence of indicator and pathogenic bacteria. *Food Microbiology*. 17(1), p 3-12.

Wright, J., S, Gundry & R, Conroy. 2004. Household drinking water in developing countries: a systematic review of microbiological contamination between source and point-of-use. *Tropical Medicine & International Health*, 9(1), 106-117.

7. ANEXOS

Anexo 1. Modelo de encuesta aplicada a plantas embotelladoras de agua.



Survey Questions (Spanish)

Información básica

¿Cuándo su empresa comenzará a funcionar?

¿Cuántos bidones se venden por semana?

¿Cómo varían la ventas según la temporada?

¿Dónde venden botellas?

¿Cuánto venden sus jarras de agua 20L para que los consumidores / empresas?

Información de la empresa

Hábleme de cómo opera su empresa (por ejemplo, obtiene y purifica el agua). (Nota para el topógrafo - esta pregunta es para minimizar el sesgo de composición abierta.)

Si necesita, use estas sondas: Fuente de agua, proceso de tratamiento (RO, ozono, UV, carbón activado, filtros de sedimentos, cloro, sulfato de aluminio, de reducción de la dureza, etc.) proceso de distribución, proceso de saneamiento jarra, proceso de contratación, el número de empleados

¿Cómo ha cambiado la demanda de agua embotellada en los últimos 5-10 años?

¿Cómo cree que la demanda de agua embotellada va a cambiar en el futuro?

Información interactiva

¿Puedo tener un tour?

Nota prácticas de higiene.

¿Puedo tener una muestra de su agua purificada directamente de su sistema?

Anexo 2. Bandeja Quanty-Tray 200 y medio de cultivo Colilert.



Anexo 3. Bandejas con celdas positivas para coliformes totales.



Anexo 4. Bandejas con celda positivas para *E. coli*.



Anexo 5. Personal de planta embotelladora sin Equipo de Protección Personal (EPP).



Anexo 6. Reporte de bacterias por el método del Numero Más Probable (NMP).

Company Code	Round	Sample Type	Day	Total Coliform	Total <i>E. coli</i>
A	1	Raw water	0	>200.5	0
A	1	Treated water	0	0	0
A	1	20L Reusable	0	>200.5	0
A	1	20L Reusable	7	>200.5	0
A	1	20L Reusable	31	0	0
A	2	Raw water	0	>200.5	65.9
A	2	Treated water	0	0	0
A	2	20L Reusable	0	>200.5	0
A	2	20L Reusable	7	0	0
A	2	20L Reusable	31	0	0
A	3	Raw water	0	>200.5	23.8
A	3	Treated water	0	3.1	0
A	3	20L Reusable	0	2	4.2
A	3	20L Reusable	7	>200.5	0
A	3	20L Reusable	31	8.7	0
B	1	Raw water	0	59.1	4.2
B	1	Treated water	0	0	0
B	1	20L Reusable	0	2	1
B	1	20L Reusable	7	83.1	9.9
B	1	20L Reusable	31	>200.5	0
B	2	Raw water	0	>200.5	0
B	2	Treated water	0	0	0
B	2	20L Reusable	0	144.5	1
B	2	20L Reusable	7	0	0
B	2	20L Reusable	31	11.1	0
B	3	Raw water	0	109.1	0
B	3	Treated water	0	0	0
B	3	20L Reusable	0	19.2	0
B	3	20L Reusable	7	>200.5	0
B	3	20L Reusable	31	>200.5	0
C	1	Raw water	0	47.8	1
C	1	Treated water	0	0	0
C	1	20L Reusable	0	>200.5	0
C	1	20L Reusable	7	>200.5	0
C	1	20L Reusable	31	1	0
C	2	Raw water	0	6.4	0
C	2	Treated water	0	0	0
C	2	20L Reusable	0	>200.5	5.3

C	2	20L Reusable	7	>200.5	0
C	2	20L Reusable	31	25.4	0
C	3	Raw water	0	27.1	1
C	3	Treated water	0	25.4	0
C	3	20L Reusable	0	129.8	0
C	3	20L Reusable	7	5.3	0
C	3	20L Reusable	31	2	0
D	1	Raw water	0	0	0
D	1	Treated water	0	0	0
D	1	20L Reusable	0	8.7	0
D	1	20L Reusable	7	>200.5	0
D	1	20L Reusable	31	0	0
D	2	Raw water	0	2	0
D	2	Treated water	0	0	0
D	2	20L Reusable	0	16.4	0
D	2	20L Reusable	7	2	0
D	2	20L Reusable	31	0	0
D	3	Raw water	0	17.8	2
D	3	Treated water	0	0	0
D	3	20L Reusable	0	38.2	0
D	3	20L Reusable	7	2.0	0
D	3	20L Reusable	31	0	0
E	1	Raw water	0	109.1	0
E	1	Treated water	0	0	0
E	1	20L Reusable	0	5.3	0
E	1	20L Reusable	7	109.1	0
E	1	20L Reusable	31	7.5	0
E	2	Raw water	0	101.3	0
E	2	Treated water	0	0	0
E	2	20L Reusable	0	>200.5	0
E	2	20L Reusable	7	>200.5	0
E	2	20L Reusable	31	>200.5	0
E	3	Raw water	0	56	0
E	3	Treated water	0	0	0
E	3	20L Reusable	0	>200.5	0
E	3	20L Reusable	7	0	0
E	3	20L Reusable	31	0	0
F	1	Raw water	0	32.5	0
F	1	Treated water	0	8.7	0
F	1	20L Reusable	0	>200.5	0
F	1	20L Reusable	7	>200.5	0

F	1	20L Reusable	31	7.5	0
F	2	Raw water	0	7.5	0
F	2	Treated water	0	0	0
F	2	20L Reusable	0	>200.5	0
F	2	20L Reusable	7	25.4	0
F	2	20L Reusable	31	>200.5	0
F	3	Raw water	0	1	0
F	3	Treated water	0	0	0
F	3	20L Reusable	0	1	0
F	3	20L Reusable	7	1	0
F	3	20L Reusable	31	56	0
G	1	Raw water	0	27.1	0
G	1	Treated water	0	0	0
G	1	20L Reusable	0	>200.5	0
G	1	20L Reusable	7	>200.5	0
G	1	20L Reusable	31	0	0
G	2	Raw water	0	>200.5	0
G	2	Treated water	0	0	0
G	2	20L Reusable	0	>200.5	0
G	2	20L Reusable	7	>200.5	v7.5
G	2	20L Reusable	31	0	0
G	3	Raw water	0	>200.5	0
G	3	Treated water	0	0	0
G	3	20L Reusable	0	>200.5	0
G	3	20L Reusable	7	8.7	0
G	3	20L Reusable	31	>200.5	0
H	1	Raw water	0	47.8	0
H	1	Treated water	0	0	0
H	1	20L Reusable	0	0	0
H	1	20L Reusable	7	0	0
H	1	20L Reusable	31	0	0
H	2	Raw water	0	0	0
H	2	Treated water	0	0	0
H	2	20L Reusable	0	0	0
H	2	20L Reusable	7	0	0
H	2	20L Reusable	31	0	0
H	3	Raw water	0	118.4	0
H	3	Treated water	0	0	0
H	3	20L Reusable	0	0	0
H	3	20L Reusable	7	0	0
H	3	20L Reusable	31	0	0

Anexo 7. Tabla del método del Numero Más Probable (NMP).

Numero de celdas positivas	Número más Probable	Límite de confianza del 95%	
		Inferior	Superior
0	<1	0.0	3.7
1	1.0	0.3	5.6
2	2.0	0.6	7.3
3	3.1	1.1	9.0
4	4.2	1.7	10.7
5	5.3	2.3	12.3
6	6.4	3.0	13.9
7	7.5	3.7	15.5
8	8.7	4.5	17.1
9	9.9	5.3	18.8
10	11.1	6.1	20.5
11	12.4	7.0	22.1
12	13.7	7.9	23.9
13	15.0	8.8	25.7
14	16.4	9.8	27.5
15	17.8	10.8	29.4
16	19.2	11.9	31.3
17	20.7	13.6	33.3
18	22.2	14.1	35.2
19	23.8	15.3	37.3
20	25.4	16.5	39.4
21	27.1	17.7	31.6
22	28.8	19.0	43.9
23	30.6	20.4	46.3
24	32.4	21.8	48.7
25	34.4	23.3	51.2
26	36.4	24.7	53.9
27	38.4	26.4	56.6
28	40.6	28.0	59.5
29	42.9	29.7	62.5
30	45.3	31.5	65.6
31	47.8	33.4	69.0
32	50.4	35.4	72.5
33	53.1	37.5	76.2
34	56.0	39.7	80.1
35	59.1	42.0	84.4
36	62.4	44.6	88.8
37	65.9	47.2	93.7
38	69.7	50.0	99.0
39	73.8	53.1	104.8
40	78.2	56.4	112.2

41	83.1	59.9	118.3
42	88.5	63.2	126.2
43	94.5	68.2	135.4
44	101.3	73.1	146.0
45	109.1	78.6	158.7
46	118.4	85.0	174.5
47	129.8	92.7	195.0
48	144.5	102.3	224.1
49	165.2	115.2	272.2
50	200.5	135.8	387.6
51	>200.5	146.1	∞

Anexo 8. Almacenado de botellones reutilizables en plantas embotelladoras.



Anexo 9. Transporte inadecuado de botellones reutilizables.

