

**ANÁLISIS DE LAS TÉCNICAS IMPLEMENTADAS PARA LA
DETECCIÓN DE CONTAMINANTES EN EL AGUA POTABLE**

Michael Alejandro García Palacio

**PROGRAMA DE INGENIERÍA QUÍMICA
DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA AMBIENTAL, CIVIL Y QUÍMICA
FACULTAD DE INGENIERÍAS Y ARQUITECTURA**



**UNIVERSIDAD DE PAMPLONA
PAMPLONA, Junio 10 de 2020**

**ANÁLISIS DE LAS TÉCNICAS IMPLEMENTADAS PARA LA
DETECCIÓN DE CONTAMINANTES EN EL AGUA POTABLE**

Michael Alejandro García Palacio

**Trabajo de monografía presentado como requisito para optar al título de
INGENIERO QUÍMICO**

Directora: PhD (c). Jeniffer Katherine Carrillo Gómez

PROGRAMA DE INGENIERÍA QUÍMICA
DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA AMBIENTAL, CIVIL Y QUÍMICA
FACULTAD DE INGENIERÍAS Y ARQUITECTURA
UNIVERSIDAD DE PAMPLONA
Pamplona, Junio 10 de 2020

Dedicatoria

Dedico este trabajo principalmente a Dios por guiarme en esta etapa, bendecirme y llenarme de fuerzas para continuar sin desfallecer. A mis padres que con su apoyo incondicional han sido el pilar más importante para seguir este camino sin importar las adversidades, en especial a mi madre que a pesar de tanto sacrificio siempre encontró la manera de impulsarme con su amor y comprensión durante todos estos años. También dedico este logro a toda mi familia en general, han sido personas de gran apoyo, que de una u otra manera me acompañaron aportando tanto a mi formación profesional como ser humano.

.

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, agradezco a Dios por haberme guiado a lo largo de mi carrera, ser apoyo y fortaleza en momentos de dificultad, a mis padres, por ser un ejemplo de superación ya que sin su apoyo, amor, esfuerzo y dedicación incondicional no hubiese sido posible esto, especialmente a mi madre que no me alcanzan las palabras para expresarle lo inmensamente agradecido que estoy, pero sin lugar a dudas este logro ha sido en gran parte gracias a ella; también manifiesto mis agradecimientos con cada una de las personas que me acompañaron durante este proceso, a mis compañeros que se volvieron una familia durante todos estos años. Agradezco también a todo el cuerpo docente de la Universidad de Pamplona por su acompañamiento e invaluable aporte de conocimientos durante mi vida profesional, adicionalmente expreso mis agradecimientos a mi pareja Alejandra Quintín quien ha sido una compañera fiel a lo largo de mi carrera, por convivir todo este tiempo conmigo, por compartir experiencias, alegrías, frustraciones y por ser una compañera incondicional durante este camino, para finalizar y no menos importante quiero mencionar mis más sinceros agradecimientos a toda mi familia que de una u otra forma, siempre estuvieron brindándome su apoyo para lograr este objetivo.

¡Gracias!

GLOSARIO

Agua potable: Es aquella que por cumplir con los requisitos organolépticos, físicos, químicos y microbiológicos puede ser consumida por la población humana sin producir efectos adversos a su salud.

Contaminación del agua potable: Es la alteración de sus características organolépticas, físicas, químicas, radiactivas y microbiológicas, que producen o pueden producir rechazo, enfermedad o muerte al consumidor.

Control de la calidad del agua potable: Son los análisis organolépticos, físicos, químicos y microbiológicos realizados al agua en cualquier punto de la red de distribución con el objeto de garantizar el cumplimiento de las disposiciones establecidas.

Planta de tratamiento o de potabilización: Conjunto de obras, equipos y materiales necesarios para efectuar los procesos que permitan cumplir con las normas de calidad del agua potable.

Cloro residual: Fracción de cloro añadido que conserva sus propiedades desinfectantes.

***Escherichia coli* (*E. coli*):** Bacilo aerobio Gram Negativo no esporulado que se caracteriza por tener la enzima β -d-glucuronidasa, es el indicador microbiológico preciso de contaminación fecal en el agua para consumo humano.

Técnica de detección de contaminantes: Es un procedimiento para captar o notar la presencia de algún compuesto presente en la muestra.

Técnicas histoquímicas: Es el estudio químico de los tejidos que permite la identificación y localización de compuestos o radicales.

Tabla de Contenidos

1. INTRODUCCIÓN	1
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN	2
3. OBJETIVOS	3
3.1.1.1. OBJETIVO GENERAL	3
3.1.1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	3
4. ESTADO ACTUAL.....	4
4.1. PROCESO DE POTABILIZACIÓN DE AGUA	4
4.2. CONTAMINANTES DEL AGUA POTABLE.....	5
4.3. TÉCNICAS DE DETECCIÓN	7
4.3.1. Convencionales para contaminantes microbiológicos	7
4.3.1.1. Fermentación de tubos múltiples (MTF)	7
4.3.1.2. Método de filtración por membrana (MF)	10
4.3.1.3. Método del sustrato enzimático	12
4.3.1.4. Técnicas de detección de coliformes por métodos moleculares	13
4.3.1.5. Técnicas de Hibridación Fluorescente In Situ (FISH).....	17
4.3.2. Convencionales de contaminantes no biológicos	18
4.3.2.1. Método titulométrico	18
4.3.2.2. Método colorimétrico.....	19
4.3.2.3. Espectrometría de masas.....	19
4.3.2.4. Electroforesis Capilar.....	21
4.4. NUEVAS METODOLOGIAS PARA LA DETECCCIÓN DE CONTAMINANTES EN EL AGUA POTABLE	21
4.4.1. Nuevas técnicas para contaminantes microbiológicos.....	21
4.4.1.1. Dispositivo microfluídico para la detección de <i>Escherichia Coli</i> mediante enfoque dielectroforético	21
4.4.1.2. Detección de helicobacter pylori utilizando técnicas moleculares y culturales....	22
4.4.1.3. Detección en línea de <i>Escherichia coli</i> en un sistema de distribución de agua potable a escala piloto.....	22

4.4.1.4.	Enfoque electroanalítico para la detección de coliformes	23
4.4.1.5.	Detección de concentración de las bacterias de <i>E. coli</i> en plantas de tratamiento de agua potable a través de una nariz E y un sistema de extracción de volátiles (VES).....	23
4.4.2.	Nuevas tecnologías para contaminantes no biológicos.....	25
4.4.2.1.	Electroforesis capilar acoplada a espectrometría de masa con electrospray para la determinación de compuestos de arsénico orgánicos e inorgánicos en muestras de agua....	25
4.4.2.2.	Extracción en fase sólida y cromatografía líquida- espectrometría de masas para la detección de drogas y productos farmacéuticos en el agua potable.....	25
4.4.2.3.	Un nuevo enfoque basado en PCA para construir clasificadores de sensores integrados para la detección de contaminantes del agua.	26
4.4.2.4.	Un método simple para la detección de bajas concentraciones de fluoruro en el agua potable.	27
4.4.2.5.	Determinación rápida de nueve ácidos haloacéticos, bromato y dalapon en muestras de agua potable mediante cromatografía iónica-espectrometría de masas en tándem de electrospray.....	27
4.4.2.6.	Sistema hidráulico de red en la detección de eventos de calidad del agua utilizando múltiples datos de estaciones de sensores.....	28
4.4.2.7.	Método rápido para monitorear N-nitrosodimetilamina en el agua potable a nivel de ng/L utilizando cromatografía líquida de alta resolución y detección de quimioluminiscencia.	28
4.4.2.8.	Síntesis del marco organometálico de circonio y su aplicación para la determinación de trazas de torio por espectrofotometría.....	29
4.4.2.9.	Biosensor para la detección de iones de cobre en agua basado en células de levadura genéticamente modificadas.....	29
5.	ANÁLISIS Y DISCUSIÓN	30
6.	CONCLUSIONES	32
7.	RECOMENDACIONES.....	34
8.	BIBLIOGRAFÍA	35

Lista de tablas

Tabla 1. Contaminantes más comunes en el suministro de agua potable	6
Tabla 2. Índice de MPN y límites de confianza del 95% para todas las combinaciones de resultados positivos y negativos cuando se utilizan cinco porciones de 20 mL	9
Tabla 3. Índice de MPN y límites de confianza del 95% para todas las combinaciones de resultados positivos y negativos cuando se usan diez porciones de 10 mL.	9
Tabla 4. Características de cada uno de los medios de cultivo para la detección de coliformes totales y fecales.	11
Tabla 5. Técnicas moleculares para detectar microbianos en el agua potable.....	13

Lista de figuras

Figura 1. Procesos para la potabilización de agua	5
Figura 2. Esquema del procedimiento de la técnica de fermentación de tubos múltiples	10
Figura 3. Procedimiento de la técnica de filtración por membrana	12
Figura 4. Proceso titulométrico para la medición de cloruros	19
Figura 5. Detección de H pylori por FISH.....	22
Figura 6. Comparación del tiempo de respuesta: (a) Método convencional y (b) método de una nariz E con sistema de extracción de volátiles.....	24
Figura 7. Sistema de cono relacionado con los puntos internos de del contaminante.....	27

1. INTRODUCCIÓN

El agua que cumple con las características químicas, físicas y microbiológicas para ser apta en el consumo humano sin producir efectos adversos en su salud se denomina agua potable, es indispensable para el ser humano, sin embargo es una fuente transmisora de enfermedades cuando se ingiere con un mal proceso de tratamiento, por lo tanto las técnicas de detección de los compuestos que existen en el agua potable antes de suministrarla son cruciales para garantizar la calidad de esta; el agua potable se utiliza en bebida directa, en la preparación de alimentos, en higiene personal, y en algunas industrias químicas.

El suministro de agua inseguro afecta la salud humana, causando enfermedades contagiosas como hepatitis, influenza y enfermedades entéricas. Algunos contaminantes en el abastecimiento de agua son los no biológicos como sílice, sodio, azufre, amoníaco y cloro, sustancias peligrosas de metales pesados como el cadmio (Cd), plomo (Pb), arsénico (As), mercurio (Hg) y níquel (Ni), o bacterias del grupo coliforme como *Escherichia coli* y *Enterobacter*, el mecanismo de detección varía dependiendo de los contaminantes del agua, los biológicos pueden ser detectados mediante espectrometría de masas, electroforesis capilar o sensores y los microbiológicos mediante la técnica de fermentación de tubos múltiples o método de filtración.

Esta monografía desarrolló una recopilación de información, mediante el cual se realizó un análisis de las técnicas implementadas para la detección de compuestos que afectan la calidad del agua potable, inicialmente se explicó el proceso de potabilización de agua, se identificaron los contaminantes químicos y microbiológicos, la cantidad límite en el agua potable y la técnica que se puede aplicar para cada uno de ellos, seguidamente se hizo una comparación entre las diferentes tecnologías existentes y por último se estudiaron nuevos métodos para la detección de contaminantes presentes en el agua potable.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN

Muchos acuíferos y aguas superficiales aisladas tienen una alta calidad de agua y pueden bombearse desde la red de suministro y transmisión directamente a cualquier número de usos finales, incluidos el consumo humano, el riego, y los procesos industriales, sin embargo, las fuentes de agua limpia son la excepción en muchas partes del mundo, en estos lugares, el suministro de agua debe recibir tratamiento antes de la distribución, pero, incluso después del proceso de potabilización siguen quedando en el agua impurezas que causan afectaciones para la salud, el bienestar y la calidad de vida de los consumidores.

Es un deber constitucional brindar agua apta para consumo, por esto el control de calidad durante todo el proceso de potabilización y la detección de compuestos antes de la distribución son indispensables, para garantizar a los consumidores un agua sin ningún tipo de riesgo en la salud, actualmente poblaciones de estratos bajos presenta enfermedades como hepatitis, el cólera, la fiebre tifoidea y enfermedades diarreicas agudas debido a la presencia de contaminantes en el agua suministrada para consumo (Ministerio de Salud y Protección Social, 2019).

La calidad del agua para consumo humano es un factor determinante en las condiciones de la salud de las poblaciones, sus características pueden favorecer tanto la prevención como la transmisión de agentes que causan enfermedades; la secretaria de salud analiza 22 parámetros del agua como son color aparente, turbiedad, calcio, alcalinidad total, cloruros, aluminio, dureza, hierro total, magnesio, manganeso, molibdeno, sulfatos, zinc, fosfatos, fluoruros, nitratos, nitritos, coliformes totales, coliformes fecales, *Escherichia coli*, pH y cloro residual, que son tomados en laboratorios autorizados mediante diferentes técnicas de detección, cada parámetro que obtenga un valor por fuera de los valores máximos aceptables tendrá una influencia en la evaluación del índice de riesgo de la calidad de agua para consumo humano (IRCA), la cual define si el agua tratada es inviable sanitariamente (80,1 a 100%), o presenta alto riesgo (35,1 a 80%), riesgo medio (14,1 a 35%), riesgo bajo (5,1 a 14%) y sin riesgo (0 a 5 %) (Ministerio de Salud y Protección Social, 2019).

Actualmente, en las poblaciones donde el índice IRCA es alto no se llevan a cabo acciones de prevención y/o tratamiento en los lugares, situación que conlleva principalmente a problemas de salud pública y problemas sanitarios en las regiones, debido a que no cuentan con los laboratorios para realizar análisis de detección de contaminantes (Ministerio de Salud y Protección Social, 2019).

3. OBJETIVOS

3.1.1.1. OBJETIVO GENERAL

Analizar las técnicas implementadas para la detección de contaminantes en el agua potable.

3.1.1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Explicar el proceso convencional de potabilización de agua.
- Identificar los contaminantes químicos y microbiológicos para el estudio de las técnicas.
- Realizar un estudio de las diferentes técnicas utilizadas para la detección de contaminantes en el agua.
- Estudiar nuevas técnicas para la detención de contaminantes presentes en el agua potable.

4. ESTADO ACTUAL

4.1. PROCESO DE POTABILIZACIÓN DE AGUA

Los procesos de una planta de tratamiento de agua potable (PTAP) típica se muestran en la figura 1, está diseñada para eliminar olores, color y turbidez, así como la mayor parte de bacterias y otros contaminantes, la transformación del agua cruda en agua potable, se conoce como proceso de potabilización de agua, el agua cruda que ingresa a una planta de tratamiento generalmente tiene una turbidez significativa causada por arcilla coloidal y partículas de limo, estas partículas llevan una carga electrostática que las mantiene en movimiento continuo y evita que colisionen y se peguen (Mariya N. Koleva, Songsong Liu, Craig Styantb, Lazaros Papageorgiou, 2016).

1. **Captación:** Es la llegada del agua a la planta potabilizadora, necesita un pre-tratamiento como aireación, desarenación y adsorción antes de empezar con el tratamiento principal (Salamanca, 2015).
2. **Coagulación:** Las partículas de origen natural suspendidas en el agua son difíciles de eliminar porque son muy pequeñas, a menudo de tamaño coloidal y poseen cargas negativas; por lo tanto, se les impide unirse para formar partículas grandes que se pueden asentar más fácilmente, por lo tanto se adiciona un coagulante, como sulfato de aluminio, para provocar la neutralización de partículas, en este proceso se realiza una agitación rápida para que el químico se mezcle con el agua y desestabilice las partículas suspendidas que van en ella (Edwin Hernández, Carlos Corredor, 2017).
3. **Floculación:** Este proceso consiste en una agitación lenta que por la adición del coagulante, las partículas se unen y logran mayor tamaño y peso, estas partículas se llaman flóculos o FLOCS (Edwin Hernández, Carlos Corredor, 2017).
4. **Sedimentación:** Cuando se han formado los flóculos, deben separarse del agua, esto se hace en tanques de sedimentación por gravedad que permiten que las partículas más pesadas que el agua se depositen en el fondo. Los tanques de sedimentación están diseñados para minimizar la turbulencia y permitir que las partículas caigan al fondo, por lo tanto, este proceso es la separación del agua de los flocs, ya que estos descienden por su propio peso otorgando al agua mayor claridad (Cárdenas, 2015).

5. **Filtración:** Es la etapa final del proceso de clarificación, el agua pasa a través de un medio poroso donde se retienen los flocs pequeños o partículas de turbidez que no fueron eliminados en el sedimentador, generalmente se usan filtros de arena con lechos de grava, a medida que el filtro elimina las impurezas, los granos de arena se ensucian y deben limpiarse. Por lo tanto, el proceso de filtración rápida de arena involucra dos operaciones: filtración y lavado a contracorriente (Johnatan Gutiérrez, Álvaro Ramírez, Rodrigo Rivas, Balmes Linares, 2015).
6. **Desinfección:** Consiste en la adición de cloro para destruir los microorganismos que puedan estar presentes; el agua lleva un “cloro residual”, que elimina cualquier elemento que pudiera contaminar el agua en su recorrido (Mohamed Farhaoui, Mustapha Derraz, 2016).
7. **Control de calidad:** Es el análisis del agua mediante ensayos de laboratorio para garantizar la calidad del agua distribuida a los consumidores (OSE, 2019).

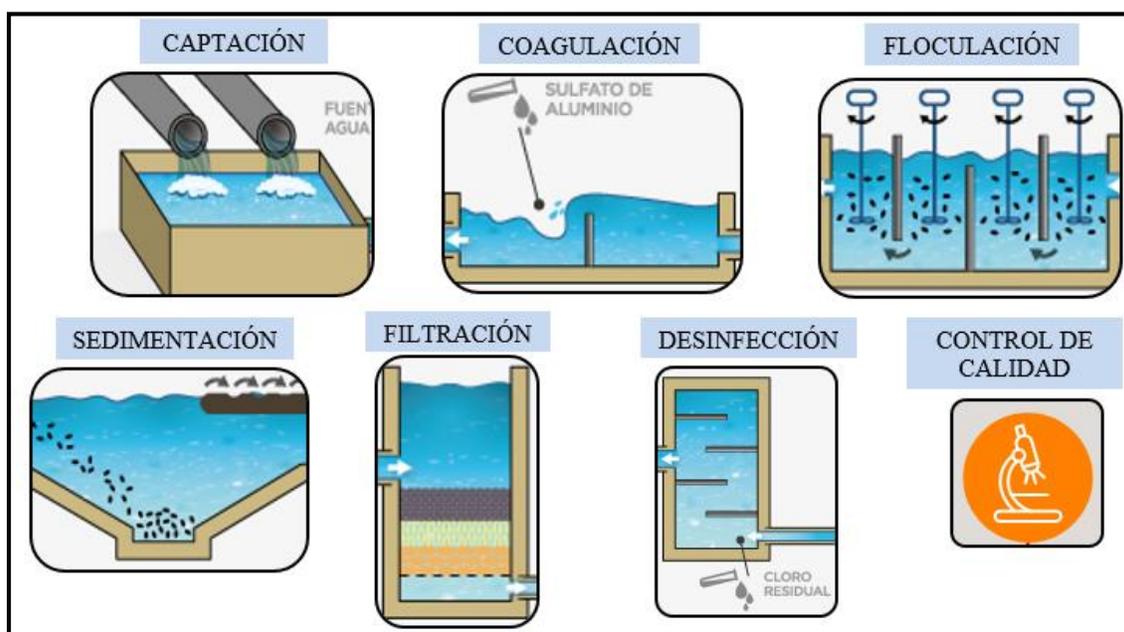


Figura 1. Procesos para la potabilización de agua

Fuente: Autor, Imágenes tomadas de (Aguas de Cartagena, 2020)

4.2. CONTAMINANTES DEL AGUA POTABLE

Los contaminantes biológicos y químicos en el agua potable inician la evolución de enfermedades contagiosas, úlceras gástricas y enfermedades pulmonares, también la existencia de actividad

patogénica en suministro del agua es amenaza para los humanos, según la Organización Mundial de la Salud (OMS), los microorganismos más comúnmente encontrados en las fuentes de agua potable son *Cryptosporidium*, *Legionella*, *Pseudomonas*, *Giardia* y *E. coli* (Andreas N. Angelakis, Shane A. Snyder, 2015); en la tabla 1 se muestran los contaminantes más comunes en el agua potable, el riesgo de salud y el valor admisible que se toma del Decreto 1575 de 2007 (Ministerio de la protección social, 2007).

Tabla 1. Contaminantes más comunes en el suministro de agua potable

Parámetro	Riesgo de salud	Valor límite
No biológicos		
Amoniaco	Irritaciones en los ojos, nariz y garganta, amenazas no mortales para los humanos.	0,5 mg/L
Arsénico	Muy tóxico para los humanos, alto riesgo de cáncer de piel.	0,01 mg/L
Bario	Dolor al tragar, úlcera	0,5 mg/L
Boro	Insuficiencia renal, depresión.	0,3 mg/L
Cloro	Toxicidad para los humanos, peligrosa	5 mg/L
Cromo	Irritación de la piel, daño renal, hepático.	0,01 mg/L
Cadmio	Peligroso para el ser humano, afecta el sistema respiratorio y la enfermedad ósea	0,003 mg/L
Plomo	Veneno acumulativo tóxico	0,01 mg/L
Mercurio	Muy tóxico, mortal en humanos	0,001 mg/L
Níquel	Cáncer de pulmón y nariz.	0,02 mg/L
Nitrato	Riesgo de cáncer de por vida.	10 mg/L
Sodio	Hipertensión arterial, enfermedades del corazón.	200 mg/L
Microbiológicos		
<i>Cryptosporidium</i>	Infecciones, fiebre, dolor de estómago, diarrea.	630 mL/L
<i>Escherichia coli</i>	Propiedades patogénicas, afectan la salud humana.	0 UFC*/mL
<i>Giardia</i>	Efecto en la salud humana, rara vez mortal	0 UFC*/L

<i>Legionella</i>	Riesgo de enfermedad del legionario y fiebre de Pontiac	100 UFC*/mL
<i>Pesticida</i>	Infección de ojos y oídos	0,1 µg/L
<i>Pseudomonas</i>	Hipertensión si se toma en exceso	500 UFC*/mL

*UFC – Unidades Formadoras de Colonia

Fuente: (Syahidah Zulkifli, Herlina Rahim, Woei-Jye Lau, 2017)

4.3. TÉCNICAS DE DETECCIÓN

Algunas técnicas convencionales comúnmente utilizadas para detectar contaminantes en las muestras de agua potable son: técnica de fermentación de tubos múltiples (MTF), método de filtración (MF), método del sustrato enzimático, técnicas de hibridación fluorescente in situ (FISH), reacción en cadena de la polimerasa (PCR), electroforesis capilar, cromatografía y espectrometría de masas. El MTF y MF se utilizan ampliamente como métodos estándar en la evaluación de la calidad del agua potable, en la detección de parámetros microbiológicos en el agua (Zhaodan Wang, Guosheng Xiao, Nong Zhou, Wenhua Qi, Lin Han, Yu Ruan, Dongqin Guo, Hong Zhou, 2015).

4.3.1. Convencionales para contaminantes microbiológicos

4.3.1.1. Fermentación de tubos múltiples (MTF)

Esta técnica es una de las más antiguas de laboratorio estándar que es utilizada para detectar la actividad microbiológica en muestras de agua, el objetivo de la prueba de coliformes totales o fecales es determinar la eficiencia de las operaciones de la planta de tratamiento, la integridad del sistema de distribución y garantizar la salud de los consumidores; para examinar agua potable se debe analizar una muestra de 100 mL, que se pueden tomar en 10 tubos replicados que contengan cada uno 10 mL o en 5 tubos replicados con 20 mL cada uno (Rodger Baird, Andrew Eaton, Eugene Rice, 2017).

La técnica MTF se ejecuta en un procedimiento de tres etapas que se conocen como etapa presunta, etapa confirmada y prueba completada, en la figura 2 se muestra un esquema para este método, cada etapa requiere diferente medio de cultivo, el caldo de lauril triptosa (lactosa) se usa en la primera parte de la prueba, en la fase de confirmación se utiliza caldo de bilis lactosa verde brillante (BGLB) y en la última un cultivo de agar nutritivo (Fundación Nacional de Salud, 2015).

- Etapa de presunción

Consiste en la incubación a 35°C por 24 horas (inicialmente) de tubos inoculados con fermentación primaria de cultivo de lauril triptosa, pasado ese tiempo examinan si existe formación de gases, ácido o formación de turbidez debido al crecimiento microbiano, para los tubos en los que no observaron cambio, continúa la incubación e inspeccionan de nuevo al final de 48 horas. La producción de una reacción ácida, gas o turbidez en los tubos constituye una reacción presunta positiva y se pasan a la fase de confirmación, todos los tubos que demuestren crecimiento, con o sin una reacción positiva de gas son pasados a la fase confirmada (Rodger Baird, Andrew Eaton, Eugene Rice, 2017).

- Etapa confirmada

Consiste en la incubación a 35°C por 48 horas de los tubos inoculados con fermentación secundaria de caldo biliar de lactosa verde brillante, la inoculación se realiza lo antes posible después de que se produzca la formación de gas en la fase presunta, si continúan con la formación de gas o ácido en cualquier momento en el tubo indica una prueba confirmada positiva y se estima el número más probable (MPN) (Kamlesh Soni, Ashwin Balasubramanian, Ali Beskok, Suresh Pillai, 2015).

- Prueba completada

Para confirmar la presencia de bacterias coliformes y como control de calidad del procedimiento, es necesario realizar la fase completada, en esta etapa una o más placas de eosina azul de metileno (EMB agar) o de desoxicolato y lauril sulfato (LES agar) son rayadas con muestra de al menos el 10% de los tubos positivos de la fase confirmada, se incuban durante 24 horas a 35°C. Después de la incubación se transfiere una o más colonias a un tubo de fermentación de caldo de lauril triptosa o de BGLB y a un tubo con inclinación de agar nutritivo, se incuban a 35°C durante 24 h, o durante 48 h si no se produce gas, al igual que todas las etapas, la formación de gas asegura la presencia de bacterias coliformes e indica que se realizó el procedimiento correctamente (Eiko Nagamachi, Yasuhiro Kanemasa, 2014).

La densidad de coliformes se estima usando una tabla de MPN, y se registra la concentración de coliformes como MPN/100 mL, esta tabla es basada en fórmulas de probabilidad, hay dos para agua potable (se enseñan en las tablas 2 y 3) y otras para aguas no potables, son una estimación de la densidad media de coliformes en la muestra, la precisión de la prueba de fermentación para

estimar la densidad de coliformes depende del número de tubos utilizados (Qiuhua Shen, Xiaojie Wang, Enfeng Chen, Zhenchao Ma , 2019).

Tabla 2. Índice de MPN y límites de confianza del 95% para todas las combinaciones de resultados positivos y negativos cuando se utilizan cinco porciones de 20 mL

Números de tubos que dan una reacción positiva de 5 (20 mL cada uno)	Índice MPN/100 mL	Límites de confianza del 95% (exactos)	
		Inferior	Superior
0	< 1.1	-	3.5
1	1.1	0.051	5.4
2	2.6	0.40	8.4
3	4.6	1.0	13
4	8.0	2.1	23
5	> 8.0	3.4	-

Tabla 3. Índice de MPN y límites de confianza del 95% para todas las combinaciones de resultados positivos y negativos cuando se usan diez porciones de 10 mL.

Números de tubos que dan una reacción positiva de 5 (20 mL cada uno)	Índice MPN/100 mL	Límites de confianza del 95% (exactos)	
		Inferior	Superior
0	< 1.1	-	3.4
1	1.1	0.051	5.9
2	2.2	0.37	8.2
3	3.6	0.91	9.7
4	5.1	1.6	13
5	6.9	2.5	15
6	9.2	3.3	19
7	12	4.8	24
8	16	5.8	34
9	23	8.1	53
10	> 23	13	-

Fuente: (Rodger Baird, Andrew Eaton, Eugene Rice, 2017)

Usando esta técnica, varios tipos de bacterias coliformes como *E. coli*, *Enterococos*, *Salmonella* y *Bacillus* podrían detectarse fácilmente en diferentes muestras de agua (Okonko Iheanyi Omezuruike, Adejoye Oluseyi Damilola, Ogunnusi Tolulope Adeola, Fajobi Enobong, Shittu Olufunke, 2015).

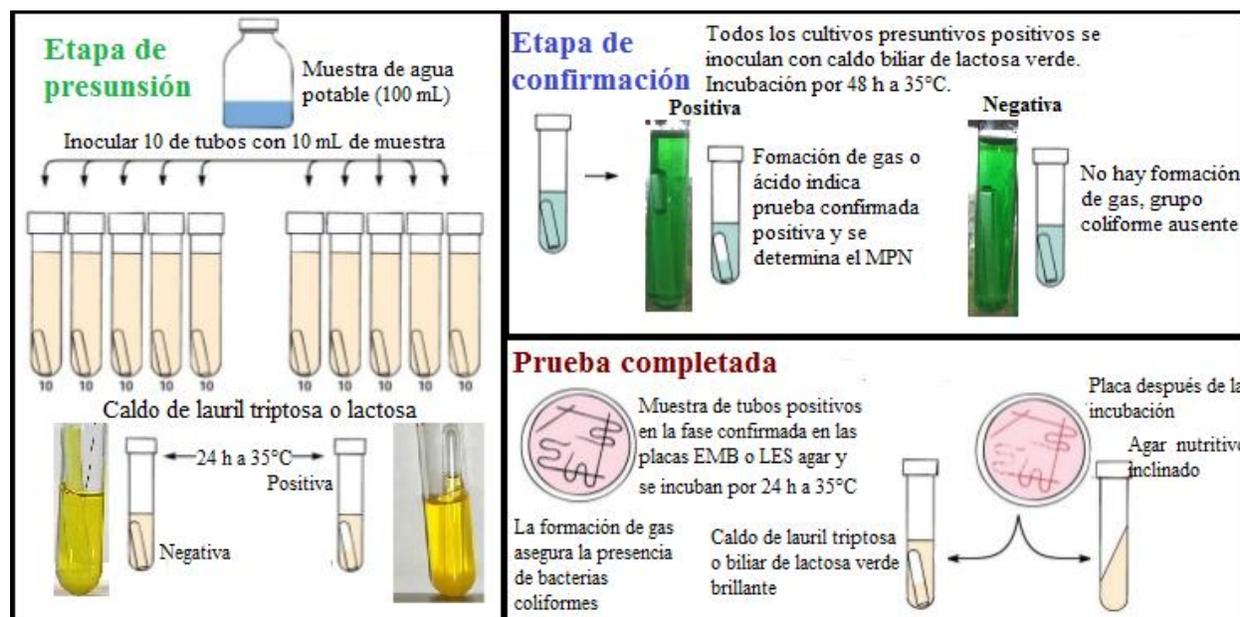


Figura 2. Esquema del procedimiento de la técnica de fermentación de tubos múltiples

Fuente: Autor, imágenes tomadas de (M. Umar, J. Kambai, I. Mohammed, J. Oko, A. Obafemi, K. Ajiya, A. Yaya, 2019)

4.3.1.2. Método de filtración por membrana (MF)

Esta técnica es capaz de aislar y eliminar colonias de microbiología discretas en un número relativamente grande de volumen de muestra en comparación con la técnica MTF, es totalmente aceptada y aprobada como un procedimiento para monitorear la calidad microbiana del agua potable (G.S. Ghugare, A. Nair, V. Nimkande, P. Sarode, P. Rangari and K. Khairnar, 2016).

Las muestras de agua potable se analizan filtrando de 100 a 1000 mL, o filtrando volúmenes de muestra más pequeños (por ejemplo, porciones duplicadas de 50 mL o réplicas de porciones de 25 mL), el agua se pasa a través de un filtro de membrana con un tamaño de poro de 0.45 μm , los microorganismos con un tamaño mayor que los poros de la membrana son retenidos en la superficie de la misma, se transfiere el filtro con las bacterias atrapadas a la superficie de un medio de cultivo específico, se incuba con el tiempo y temperatura adecuado según el tipo de

microorganismos que se necesite analizar, las células bacterianas atrapadas en la membrana crecerán en colonias que se pueden contar, y se puede calcular la densidad bacteriana de las muestras de agua, en la figura 3 se muestra el procedimiento de la técnica MF (IDEAM, 2007).

Para la detección de coliformes totales se usan los medios de cultivo Agar Chapman TTC y M - Endo agar, para coliformes fecales se utiliza agar M-FC y Agar Chapman, en la tabla 4 se muestra la temperatura, el tiempo de incubación y el color de formación de las colonias para cada uno de los cultivos (López, 2015).

El cálculo de la concentración de los microorganismos se obtiene de la ecuación 1, y se expresa en UFC/mL

$$\text{Coliformes} = \frac{\# \text{ de colonias}}{\text{Volumen de muestra original filtrado}} * 100 \quad \text{Ecuación 1}$$

Si la muestra se diluyó y se filtró el volumen de la dilución, el denominador será volumen de muestra original filtrado * factor de dilución (Rodger Baird, Andrew Eaton, Eugene Rice, 2017).

Tabla 4. Características de cada uno de los medios de cultivo para la detección de coliformes totales y fecales.

Medio de cultivo	Temperatura (°C)	Tiempo (horas)	Identificación de colonias
Coliformes totales			
Agar Chapman TTC	37	24	<i>Klebsiella</i> : color rojo ladrillo o naranja. <i>Enterobacter</i> : color rojo ladrillo o amarillo con centro naranja. <i>Escherichia i Citrobacter</i> : color amarillo con centro naranja. Todas estas colonias forman un halo amarillo en el agar subyacente.
M – Endo Caldo o agar	37	22 - 24	Color rosa a rojo oscuro con brillantez metálica, a menudo de aspecto verdoso. La brillantez metálica puede cubrir completamente la colonia o concentrarse en el centro.

Coliformes fecales			
Agar Chapman	44,5	24	<i>Escherichia coli</i> : color azul característico.
M-FC	44,5	22 - 24	Coliformes fecales: color azul oscuro o violeta.

Fuente: (Rijal, 2019)

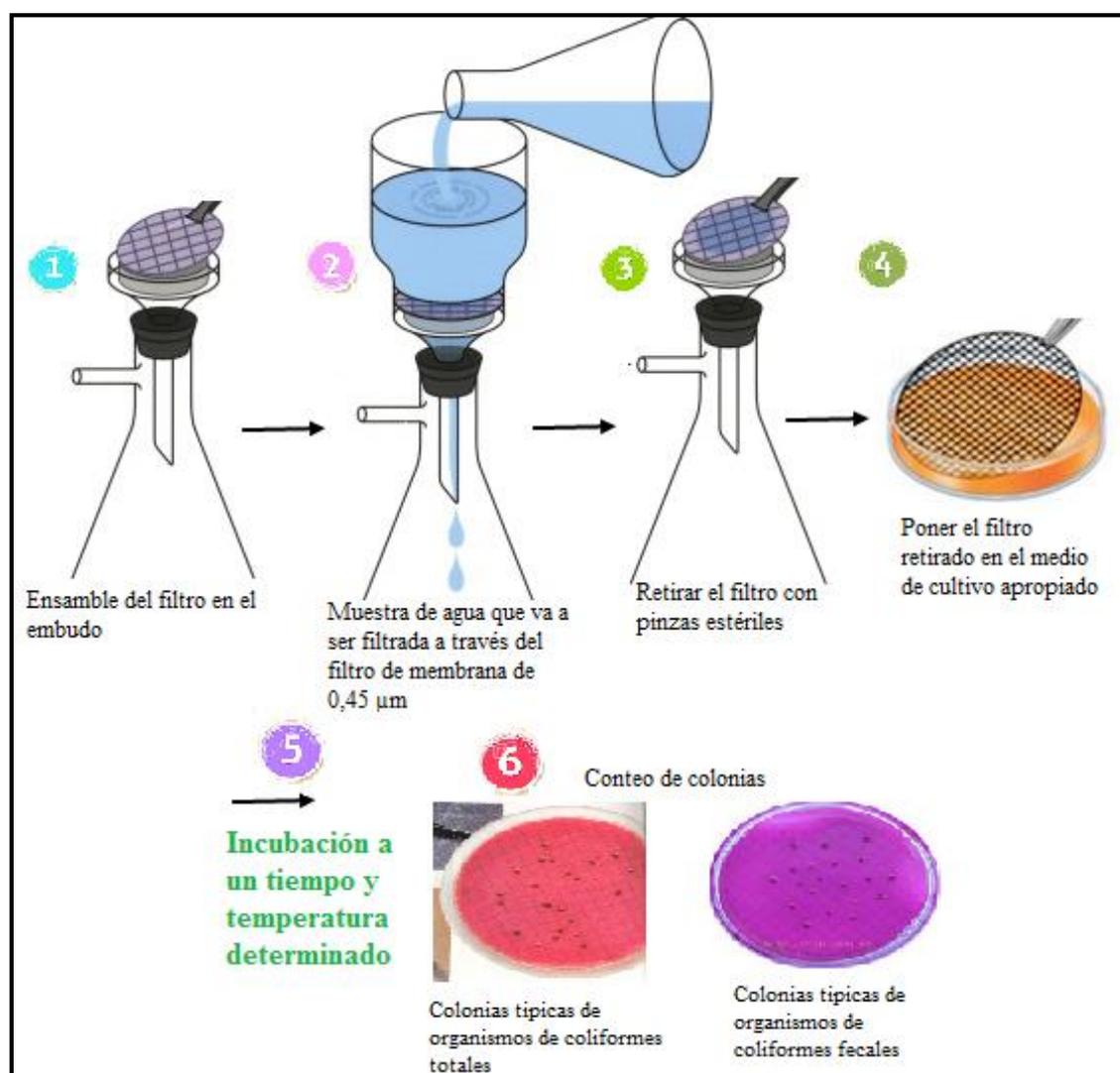


Figura 3. Procedimiento de la técnica de filtración por membrana

Fuente: Autor, imágenes tomadas de (Rijal, 2019)

4.3.1.3. Método del sustrato enzimático

Un enfoque alternativo y más sensible para detectar coliformes se basa en reacciones enzimáticas, las pruebas de sustrato enzimático utilizan sustratos cromogénicos (producen color) y

fluorogénicos (producen fluorescencia) hidrolizables para detectar simultáneamente enzimas producidas por coliformes totales y *Escherichia coli* (*E. coli*); el análisis se puede realizar con una muestra de 100 mL o con 10 tubos de 10 mL, se agrega uno de los dos sustratos cromogénicos más utilizados: orto-nitrofenil- β -d-galactopiranosido (ONPG) y clorofenol rojo- β -d-galactopiranosida (CPRG) para detectar la enzima β -d-galactosidasa (β -GAL), que es producida por bacterias coliformes totales; y el sustrato fluorogénico 4-metil-umbeliferil- β -d-glucurónido (MUG) se utiliza para detectar la enzima β -d-glucuronidasa (β -GLU), que es producida por la mayoría de las cepas de *E. coli*, las muestras permanecerán incubadas a 35°C durante 18 – 24 h, después del período de incubación se examinan los tubos o recipientes para ver el cambio de color apropiado, ONPG es hidrolizado por la enzima bacteriana para producir un color amarillo, CPRG es hidrolizado por la enzima bacteriana para producir un color rojo o magenta, las muestras son negativas para coliformes totales si no se observa color en las pruebas de ONPG o si el tubo es amarillo cuando se usa CPRG, si una respuesta cromogénica es cuestionable después de 24 h para ONPG, se debe incubar hasta 4 h adicionales, para el caso de interpretación de *Escherichia coli*, la enzima β -d-glucuronidasa hidroliza el sustrato fluorogénico que produce fluorescencia azulada y se examinan los tubos de coliformes totales positivos para fluorescencia usando una lámpara ultravioleta de longitud de onda larga (365 nm, bombilla de 6 W), la presencia de fluorescencia es una prueba positiva para *E. coli*, juntos, el cambio de color (debido a β -GAL) y la fluorescencia (debido a β -GLU) indican que una muestra contiene *E. coli* (Sabiha Tok, Kevin de Haan, Derek Tseng, Can Firat Usanmaz, 2019) .

4.3.1.4. Técnicas de detección de coliformes por métodos moleculares

En la Tabla 5, se comentan las principales aplicaciones, ventajas y desventajas de las técnicas basadas en métodos moleculares más comúnmente utilizadas para estudiar microorganismos en los sistemas de distribución de agua potable.

Tabla 5. Técnicas moleculares para detectar microbianos en el agua potable

Método	Descripción	Aplicación	Ventajas	Desventajas
Técnicas de huellas digitales DGGE / TGGE	Basadas en PCR proporcionan una estructura	- Monitoreo de comunidades microbianas a lo	- Perfilado rápido de variabilidad	- Sesgo asociado con PCR

<p>SSCP, T-RFLPs</p> <p>Análisis de espacio intergénico ribosómico (RISA / ARISA)</p> <p>Longitud Heterogeneidad PCR (LH-PCR)</p>	<p>comunitaria basada en la variación de la secuencia de ADN (longitud y secuencia de nucleótidos)</p>	<p>largo del tiempo y / o en respuesta a cambios en las condiciones ambientales.</p>	<p>espacio-temporal</p> <ul style="list-style-type: none"> - Análisis simultáneo de gran cantidad de muestras. - Las bandas en geles DGGE/ TGGE y SSCP se pueden cortar, amplificar y secuenciar 	<ul style="list-style-type: none"> - Solo se detectan especies predominantes - Sin identificación taxonómica directa - Consume mucho tiempo, requiere un análisis de muestras posterior a la PCR - Análisis de secuencias cortas - DGGE, difícil comparación entre geles - T-RFLP y ARDRA; resolución difícil de perfiles microbianos
<p>Hibridación fluorescente in situ (FISH) y deposición catalizada de reportero FISH (CARD-FISH)</p>	<p>Las sondas de oligonucleótidos de rRNA fluorescentes se utilizan para la detección in situ y la enumeración de microorganismos.</p>	<p>Detección específica y abundancia de microorganismos en agua potable.</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Identificación filogenética - Visualización de microorganismos no cultivables. - Altamente sensible y cuantitativo - Detección de diferentes 	<ul style="list-style-type: none"> - Se requiere información de secuencia para el diseño de la sonda y la detección específica - Difícil de diferenciar entre células vivas y muertas

			microorganismos simultáneamente mediante el uso de múltiples tintes fluorescentes.	- Difícil accesibilidad al gen objetivo
Clonación y secuenciación	Extracción de ácidos nucleicos, amplificación y clonación del gen de interés en un vector, seguido de secuenciación y asignaciones taxonómicas utilizando bioinformática.	Análisis de la comunidad microbiana del agua potable.	Análisis taxonómico y filogenético.	- Lento y laborioso - Semicuantitativo - La secuencia de un número limitado de clones describe solo el miembros dominantes de las comunidades microbianas
Técnicas de secuenciación de alto rendimiento (Roche 454 FLX, Illumina / Solexa Genome Analyzer, etc.)	Las bibliotecas de fragmentos de ADN se amplifican y secuencian usando plataformas masivamente paralelas	Análisis de diversidad y estructura microbiana en agua, y medidores de agua.	- Más rápido y menos costoso que la secuenciación tradicional de Sanger. - Se pueden combinar varias muestras en una ejecución	Análisis de datos de alto costo y tiempo.

Matriz de chips de ADN / micro matrices ADN / ARN	Los amplicones de PCR fluorescentes se hibridan con sondas moleculares conocidas unidas en las micromatrices	<ul style="list-style-type: none"> - Análisis funcional de la comunidad. - Detección de patógenos e indicadores fecales. 	<ul style="list-style-type: none"> - Sin sesgo asociado con PCR. - Evaluación rápida con replicación - La intensidad de la señal de hibridación es proporcional a la abundancia de los organismos objetivo. 	Se necesita personal muy costoso y altamente capacitado para el análisis de datos
PCR cuantitativa (Q –PCR) o tiempo real (RT – PCR)	Utiliza sondas fluorescentes intercaladas (TaqMan) o colorantes (SYBR Green) para medir la acumulación de amplicones en tiempo real durante cada ciclo de la PCR	<ul style="list-style-type: none"> - Detección de patógenos e indicadores fecales. - Abundancia y expresión de genes taxonómicos y funcionales (por ejemplo, desnitrificadores y reductores de sulfato) 	<ul style="list-style-type: none"> - Altamente sensible y cuantitativo. - Cuantificación genética rápida y precisa 	RT-PCR; difícil de obtener ARN suficiente y de buena calidad
Biosensores	Detección directa de microorganismos	Detección de indicadores fecales.	Detección rápida	- Depende del cultivo de los microorganismos.

	mediante técnicas de inmunoensayos, óptica integrada y química de superficie.			- No discriminación entre microorganismos vivos y muertos.
--	---	--	--	--

Fuente: (Isabel Douterelo, Joby Boxall, Peter Deines, Raju Sekar, Katherine Fish, Catherine Biggs, 2015).

4.3.1.5. Técnicas de Hibridación Fluorescente In Situ (FISH)

Esta técnica de laboratorio combina la biología molecular con las técnicas histoquímicas, las cuales utilizan sondas de oligonucleótidos marcadas con fluorocromos para la detección de ploidias y reordenamiento genómico, cromosomas metafásicos, bacterias y microorganismos. La técnica FISH es un método que utiliza un tinte fluorescente el cual se une a una pieza de ADN purificado, permitiendo así una identificación rápida y específica de células microbianas (Batte M., Mathieu L., Laurent P., Prevost M., 2015). Existen dos tipos de marcaje para localizar una, dos o tres secuencias apropiadas para el método las cuales son:

- Marcaje indirecto: ligación de biotina-avidina o digoxigenina al oligonucleótido, las cuales mediante anticuerpos combinados con fluorocromos los reconocen.
- Marcaje directo: Ligación de los fluorocromos a la sonda de oligonucleótidos, a diferencia de la anterior no muestran una señal suficientemente intensa (J. Baudart, P. Lebaron, 2015).

La hibridación consiste en la unión de dos cadenas sencillas de ácidos nucleicos que da origen a estructuras las cuales pueden ser híbridos ADN-ADN, ADN-ARN, ARN-ARN. El apareamiento se da por complementariedad de bases a través de los puentes de hidrógeno que se forman entre adenina-timina (ADN) o uracilo (ARN) y citosina-guanina (ADN y ARN). Las bacterias y arqueobacterias contienen ARNr de 5S, 16S y 23S, con tamaños aproximadamente de 120, 1500 y 3000 nucleótidos respectivamente. En microbiología la molécula diana más utilizada para FISH es el ARNr 16S, ya que se puede hallar en todos los organismos vivos, es relativamente estable y presenta un elevado número de copias, habitualmente algunos miles por célula y además contiene regiones tanto variables como muy conservadas (Fidson Vesga, Yolanda Moreno, Antonia Ferrús, Claudia Campos, Alicia Trespalciosa, 2018).

4.3.2. Convencionales de contaminantes no biológicos

4.3.2.1. Método titulométrico

Este método consiste principalmente en un análisis cuantitativo mediante el cual se determina la concentración de una solución, frecuentemente se aplica en las técnicas electroquímicas. Generalmente se emplea para medir la alcalinidad del agua en el proceso de tratamiento, para la medición de cloruros, también contribuye en la determinación de la dureza y la medición de pH (Souza Viana, Vasconcelos Leite, Samuel Ferreira, 2011).

Medición de cloruros

Generalmente los cloruros están presentes en concentraciones que pueden variar de trazas hasta mg/L, están presentes en forma de cloruro de sodio, calcio y magnesio, el valor máximo permitido es de 250 mg/L para el agua potable, el proceso para la medición se presenta en la figura 4, utiliza cromato de potasio (K_2CrO_4) como indicador en la valoración de iones cloruro con una solución estándar de nitrato de plata, después de que todo el cloruro se precipita como cloruro de plata blanco, el primer exceso de titulante da como resultado la formación de un segundo precipitado de cromato de plata rojo ladrillo, que señala el punto final, este método se utiliza generalmente en una solución neutra o ligeramente alcalina, cuando se origina el precipitado color rojo – anaranjado se toma lectura de la cantidad de nitrato de plata utilizado para la titulación, se aplica la ecuación 2 para determinar la cantidad de cloruros (en gramos por litro) que se encuentran en la muestra de agua potable (American Public Health Association (APHA), American Water Works Association (AWWA), Water Pollution Control Federation (WPCF), 2016).

$$Cl(g/L) = \frac{(V_{AgNO_3} - V_{blanco}) * M_{AgNO_3} * 35.45}{V_{muestra}} \quad \text{Ecuación 2}$$

Donde:

V_{AgNO_3} es el volumen del titulante (nitrato de plata) gastado en la muestra (en L)

V_{blanco} es el volumen del titulante gastado en el blanco (en L)

M_{AgNO_3} es la molaridad del titulante (mol/L)

$V_{muestra}$ es el volumen de muestra a analizar (L)

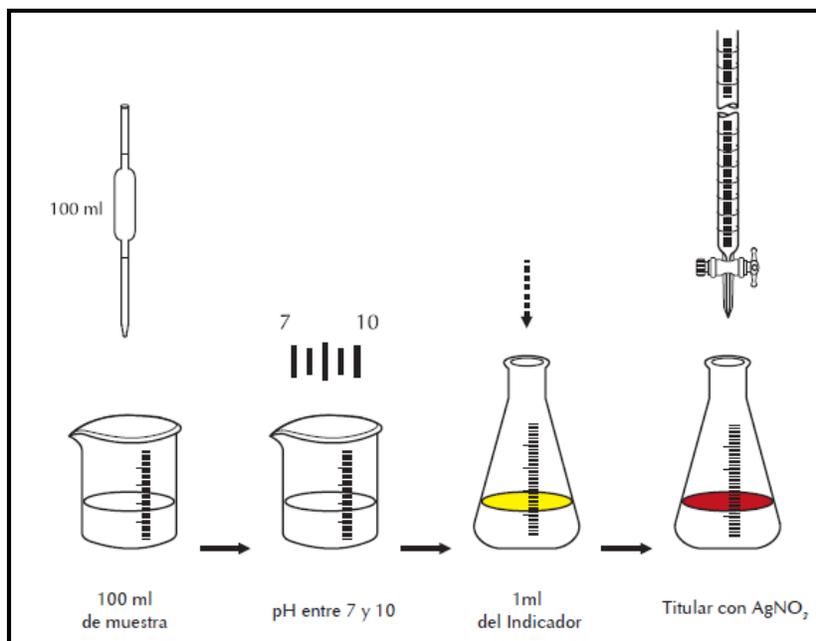


Figura 4. Proceso titulométrico para la medición de cloruros

Fuente: (Fundación Nacional de Salud, 2015)

4.3.2.2. Método colorimétrico

Particularmente este método es muy útil para determinar niveles de nitrógeno orgánico inferiores a 5 mg/L, debido a la alta sensibilidad que presenta. Existen tres colores fundamentales: rojo, azul y verde, en este método el detector es el ojo humano y de esta manera no se puede aplicar la ley de Lambert – Beer, ya que no se habla de un rayo incidente y además este presenta un error del 5% y se realiza mediante soluciones con concentraciones conocidas, generalmente se utiliza para medir concentraciones de cloro residual libre, color, concentración de aluminio, turbidez, temperatura, fluoruros, entre otros (Bolaños, 2016).

4.3.2.3. Espectrometría de masas

La espectrometría de masas (MS) es una herramienta analítica que requiere pequeñas cantidades de muestra para generar partículas cargadas en forma de iones y medir su relación masa a carga para poder cuantificar compuestos conocidos, identificar compuestos desconocidos, obtener la estructura y propiedades químicas del analito; el espectrómetro de masas normalmente se acopla con una cromatografía de gases (GC) o una cromatografía líquida (LC) y se utiliza como detector; es decir, la separación de la muestra se logra mediante cromatografía y los compuestos separados

ingresan al espectrómetro secuencialmente para la ionización, separación y detección de los iones generados (Mariana Almeida, Tiago Madeira, Lycio Watanabe, Paulo Cesar Meletti, 2019).

La espectrometría de masas por cromatografía de gases (GC - MS) es el método para identificar compuestos volátiles en mezclas complejas, el compuesto debe ser suficientemente volátil y térmicamente estable, el procedimiento implica la preparación de la muestra para eliminar los efectos de adsorción indeseables que podrían afectar la calidad de los datos obtenidos, y la inyección de la solución de la muestra en la entrada del cromatógrafo de gases donde se vaporiza y se transporta a una columna cromatográfica por el gas portador (generalmente helio), la muestra fluye a través de la columna y los compuestos que comprenden la mezcla de interés se separan en virtud de su interacción relativa con el recubrimiento de la columna (fase estacionaria) y el gas portador (fase móvil), en este tipo de cromatografía existen dos métodos potenciales para la producción de iones: la ionización electrónica (EI) e ionización química (CI), esta técnica es la más utilizada en estudios de contaminantes en agua potable como insecticidas, pesticidas, subproductos de desinfección (Guilherme Sabin, Osmar Prestes, Martha Adaime; Renato Zanella, 2015).

La espectrometría de masas por cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC – MS), como su nombre indica, la instrumentación comprende un cromatógrafo de líquidos de alto rendimiento (HPLC) conectado, a través de una interfaz adecuada, a un espectrómetro de masas (MS), analiza los compuestos que son térmicamente lábiles y que exhiben alta polaridad o tienen una alta masa molecular, la solución de interés se inyecta en una columna de HPLC que comprende un tubo estrecho de acero inoxidable (generalmente 150 mm de longitud y 2 mm de diámetro interno, o más pequeño) lleno de finas partículas de sílice modificadas químicamente, los compuestos se separan en función de su interacción relativa con el recubrimiento químico de estas partículas (fase estacionaria) y el disolvente que se eluye a través de la columna (fase móvil), las dos interfaces más comunes utilizadas para HPLC - MS son las interfaces de ionización por electropulverización y de ionización a presión atmosférica (J. Boyd, S. Hrudey, S. Richardson, X. Li, 2016).

Después de que el analito pasa por cromatografía, se realiza la adquisición de una carga eléctrica (generalmente positiva) mediante ionización, en este proceso, el analito pierde algunos electrones y se fragmenta dando diferentes iones, radicales y moléculas neutras que son entonces conducidos a alta velocidad por un tubo curvado en el que existe un campo magnético y llevados a un detector

que recoge los impactos de dichos iones en función de la relación carga/masa de los mismos, cada compuesto es único, y cada uno de los compuestos se ionizará y fragmentará de una determinada manera, y en este principio se basa la espectrometría de masas para identificar cada analito (Izabela Sokolowska, Jingjie Mo, Fatie Rahimi, Carol McVean, Lars Meijer, 2020).

Existen varios métodos de ionización como: por impacto de electrones (EI), ionización química (CI), ionización química a presión atmosférica (APCI), ionización por electropulverización (ESI), e ionización por desorción láser asistida por matriz (MALDI), el más usual es por electropulverización y/o impacto de electrones (Sharad, 2018).

4.3.2.4. Electroforesis Capilar

Es una técnica sencilla y selectiva que consiste de dos electrodos de platino colocados en una disolución tampón ubicados en los extremos de un capilar de sílice, así mismo se encuentran con un voltaje de 20-30 KW los cuales generan la movilidad de los aniones hacia el polo positivo, ordenándose en función de su relación carga radio. La electroforesis capilar permite la detección y separación de contaminantes presentes en el agua potable ya que utiliza detectores muy sensibles, la ventaja de esta técnica es debido a que el capilar se cubre con una capa de polimina la cual permite que pase la luz UV (Domínguez, 2020)

4.4. NUEVAS METODOLOGIAS PARA LA DETECCCIÓN DE CONTAMINANTES EN EL AGUA POTABLE

Existen varias técnicas de monitoreo del agua, que incluyen análisis instrumental convencional (análisis de laboratorio), enfoque de colocación de sensores, detección de eventos basada en modelos, dispositivos microfluídicos, enfoque espectroscópico y biosensores, la selección de técnicas de detección adecuadas depende en gran medida del propósito del análisis de detección previsto (B. Højris, S. N. Kornholt, S. C. B. Christensen, H.-J. Albrechtsen, L. S. Olesen, 2018).

4.4.1. Nuevas técnicas para contaminantes microbiológicos

4.4.1.1. Dispositivo microfluídico para la detección de *Escherichia Coli* mediante enfoque dielectroforético

Este dispositivo microfluídico combina el enfoque celular y la detección dielectroforética, el cual consiste en una región de enfoque que utiliza dielectroforesis positiva (pDEP) y una región de detección de *E. coli* que realiza mediciones de impedancia dielectroforética, además cuenta con

un software comercial para la simulación numérica (COMSOL 4.3; COMSOL, Inc., Burlington, MA, EE. UU.), para su aplicación se prepara la muestra a 37°C durante 24 horas en condiciones anaerobias. El dispositivo se ubica en un microscopio para controlar el movimiento de *E. Coli* en el canal microfluídico, se suministra voltaje al electrodo sensor y al electrodo de enfoque, las células quedan fácilmente atrapadas por la fuerza de pDEP ya que la fuerza hidrodinámica en la pared del canal es baja (Myounggon Kim, Taekeon Jung, Youngjin Kim, Changgeun Lee, Kyungchul Woo, Jae Hun Seol, Sung Yang, 2015) .

4.4.1.2. Detección de helicobacter pylori utilizando técnicas moleculares y culturales

Esta técnica de detección se implementa bajo la reacción en cadena de polimerasa cuantitativa en tiempo real (qPCR) en combinación con la hibridación fluorescente in situ (FISH), actualmente se utiliza para detectar *H pylori* en diferentes tipos de agua debido a la alta sensibilidad de la reacción, ya que correlaciona el producto de cada uno de los ciclos con una señal de intensidad fluorescente, permitiendo así un amplio rango de detección, ya que es capaz de cuantificar e identificar concentraciones de ácidos nucleicos. El ADN se purifica a partir de una alícuota la cual se desnaturaliza a 95°C durante 10 minutos, el ADN de la cepa se usa como control positivo y la mezcla de qPCR sin ADN como control negativo y teniendo ya todo previamente montado se realiza la detección basada en fluorescencia verde como se muestra en la figura 5 (Fidson Vesga, Yolanda Moreno, Antonia Ferrús, Claudia Campos, Alicia Trespalciosa, 2018).

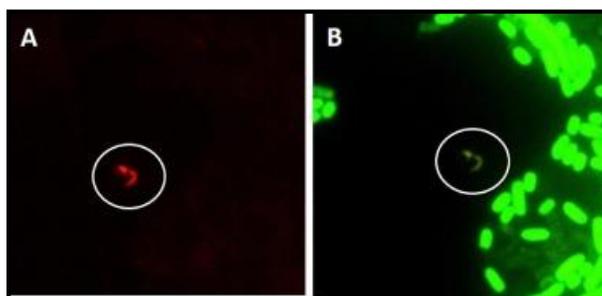


Figura 5. Detección de *H pylori* por FISH

Fuente: (Fidson Vesga, Yolanda Moreno, Antonia Ferrús, Claudia Campos, Alicia Trespalciosa, 2018)

4.4.1.3. Detección en línea de *Escherichia coli* en un sistema de distribución de agua potable a escala piloto

Este sistema se establece mediante intrusiones de *E. coli*, se realizan mediciones mediante un conjunto de sensores en línea para conductividad eléctrica (CE), pH, temperatura, turbidez,

absorbancia UV a 254 nm (UVAS SC) y se utiliza un dispositivo para contar partículas. Este sistema se centra en la detección de cambios en la calidad de agua causados por una concentración de 1×10^6 UFC/mL el cual es capaz de medir desde un tamaño de partículas mayores a $1 \mu\text{m}$, para su operación se requiere de una selección relevante de parámetros, una calibración y mantenimiento adecuado de los instrumentos. Las mediciones en línea detectan de forma exitosa la presencia de microorganismos en el agua potable, debido a la alta sensibilidad para registrar cambios en la calidad del agua potable (Jenni Ikonen, Tarja Pitkanen, Pascal Kosse, Robert Ciszek, Mikko Kolehmainen, Ilkka Miettinen, 2017)

4.4.1.4. Enfoque electroanalítico para la detección de coliformes

Las técnicas electroanalíticas se basan en los ensayos de β - GAL y β - GLU, enzimas que son intrínsecas a las bacterias indicadoras coliformes y *E. coli*, ya que siguen el mismo patrón de los ensayos colorimétricos, pero además utiliza una etiquetas con una funcionalidad redox la cual emplea la misma estrategia en tres etapas: incubación, permeabilización de la célula, lisis e hidrólisis de sustrato marcado. Esta tiene una ventaja crucial sobre las demás ya que tiene la capacidad de inducir la expresión de la enzima dentro de la bacteria durante las etapas de incubación e implica la adición de tirosinasa. El uso de la enzima B-GAL es fundamental para la detección ya que hidroliza la etiqueta fenólica y sirve como sustrato para la tirosinasa. La reacción se lleva a cabo mediante la conversión de fenol monofenólico a 1,2-quinona, que puede reducirse electroquímicamente a 1,2-dihidroxi, este último se reoxida enzimáticamente la cual ofrece una mayor sensibilidad (Teri Bigham, James Dooley, Nigel Ternan, William Snelling, Hector Castelan, James Davis, 2019)

4.4.1.5. Detección de concentración de las bacterias de *E. coli* en plantas de tratamiento de agua potable a través de una nariz E y un sistema de extracción de volátiles (VES)

Esta técnica consiste en la detección de *E. coli* a través de una nariz E y un sistema de extracción de volátiles, para su ejecución se realiza una preparación de cepas bacterianas y se lleva a cabo un muestreo de control. Inicialmente se preparan 10 mL de una suspensión bacteriana a una concentración de 3×10^8 UFC/mL sobre agua estéril. Para esto, se cultivan colonias aisladas en agar nutritivo a 35 ± 2 °C durante 18-24h, este sistema tiene en cuenta la combinación de tiempo de incubación y temperatura para aumentar la concentración de analitos volátiles. El objetivo de

este proceso flexible y fácil es mantener una temperatura de 50 °C, así mismo generar componentes volátiles a una fase de vapor, este método utiliza diferentes subsistemas acoplados al sistema VES como: sensores de gas, técnica de extracción de características, métodos de discriminación y clasificación de datos, mediante la aplicación de estos y el uso de la técnica para el análisis de componentes principales (PCA) se redujo el tiempo para la detección de concentración de *E. coli* en agua potable a 30 minutos, en la figura 6 se muestra una comparación en el tiempo de respuesta entre el método convencional y esta técnica implementada (Jeniffer Carrillo, Cristhian Durán, Ramón García, 2019).

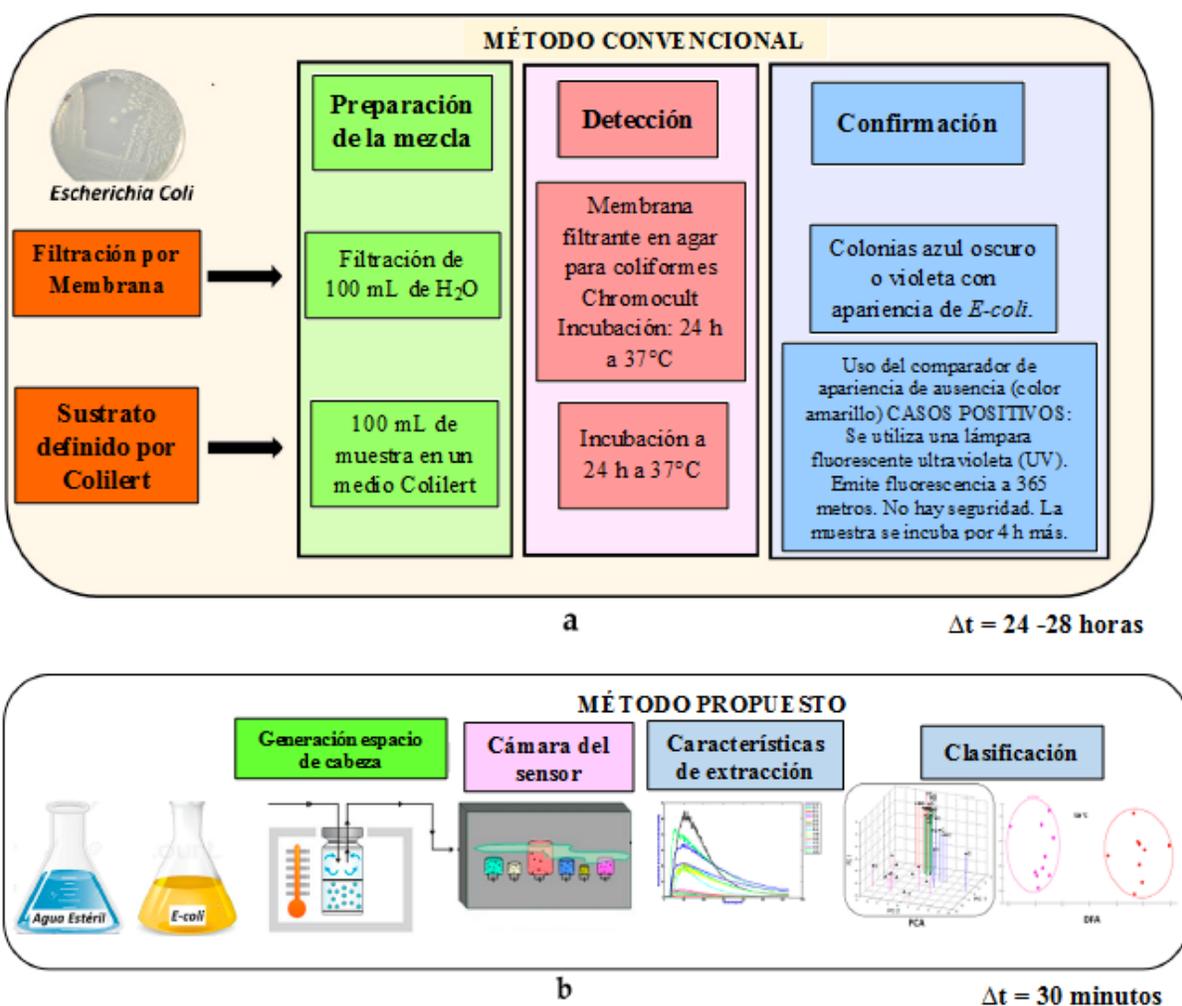


Figura 6. Comparación del tiempo de respuesta: (a) Método convencional y (b) método de una nariz *E* con sistema de extracción de volátiles.

Fuente: (Jeniffer Carrillo, Cristhian Durán, Ramón García, 2019)

4.4.2. Nuevas tecnologías para contaminantes no biológicos

4.4.2.1. Electroforesis capilar acoplada a espectrometría de masa con electrospray para la determinación de compuestos de arsénico orgánicos e inorgánicos en muestras de agua.

Debido a los bajos niveles para la determinación de especies de arsénico en muestras de agua potable se desarrolló esta técnica, que consiste en electroforesis capilar (CE) acoplada a espectrometría de masas por electroaspersión (ESI-MS) para la identificación y cuantificación simultánea de especies de arsénico orgánico e inorgánico en muestras de agua para consumo humano. Para este sistema los compuestos objetivos fueron dimetilarsinato (DMA), monometilarsinato (MMA), arsenito (i-As(III)) y arseniato (i-As(V)), también se utilizó hexafluoro-2-propanol (HFIP) como aditivo (Domínguez, 2020)

Esto se lleva a cabo con un medio de separación electroforético que contiene una mezcla de HFIP y amoníaco, mientras la interfaz de electrospray se utiliza en modo negativo, ya que proporciona una alta sensibilidad de especiación de arsénico, adicionalmente se realiza el control de los dispositivos mediante el software Agilent HP Chemstation, versión B.04.01. Las ventajas que presenta esta técnica son la preparación rápida de la muestra y la determinación del grado de contaminación total de arsénico, al mismo tiempo se obtiene una mejor sensibilidad y eficiencia de separación (Domínguez, 2020).

4.4.2.2. Extracción en fase sólida y cromatografía líquida- espectrometría de masas para la detección de drogas y productos farmacéuticos en el agua potable.

Este método se basa en la extracción en fase sólida (SPE), seguido de cromatografía líquida-espectrometría de masas (LC-MS), la cual presenta unos límites de detección y cuantificación comprendidos entre 0.01 y 1.09 ng/L y 0.02-3.64 ng/L respectivamente. Inicialmente se preparan soluciones madre individuales en metanol 1mg/mL, de igual manera se preparan los patrones de cada producto a detectar, cada uno de 0.1 mg/mL en metanol o acetonitrilo, seguidamente se almacenan a -20 °C y los patrones internos se agregan a patrones mixtos con concentraciones de 5, 0.1 y 0.75 ng/mL. Las muestras se acondicionan con 2mL de metanol y se equilibran con 2mL de ácido clorhídrico al 0.1M, seguidamente se acidifican 200mL de muestra de agua con ácido clorhídrico y se pasa a través del cartucho SPE, posteriormente se realiza una elución con 2mL de isopropanol al 15%, etilo al 85%, 2mL de hidróxido de amonio al 10%, isopropanol al 20%, acetato

de etilo al 70% en viales sinalizados. Los extractos se evaporan y se reconstituyen con 0.1mL de disolvente de inyección LC-MS (0.5% de ácido fórmico, 5% de acetonitrilo, 94.5% de agua potable). El análisis de cromatografía líquida- espectrometría de masas se lleva a cabo mediante un sistema de ultra alto rendimiento, el cual consta de una bomba, un inyector automático, un detector de matriz de fotodiodos y un horno de columna, además se necesita de dos columnas analíticas, una para la identificación y cuantificación, y la otra de bifenilo para la confirmación, cada una de estas se trabaja con un caudal de 0.2mL/min y un volumen de inyección de 10 μ L con el horno e inyector ajustados a 30 ° C y 10 °C respectivamente. La MS con una fuente de ionización por electropulverización (ESI) se usa en modo positivo, se fijan las condiciones de interfaz como temperatura a 350 °C, temperatura de línea de desolvatación (DL) 250 °C, temperatura del bloque térmico 200 °C, flujo de gas nebulizador 1.5L/min, flujo de gas de secado 15L/min. La adquisición de datos se efectúa a través de un monitoreo de iones seleccionados (SIM). Esta técnica es de menor costo en comparación a otras utilizadas para la detección de drogas y productos farmacéuticos, con esta se mejora la sensibilidad y selectividad para la identificación de dichos compuestos (Yan Peng, Lata Gautam, Sarah Hall, 2019).

4.4.2.3. Un nuevo enfoque basado en PCA para construir clasificadores de sensores integrados para la detección de contaminantes del agua.

Este enfoque permite la detección de contaminantes presentes en el agua potable mediante un sistema de clasificación ad-hoc y se implementa con sensores de bajo costo. Primero se proyectan los datos de entrada de los sensores en un espacio tridimensional utilizando el algoritmo PCA, posteriormente se dispone de un clasificador los contaminantes, los experimentos se realizan con contaminantes como ácido sulfúrico y fosfórico. El modelo es simple y puede implementarse fácilmente, ya que la transformación PCA está representada por una matriz $N \times 3$, donde N es el número de características extraídas, en cuanto a la clasificación de las características se necesitan de multiplicaciones y sumas $C \times 3$, donde C es el número de contaminantes a discriminar, siendo efectivo para resolver problemas difíciles y no lineales. Esta técnica consiste en un cono tridimensional cuyo vértice coincide con el origen del sistema de referencia xyz, este modelo adopta una estrategia de uno contra todos, donde el cono Γ se encarga de la detección del contaminante γ , donde los puntos internos del cono pertenecen a γ mientras los externos

pertenecen a uno de los otros contaminantes como se puede ver en la figura 7 (Claudio De Stefano, Luigi Ferrigno, Francesco Fontanella, Luca Gerevini, Alessandra Scotto di Freca, 2020)

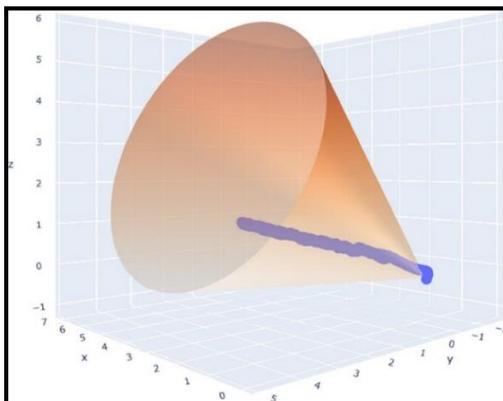


Figura 7. Sistema de cono relacionado con los puntos internos de del contaminante.

Fuente: (Claudio De Stefano, Luigi Ferrigno, Francesco Fontanella, Luca Gerevini, Alessandra Scotto di Freca, 2020)

4.4.2.4. Un método simple para la detección de bajas concentraciones de fluoruro en el agua potable.

Este método contiene un recubrimiento de aluminio de 35 nm en la punta distal de una longitud de fibra óptica monomodo. La luz de banda ancha se lanza hacia el extremo proximal de la fibra óptica y una parte de esta se refleja en la punta distal de la fibra, que contiene agua con una concentración desconocida de fluoruro disuelto, la intensidad de la luz reflejada se detecta mediante un fotodiodo conectado al extremo proximal de la fibra, el sensor mide una concentración de fluoruro en el rango de 0-5 mg/L, estos sensores se fabrican de forma económica, son muy sensibles dentro del rango de concentración de fluoruro, siendo robustos y de bajo costo para la detección en el campo del agua potable (Vahid Moradi, Emmanuelle Caws, Peter Wild, Heather L. Buckley, 2020).

4.4.2.5. Determinación rápida de nueve ácidos haloacéticos, bromato y dalapon en muestras de agua potable mediante cromatografía iónica-espectrometría de masas en tándem de electrospray.

En este método todos los objetivos analitos se separan y se miden con buena sensibilidad sin la necesidad de preconcentración o derivatización de la muestra y para reducir el tiempo necesario en el análisis de la muestra se implementa una columna de intercambio aniónico ya que efectúa el proceso 33% más rápido, esto se debe a que cuenta con una selectividad única y una alta capacidad

de intercambio. Se utilizan solventes orgánicos como el isopropanol y acetonitrilo como flujo de reposición, con este se incrementa la ionización en la fuente, lo que permite una configuración más simple, un equipo más robusto y un proceso de menor costo. El uso de esta técnica proporciona resultados confiables y cabe resaltar que es amigable con el medio ambiente para la separación y detección de bromato y dalapon, la alta sensibilidad que proporciona hace posible realizar una inyección directa de muestras de agua potable, eliminando así la complejidad y las variaciones en la preparación de la muestra (XinZhang, Charanjit Saini, ChrisPohl, Yan Liu, 2020).

4.4.2.6. Sistema hidráulico de red en la detección de eventos de calidad del agua utilizando múltiples datos de estaciones de sensores.

Esta metodología de detección se basa en un análisis espacial de datos de calidad del agua en línea, al mismo tiempo se encuentra acoplado a un modelo de redes neuronales que sirve para la detección de eventos químicos y biológicos. El método utiliza múltiples tipos de sensores convencionales de calidad del agua, pero que tienen la capacidad para detectar pequeñas concentraciones de contaminantes, el modelo de clasificación incorpora el análisis de datos de todos los sensores junto con un modelo de información de flujo hidráulico red, el cual contiene un sistema único integrado de alerta espacial. Este sistema presenta una clara ventaja, alta estabilidad, mayor detección, y un nivel de confiabilidad mayor sobre la utilización de datos de un solo sensor (Nurit Olikier, Avi Ostfeld, 2015).

4.4.2.7. Método rápido para monitorear N-nitrosodimetilamina en el agua potable a nivel de ng/L utilizando cromatografía líquida de alta resolución y detección de quimioluminiscencia.

Esta técnica consiste en la separación mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) seguida de fotólisis, para formar peroxinitrito y detectar mediante una reacción de quimioluminiscencia de luminol, este presenta un límite de detección mejorado de 0.2 ng/L, siendo diez veces más sensible que solo HPLC. Para las mediciones se necesita una solución de ácido ascórbico para eliminar el cloro residual y se pasa a través de un cartucho de extracción de fase sólida, además requiere de un volumen de muestra de menos de 2mL y un tiempo de análisis menor a 15 minutos por cada muestra, este método de determinación sensible y selectivo, es útil para el monitoreo de N-nitrosodimetilamina (NDMA) (Hitoshi Kodamatani, Hitomi Yamasaki, Takeru Sakaguchi, Shinya Itoh, Yoshimi Iwaya, 2016).

4.4.2.8. Síntesis del marco organometálico de circonio y su aplicación para la determinación de trazas de torio por espectrofotometría.

En este método un armazón organometálico (Zr-MOF) de circonio llamado UiO-66-OH, se sintetiza por el método solvo-termico y se caracteriza a través de espectroscopia infrarroja de transformada de Fourier (FTIR), difracción de polvo de rayos x (PXRD), y microscopía electrónica de barrido (SEM). El Zr-MOF se emplea para la extracción selectiva y preconcentración de iones de torio que se encuentren presentes en muestras de agua, esta técnica posee un límite de detección de 0.35 $\mu\text{g/L}$ con un rango lineal entre 10 y 2000 $\mu\text{g/L}$ de torio. Las mediciones de absorción se efectúan mediante un espectrofotómetro UV-Vis en modo discontinuo, el cual realiza un monitoreo de la absorbancia a una longitud de onda máxima de 410 nm (Irena Vopálenská, Libuše Váchová, Zdena Palková, 2015).

4.4.2.9. Biosensor para la detección de iones de cobre en agua basado en células de levadura genéticamente modificadas.

Este biosensor basado en células de *Saccharomyces cerevisiae* modificadas genéticamente en su genoma e inmovilizadas en perlas de alginato, es capaz de detectar iones de cobre a concentraciones entre 1-100 μM . Las perlas cambian de color dependiendo de la concentración de cobre que se encuentre presente en el agua potable, se torna de color rosa o rojo en función del aumento de la concentración y cambian a color blanco cuando se encuentra por debajo del límite de detección, la coloración se desarrolla rápidamente en un lapso de tiempo de 30 a 36 minutos después de exponerlas al oxígeno. Este sistema es de fácil detección debido a su alta sensibilidad, se puede leer a simple vista sin necesidad de equipos especializados (Zahra Moghaddama, Massoud Kaykhahi, Mostafa Khajeh, Ali Oveisi, 2017).

5. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

Las plantas de tratamiento de agua pueden producir agua potable segura de manera confiable, eficiente, efectiva, y de alta calidad, pero existen microorganismos que pueden persistir después del proceso de desinfección, entrar y vivir dentro de los sistemas de distribución, por eso las técnicas de detección para el agua potable se enfocan principalmente en contaminantes microbiológicos, además el proceso de potabilización de agua elimina en mayor cantidad los contaminantes químicos, lo que queda son trazas que en algunos casos se encuentran dentro de los límites permitidos y no afectan la salud humana.

Las pruebas bioquímicas utilizadas para la identificación y enumeración bacteriana en los métodos de cultivo clásicos (técnica de fermentación de tubos múltiples y filtración por membrana) son simples de realizar y de bajo costo, se basan en reacciones metabólicas, por esta razón, no son completamente específicos, y requieren pruebas adicionales para obtener una confirmación precisa, también tienen limitaciones, como la duración de la incubación, la interferencia de organismos antagonistas (otro tipo de bacterias, levaduras, hongos) y la detección deficiente de microorganismos de crecimiento lento o viables pero no cultivables; el uso de enzimas microbianas para detectar bacterias indicadoras es una alternativa atractiva a los métodos clásicos, las reacciones enzimáticas pueden ser específicas de un grupo, género o especie, dependiendo de la enzima objetivo, además, este método es rápido, sensible y específico, ha demostrado que puede ser una alternativa adecuada a las técnicas clásicas, sin embargo, su aplicación es de elevado costo que no es rentable para las empresas de servicios de agua, requiere de equipos más especializados, personal capacitado y el tiempo de incubación, aunque reducido, sigue siendo demasiado largo para obtener resultados el mismo día; actualmente la técnica de filtro de membrana simple y económica es el método más utilizado para la enumeración rutinaria de coliformes en el agua potable.

La detección de coliformes por métodos moleculares permiten una detección muy específica y rápida sin la necesidad de un paso de cultivo, en el enfoque inmunológico han producido varios anticuerpos contra bacterias coliformes, pero la aplicación de esta técnica a menudo mostró baja especificidad de anticuerpos, la PCR se puede utilizar mediante la amplificación de la señal: la secuencia de ADN que codifica el gen *lacZ* (gen de la β -galactosidasa) y el gen *uidA* (gen de la β -D glucuronidasa) se ha utilizado para detectar coliformes totales y *E. coli*, respectivamente, sin

embargo, la cuantificación con PCR aún carece de precisión y requiere un extenso trabajo de laboratorio, la técnica FISH implica el uso de sondas de oligonucleótidos para detectar secuencias complementarias dentro de células específicas, las sondas de oligonucleótidos diseñadas específicamente para regiones de las moléculas de ARN de Enterobacteriaceae pueden usarse para el control de calidad microbiológica de muestras de agua potable, FISH puede ser una alternativa viable interesante a los métodos de cultivo convencionales para la detección de coliformes en el agua potable, ya que proporciona datos cuantitativos en un período de tiempo bastante corto (6 a 8 h), no tiene un costo elevado, pero aún requiere de investigación debido a que no es precisa en cantidades mínimas de microorganismos, han desarrollado varios métodos innovadores de detección de bacterias, pero aún no tienen el potencial de convertirse en un método estandarizado para la detección de coliformes en muestras de agua potable.

La técnica GC-MS tiene una alta sensibilidad y selectividad para la capacidad de monitoreo de iones selectivos, es un excelente método para la detección de contaminantes semivolátiles y térmicamente estables en el agua potable, sin embargo la principal ventaja que tiene la técnica LC-MS sobre GC-MS es que es capaz de analizar una gama mucho más amplia de analitos porque logra detectar componentes no volátiles, inestables térmicamente y/o de mayor peso molecular que GC no puede detectar directamente, esto debido a la separación de la fase líquida a temperatura ambiente y la ionización por electropulverización, pero CG – MS es más usada en la detección de contaminantes químicos en el agua potable porque tiene la capacidad de descubrir compuestos a concentraciones muy bajas (ng/L).

Las nuevas tecnologías para la detección de contaminantes químicos y microbiológicos en general son altamente sensibles, ya que ofrecen límites de detección comparables con las técnicas convencionales, estas técnicas son robustas, económicas, generan muy buenos resultados y son rápidas para su análisis, pero los laboratorios encargados de la calidad del agua potable aún no pueden implementarlas, ya que algunas todavía se encuentran en estudio.

6. CONCLUSIONES

- Se analizaron las técnicas de detección de contaminantes microbiológicos: fermentación de tubos múltiples, método de filtración, método del sustrato enzimático, enfoque inmunológico, PCR, hibridación fluorescente In Situ, técnica de dispositivo microfluídico mediante enfoque dielectroforético, conjunto de sensores en línea, enfoque electroanalítico, y técnica de una nariz E y un sistema de extracción de volátiles; para contaminantes no biológicos se analizaron la espectrometría de masas acoplada a cromatografía líquida o de gases, método titulométrico, electroforesis capilar, extracción en fase sólida y CG - MS, enfoque en el algoritmo PCA para construir clasificadores de sensores integrados, sensores con recubrimiento de aluminio y fibra óptica, cromatografía iónica-espectrometría de masas en tándem de electrospray, sistema hidráulico de red utilizando múltiples datos de estaciones de sensores, cromatografía líquida de alta resolución y detección de quimioluminiscencia, y se concluyó que la técnica más adecuada para microorganismos es método de filtración, ya que es más preciso, analiza un mayor volumen de muestra con concentraciones bajas, rápido y fácil de realizar y para compuestos químicos la espectrometría de masas acoplada a cromatografía de gases, debido a que esta presenta una alta sensibilidad, versatilidad y facilidad la cual nos permite realizar de manera simultánea análisis cualitativos y cuantitativos.
- Una detección completa del agua potable es fundamental para preservar y garantizar agua potable segura, de buena calidad, puede disminuir riesgos y ayudar a mejorar las estrategias actuales de control y gestión.
- Los contaminantes más comunes en el agua potable son los microbiológicos, son el principal contribuyente a las enfermedades transmitidas debido a que son resistentes al proceso de desinfección y no logra eliminarlos o desactivarlos.
- Los métodos dependientes del cultivo para la detección de microorganismos son herramientas de diagnóstico útiles, son técnicas estándar dado que son simples de realizar, precisas, confiables y de bajo costo.

- Los métodos para la detección de contaminantes no biológicos son herramientas útiles para la detectar trazas de compuestos químicos y metales, los cuales no son registrados a través de técnicas para detección microbiológica.
- Se puede realizar un acoplamiento de las diferentes técnicas de detección y así poder garantizar una mejor calidad del agua utilizada para el consumo humano.
- Dentro de las técnicas moleculares para la detección de microbianos, los biosensores han sido frecuentemente más utilizados durante muchos estudios y puestas en marcha de las diferentes técnicas mencionadas. Esto se debe en su gran mayoría a que presenta una detección directa y rápida, además de tener un bajo costo para su implementación en comparación con las otras que allí se mencionan, también se puede acoplar fácilmente a otros sistemas de monitoreo con el fin de abarcar un mayor límite de detección con unos buenos resultados.
- Todas las técnicas moleculares registran buenos resultados, sin embargo, son objeto de estudio con el fin de ir mejorando continuamente cada detalle que presentan por separado de tal modo que se pueda obtener un agua de mayor calidad.

7. RECOMENDACIONES

- Se recomienda la aplicación de un segundo paso de desinfección con un diferente desinfectante para mayor protección del agua de la contaminación microbiológica, este proceso asegura que las bacterias no se multipliquen en el agua durante la distribución ya que estas pueden permanecer en el agua después del primer paso de desinfección.
- Es necesario siempre realizar red de monitoreo y control de calidad en cada uno de los procesos de potabilización del agua, y aplicar una técnica de detección de contaminantes antes de la distribución a los consumidores para evitar alguna enfermedad en ellos.
- Se recomienda el uso tecnologías innovadoras de detección de contaminación del agua potable ya que son capaces de lograr una detección de alerta temprana de respuesta rápida, mejorar la eficiencia del tratamiento del agua en el tiempo adecuado, minimizar el riesgo de exposición a contaminantes nocivos y detectar continuamente contaminantes no deseados simultáneamente.

8. BIBLIOGRAFÍA

- Aguas de Cartagena*. (01 de Mayo de 2020). Obtenido de <https://acuacar-web-prod.azurewebsites.net/Acuacar/Gesti%C3%B3n-Ambiental/Ciclo-Integral-del-Agua>
- American Public Health Association (APHA), American Water Works Association (AWWA), Water Pollution Control Federation (WPCF). (2016). *Métodos normalizados para análisis de aguas potables y residuales*. Madrid: Ediciones Díaz de Santos.
- Andreas N. Angelakis, Shane A. Snyder. (2015). Wastewater Treatment and Reuse: Past, Present, and Future. *water*, 4887-4895.
- B. Højris, S. N. Kornholt, S. C. B. Christensen, H.-J. Albrechtsen, L. S. Olesen. (2018). Detection of drinking water contamination by an optical real-time bacteria sensor. *H2Open Journal*, 162 - 168.
- Batte M., Mathieu L., Laurent P., Prevost M. (2015). Influence of phosphate and disinfection on the composition of biofilms produced from drinking water, as measured by fluorescence in situ hybridization. *Canadian Journal of Microbiology*, 741-753.
- Bolaños, J. (2016). Determinación de Arsénico en agua potable del cantón del Grecia. *InterSedes: Revista de las Sedes*, 1 - 11.
- Cárdenas, C. (2015). Diseño de una planta de tratamiento de agua potable: Caso de estudio en un municipio de Santander. *Universidad Industrial de Santander*, 1 - 75.
- Claudio De Stefano, Luigi Ferrigno, Francesco Fontanella, Luca Gerevini, Alessandra Scotto di Freca. (2020). A novel PCA-based approach for building on-board sensor classifiers for water contaminant detection. *Pattern Recognition Letters*, 375–381.
- Domínguez, J. (2020). Capillary electrophoresis coupled to electrospray mass spectrometry for the determination of organic and inorganic arsenic compounds in water samples. *Talanta*.
- Edwin Hernández, Carlos Corredor. (2017). Diseño y construcción de una planta modelo de tratamiento para la potabilización de agua. *Universidad Católica de Colombia*, 1 - 82.
- Eiko Nagamachi, Yasuhiro Kanemasa. (2014). Development of a new device for the detection of gas production in coliform group bacteria determination. *Water Research*, 1131-1135.
- Fidson Vesga, Yolanda Moreno, Antonia Ferrús, Claudia Campos, Alicia Trespalacios. (2018). Detection of *Helicobacter pylori* in drinking water treatment plants in Bogotá, Colombia,

- using cultural and molecular techniques. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*.
- Fundación Nacional de Salud. (2015). *Manual Práctico de Análisis de Agua*. Brasilia: Ministerio de Salud.
- G.S. Ghugare, A. Nair, V. Nimkande, P. Sarode, P. Rangari and K. Khairnar. (2016). Membrane filtration immobilization technique — a simple and novel method for primary isolation and enrichment of bacteriophages. *Journal of Applied Microbiology*, 531-539.
- Guilherme Sabin, Osmar Prestes, Martha Adaime; Renato Zanella. (2015). Multiresidue determination of pesticides in drinking water by gas chromatography-mass spectrometry after solid-phase extraction. *Journal of the Brazilian Chemical Society*.
- Hitoshi Kodamatani, Hitomi Yamasaki, Takeru Sakaguchi, Shinya Itoh, Yoshimi Iwaya. (2016). Rapid method for monitoring N-nitrosodimethylamine in drinking water at the ng/L level without pre-concentration using high-performance liquid chromatography-chemiluminescence detection. *Journal of Chromatography A*, 202 - 206.
- IDEAM. (2007). Determinación de Escherichia Coli y coliformes totales en agua por el método de filtración por membrana en Agar Chromocult. *Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales*, 1 - 17.
- Irena Vopálenská, Libuše Váchová, Zdena Palková. (2015). New biosensor for detection of copper ions in water based on immobilized genetically modified yeast cells. *Biosensors and Bioelectronics*, 160–167.
- Isabel Douterelo, Joby Boxall, Peter Deines, Raju Sekar, Katherine Fish, Catherine Biggs. (2015). Methodological approaches for studying the microbial ecology of drinking water distribution systems. *Water Research*, 134 - 156.
- Izabela Sokolowska, Jingjie Mo, Fatie Rahimi, Carol McVean, Lars Meijer. (2020). Implementation of a High-Resolution Liquid Chromatography–Mass Spectrometry Method in Quality Control Laboratories for Release and Stability Testing of a Commercial Antibody Product. *Analytical Chemistry*, 2369 - 2373.
- J. Baudart, P. Lebaron. (2015). Rapid detection of Escherichia coli in waters using fluorescent in situ hybridization, direct viable counting and solid phase cytometry. *Journal of Applied Microbiology*, 1364-1375.

- J. Boyd, S. Hrudey, S. Richardson, X. Li. (2016). Solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography mass spectrometry analysis of nitrosamines in treated drinking water and wastewater. *Trends in Analytical Chemistry*, 1410-1421.
- Jamie Bartram, Richard Ballance. (1996). Microbiological Analyses . En R. B. Jamie Bartram, *Water Quality Monitoring - A Practical Guide to the Design and Implementation of Freshwater Quality Studies and Monitoring Programmes* (págs. 244 - 267). Londrés: United Nations Environment Programme.
- Jeniffer Carrillo, Cristhian Durán, Ramón García. (2019). Concentration Detection of the E. coli Bacteria in Drinking Water Treatment Plants through an E-Nose and a Volatiles Extraction System (VES). *water*.
- Jenni Ikonen, Tarja Pitkanen, Pascal Kosse, Robert Ciszek, Mikko Kolehmainen, Ilkka Miettinen. (2017). On-line detection of Escherichia coli intrusion in a pilot-scale drinking water distribution system. *Journal of Environmental Management*, 384-392.
- Johnatan Gutiérrez, Álvaro Ramírez, Rodrigo Rivas, Balmes Linares. (2015). Tratamiento de lodos generados en el proceso convencional de potabilización de agua. *Ingenierías Universidad de Medellín*, 13 - 27.
- Kamlesh Soni, Ashwin Balasubramanian, Ali Beskok, Suresh Pillai. (2015). Zeta potential of selected bacteria in drinking water when dead, starved, or exposed to minimal and rich culture media. *Current Microbiology*, 53 - 57.
- López, K. (2015). Validación del método filtración por membrana para análisis microbiológico de coliformes totales y Escherichia coli en aguas marinas. *Centro de Investigaciones Oceanográficas e Hidrográficas del Caribe (CIOH)*, 215 - 220.
- M. Umar, J. Kambai, I. Mohammed, J. Oko, A. Obafemi, K. Ajiya, A. Yaya. (2019). Bacteriological Quality Assessment and Antibigram Profile of Bacteria Associated with Sachet Drinking Water Sold at Zaria, Northern Nigeria. *International Journal of Pathogen Research*, 1 - 13.
- Mariana Almeida, Tiago Madeira, Lycio Watanabe, Paulo Cesar Meletti. (2019). Pesticide Determination in Water Samples from a Rural Area by Multi-Target Method Applying Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 1678-1689.

- Mariya N. Koleva, Songsong Liu, Craig Styanb, Lazaros Papageorgiou. (2016). Multi-objective Optimisation Approach for the Synthesis of Water Treatment Plants. *Computer Aided Process Engineering*, 2379 - 2384.
- Ministerio de la protección social. (2007). *Protección y Control de la Calidad del Agua para Consumo Humano*. Colombia: Decreto 1575 DE 2007.
- Ministerio de Salud y Protección Social. (2019). Informe Nacional de la calidad del agua para consumo humano - INCA 2017. *Gobierno de Colombia*, 1 - 250.
- Mohamed Farhaoui, Mustapha Derraz. (2016). Review on Optimization of Drinking Water Treatment Process. *Journal of Water Resource and Protection*, 777 - 786.
- Myounggon Kim, Taekeon Jung, Youngjin Kim, Changgeun Lee, Kyungchul Woo, Jae Hun Seol, Sung Yang. (2015). A microfluidic device for label-free detection of Escherichia coli in drinking water using positive dielectrophoretic focusing, capturing, and impedance measurement. *Biosensors and Bioelectronics*, 1011-1015.
- Nurit Olikier, Avi Ostfeld. (2015). Network hydraulics inclusion in water quality event detection using multiple sensor stations data. *Water Research*, 47 - 58.
- Okonko Iheanyi Omezuruike, Adejoye Oluseyi Damilola, Ogunnusi Tolulope Adeola, Fajobi Enobong, Shittu Olufunke. (2015). Microbiological and physicochemical analysis of different water samples used for domestic purposes in Abeokuta and Ojota, Lagos State, Nigeria. *African Journal of Biotechnology*, 617-621.
- OSE. (Noviembre de 2019). *Obras Sanitarias del Estado | Uruguay*. Obtenido de Etapas del Proceso de Potabilización: <http://www.ose.com.uy/agua/etapas-del-proceso-de-potabilizacion>
- Qihua Shen, Xiaojie Wang, Enfeng Chen, Zhenchao Ma . (2019). Comparative Study on Test Methods of Total Coliforms in Domestic Drinking Water. *Earth and Environmental Science*.
- Rijal, N. (10 de 09 de 2019). *Microbe Online*. Recuperado el 12 de 05 de 2020, de <https://microbeonline.com/analysis-of-water-membrane-filtration-technique/>
- Rodger Baird, Andrew Eaton, Eugene Rice. (2017). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. Washington: American Public Health Association.

- Sabiha Tok, Kevin de Haan, Derek Tseng, Can Firat Usanmaz. (2019). Early detection of E. coli and total coliform using an automated, colorimetric and fluorometric fiber optics-based device. *Lab on a Chip*.
- Salamanca, E. (2015). Tratamiento de aguas para el consumo humano. *Módulo Arquitectura CUC*, 29-48.
- Sharad, M. (2018). Ionization Techniques in Mass Spectrometry: A Review. *Mass Spectrometry & Purification Techniques*.
- Souza Viana, Vasconcelos Leite, Samuel Ferreira. (2011). Qualidade físico-química das águas para abastecimento humano no município de Manhumirim (MG). *Revista Científica Da Faminas*.
- Syahidah Zulkifli, Herlina Rahim, Woei-Jye Lau. (2017). Detection of contaminants in water supply: A review on state-of-the-art monitoring technologies and their applications. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2657–2689.
- Teri Bigham, James Dooley, Nigel Ternan, William Snelling, Hector Castelan, James Davis. (2019). Assessing microbial water quality: Electroanalytical approaches to the detection of coliforms. *Trends in Analytical Chemistry*.
- Vahid Moradi, Emmanuelle Caws, Peter Wild, Heather L. Buckley. (2020). A simple method for detection of low concentrations of fluoride in drinking water. *Sensors and Actuators A: Physical*.
- XinZhang, Charanjit Saini, ChrisPohl, Yan Liu. (2020). Fast determination of nine haloacetic acids, bromate and dalapon in drinking water samples using ion chromatography–electrospray tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*.
- Yan Peng, Lata Gautam, Sarah Hall. (2019). The detection of drugs of abuse and pharmaceuticals in drinking water using solid-phase extraction and liquid chromatography-mass spectrometry. *Chemosphere*, 438-447.
- Zahra Moghaddama, Massoud Kaykhahi, Mostafa Khajeh, Ali Oveisi. (2017). Synthesis of UiO-66-OH zirconium metal-organic framework and its application for selective extraction and trace determination of thorium in water samples by spectrophotometry. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 76 - 82.

Zhaodan Wang, Guosheng Xiao, Nong Zhou, Wenhua Qi, Lin Han, Yu Ruan, Dongqin Guo, Hong Zhou. (2015). Comparison of two methods for detection of fecal indicator bacteria used in water quality monitoring of the Three Gorges Reservoir. *Journal of Environmental Sciences* , 42 - 51.