

Evaluación de parámetros fisicoquímicos y microbiológicos del agua de lluvia en la ENMSG

Issis Paola Alejandra Ramiez Cancino¹, Alejandro Vera Vera², Shaina Euterpe Muñoz Jaramillo³, Camila Alvarado Pérez⁴, Cesar Roberto Rocha Romo⁵, Nancy Edith Pacheco Guerra⁶, Mario Enrique Sandoval Vergara⁷

¹Licenciatura en Biología Experimental, Universidad de Guanajuato | ipa.ramirezcancino@ugto.mx, ²Bachillerato General, Escuela de Nivel Medio Superior de Guanajuato | a.veravera@ugto.mx, ³Bachillerato General, Escuela de Nivel Medio Superior de Guanajuato | se.munizjaramillo@ugto.mx, ⁴Bachillerato General, Escuela de Nivel Medio Superior de Guanajuato | c.alvaradoperez@ugto.mx, ⁵Licenciatura en Química, Universidad de Guanajuato | cr.rocharomo@ugto.mx, ⁶Escuela de Nivel Medio Superior de Guanajuato, Colegio de Nivel Medio Superior | ne.pacheco@ugto.mx, ⁷Escuela de Nivel Medio Superior de Guanajuato, Colegio de Nivel Medio Superior | me.sandovalvergara@ugto.mx

Resumen

El proyecto tiene como objetivo evaluar la calidad del agua de lluvia mediante el uso del sistema de captación SCALL. La metodología incluye la caracterización fisicoquímica y microbiológica del agua de lluvia captada a través de este sistema. Se realizarán pruebas microbiológicas utilizando diversos métodos para detectar la presencia de bacterias coliformes, *E. coli* y coliformes fecales, los cuales son indicadores comunes en este tipo de aguas. La eficacia del procedimiento se determinará mediante la confirmación o refutación de la presencia de estos microorganismos.

Los resultados obtenidos serán determinantes para validar la viabilidad del uso propuesto del agua de lluvia captada mediante el sistema SCALL. Si se confirma la ausencia de bacterias coliformes, *E. coli* y coliformes fecales, se podrá afirmar que el procedimiento fue eficaz y que el agua es potable. Estos resultados respaldarán la utilización de esta alternativa de bajo costo y fácil acceso para mitigar los problemas de acceso al agua de calidad.

Palabras clave: Bacterias coliformes, *E. coli* y Coliformes fecales

Objetivo

- Evaluar la calidad del agua de lluvia captada a través de su caracterización microbiológica de acuerdo con la NOM-127-SSA1-2021.
- Generar materiales de divulgación científica dirigido a público especializado y público general.
- Evaluar la calidad del agua de lluvia a través de su caracterización fisicoquímica de acuerdo con la norma NOM-127-SSA1-2021 y NOM-127-SSA1-1994.
- Los resultados obtenidos serán determinantes para poder encausar su uso para regar áreas verdes y/o uso en descargas para baños y lavabos.

Introducción

El agua es un recurso esencial, sabemos que existen temporadas donde su acceso asequible y seguro es un desafío. En este contexto, el agua de lluvia ha surgido como una prometedora fuente natural de agua que puede abordar este desafío, pero solo si se trata adecuadamente. Sin embargo, debido a su exposición al medio ambiente, el agua de lluvia puede contener una variedad de microorganismos, incluyendo bacterias (*E. Coli*, *Pseudomonas*, *Bacillus*), virus, hongos (*Penicillium*, *Aspergillus* y *Cladosporium*) y protozoos (Ciliados, Flageados, Paramecios) La presencia de microorganismos patógenos en el agua de lluvia puede representar un riesgo para la salud humana si se utiliza sin un tratamiento adecuado. Por lo tanto, es fundamental realizar pruebas microbiológicas periódicas para evaluar la calidad del agua y garantizar la seguridad de su uso. El

objetivo de este trabajo es transformar el agua de lluvia en agua potable segura y confiable de acuerdo con la NOM-127-SSA1-2021, proporcionando una solución práctica y sostenible para la ENMS-UG. Este proyecto no sólo se enfoca en brindar acceso a agua potable segura, sino que también se centra en la sostenibilidad. Al aprovechar una fuente natural y abundante como el agua de lluvia, podemos reducir la dependencia de otras fuentes de agua más limitadas y costosas. Además, la implementación de sistemas de captación de agua (SCALL) y de filtración eficientes minimiza el desperdicio de agua y reduce el impacto ambiental.

Se realizaron análisis químicos, sin embargo se tomaron en cuenta las condiciones geográficas, puesto que Guanajuato al ser una región minera es de esperar que el agua contenga una cierta cantidad de sales y minerales, así mismo contemplar que el sistema de captación recibe el agua de lluvia a través de la pendiente de una techumbre por lo que es de esperarse trazas de carbonato de calcio, por lo que se optó por hacer una serie de pruebas rápidas para constatar la presencia de posibles contaminantes que podrían estar en las muestras de agua captadas, dichas pruebas constaron de una prueba rápida por triplicado para saber si existía la presencia de cloruros, sulfatos, carbonatos (dureza) y hierros disueltos en las muestras las cuales solo dieron positivo para carbonatos y cloruros.

Los parámetros físicos medidos fueron pH, sólidos disueltos, conductividad y temperatura. Dichas pruebas fueron realizadas con ayuda de un MEDIDOR DE BOLSILLO PH/EC/TDS HI98130.

Metodología

Para realizar las pruebas microbiológicas, se utilizó el sistema denominado SALL (Sistema de Análisis de Laboratorio Líquido) para recolectar una muestra del captador de agua de lluvia ubicado en la ENMSG-UG. Esta muestra fue almacenada en un tanque de almacenamiento de agua designado. En el laboratorio, se llevaron a cabo una serie de técnicas y ensayos microbiológicos estándar con el fin de detectar y cuantificar la presencia de microorganismos en las muestras.

El proyecto consiste en dos etapas. La primera etapa se basa en diversas pruebas microbiológicas y la segunda en las pruebas fisicoquímicas. La primera etapa, a su vez, se dividió en • una etapa inicial para evaluar la calidad del agua almacenada y • pruebas posteriores al tratamiento por filtros y la aplicación de hipoclorito. Todas estas pruebas fueron realizadas en conformidad con la NOM-127-SSA1-2021 y nos basamos en ella para realizarlas.

A su vez se implementarán una serie de pruebas físicas para la determinación de los niveles de pH, conductividad eléctrica, sólidos disueltos y la temperatura, además de pruebas químicas que constarán de primera instancia por pruebas rápidas para constatar la presencia de sulfatos, hierro, carbonato (dureza) y cloruros, dichas pruebas serán efectuadas previo y posteriormente al uso del filtro esto según las normas NOM-127-SSA1-2021 y NOM-127-SSA1-1994.

Procedimiento

Análisis fisicoquímicos

Para comenzar con los análisis fisicoquímicos, se procedió a la recolección de muestras del sistema de captación de lluvia en la ENMSG. Este sistema consta de un contenedor con capacidad de 200 litros (recipiente 1), donde el agua de lluvia es captada en primera instancia. A su vez, este recipiente 1 está conectado por un sistema de tubos de PVC a un tinaco con capacidad de 750 litros (recipiente 2), donde se almacena el agua hasta su uso. Para fines de este experimento, se tomaron muestras tanto del recipiente 1 como del recipiente 2 para medir sus parámetros físicos y poder tener un punto de referencia para la eficiencia del filtro una vez filtrada el agua.



Figura 1: Sistema de recipientes.

Para preparar las muestras, se realizó un filtrado de una muestra del recipiente 2 con un papel filtro de porosidad baja, únicamente con el objetivo de eliminar materia orgánica como mosquitos, ramas y hojas. También se utilizó agua destilada y agua de la llave como muestras de control para ser comparadas con las del recipiente 1 y 2.

Los datos obtenidos fueron comparados con la norma Oficial Mexicana NOM-179-SSA1-1998, "Vigilancia y evaluación del control de calidad del agua para uso y consumo humano, distribuidas por sistemas de abastecimiento público", y la NORMA Oficial Mexicana NOM-127-SSA1-2021, "Agua para uso y consumo humano. Límites permisibles de la calidad del agua".

También se realizó la determinación de cloruros usando el Método de Mohr mediante una titulación volumétrica con 100 mL de cada muestra y como titulante una solución de AgNO_3 0.1 N previamente estandarizada.

Prueba presuntiva del análisis microbiológico

Como primer paso llevamos a cabo disoluciones. Se realizó una prueba presuntiva utilizando caldo Lactosado con el objetivo de detectar bacterias coliformes y *Escherichia coli* (*E. coli*). La presencia de gas y turbidez en el medio indica la posible presencia de microorganismos. Se utilizó agua destilada (100 mL) y 1.3 g de caldo Lactosado. Se añadieron 9 mL de medio a los tubos de ensayo junto con 1 mL de la muestra, y se incubaron durante 24 horas a 37°C. La formación de gas se observó utilizando campanas Durham (Arana I., Oruño M., Barcina I.).

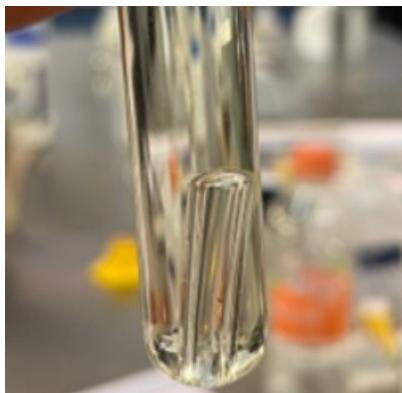


Figura 2: Campana Durham junto al caldo lactosado.

Prueba confirmatoria de presencia de coliformes

La prueba para coliformes fecales, utilizando el Medio EC (Tryptosa: 20 g, Lactosa: 5 g, Mezcla de Sales Biliares: 1.5 g, Fosfato Dipotásico: 4 g, Fosfato Monopotásico: 1.5 g, Cloruro de Sodio: 5 g), es aplicable para investigaciones en agua potable, contaminación de arroyos, fuentes de agua bruta, sistemas de tratamiento de aguas residuales, aguas de baño, aguas del mar y monitoreo general de la calidad del agua. El Medio EC es utilizado en la prueba de NMP (Número Más Probable) para coliformes fecales.

La triptosa es una mezcla de digerido enzimático de proteína, suministra nitrógeno, vitaminas y aminoácidos al Medio EC. La lactosa es la fuente de carbono. La Mezcla de Sales Biliares es el agente selectivo contra las bacterias Grampositivas, particularmente bacilos y estreptococos fecales. El Fosfato Dipotásico y el Fosfato Monopotásico son los agentes de tamponado. El Cloruro de Sodio mantiene el balance osmótico del medio.

Cultivo en agar nutritivo

Se llevó a cabo una prueba de búsqueda y control de bacterias gramnegativas y grampositivas, incluyendo su morfología, mediante una siembra en agar. Para ello, se realizó un estriado mediante el agotamiento del asa en un medio nutritivo a una temperatura de 44°C durante 24 horas. El procedimiento utilizado para el estriado. La muestra utilizada para la extracción con el asa se seleccionó en función de la mayor presencia de microorganismos en cada disolución.

Observación microscópica en fresco

Se realizó una extracción de agua sin someterla a ninguna dilución u otro tipo de tratamiento. Se tomó una gota de esta agua y se observó al microscopio para detectar microorganismos. Se realizó una observación adicional utilizando una gota de Lugol para mejorar la visualización.

Tinción de Gram

Se realizaron tinciones de Gram con el propósito de identificar las características de las bacterias presentes. Mediante esta técnica, buscamos la presencia de tinciones de color rojo o morado para distinguir entre bacterias gramnegativas y grampositivas, respectivamente. Además, se evaluaron las características físicas de las bacterias, como su tamaño y forma. La muestra utilizada para la tinción fue obtenida a partir del agar previamente mencionado y se observó bajo el microscopio óptico con objetivos de 10x y 40x.

Análisis fisicoquímicos después de usar el filtro

Se usó un filtro que consta de dos cámaras de filtrado, la primera cámara contiene grava, arena gruesa y arena fina, mientras que la segunda cámara carbón activado y zeolita, nuevamente se hizo

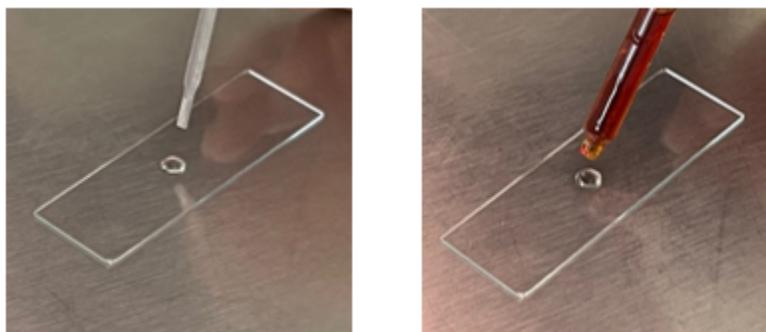


Figura 3: Muestras vistas en microscopio óptico con y sin Lugol

la captación de agua de lluvia y se tomó la muestra del tanque contenedor de agua (recipiente 2) y se hizo pasar la muestra problema por ambos filtros, se hizo la toma de parámetros físicos a la muestra problema después de hacerla correr por la primera cámara del filtro (filtrado 1) y posteriormente por la cámara 2 (filtrado 2) usando un MEDIDOR DE BOLSILLO PH/EC/TDS HI98130 para medir pH, sólidos disueltos, conductividad eléctrica y

temperatura, también usamos una muestra de agua sin filtrar para poder tener un punto de comparación en cuanto a la eficiencia del filtro.

Resultados

Análisis fisicoquímicos

Adicional a esto, se ejecutó una prueba rápida para determinar de forma cualitativa la concentración de hipoclorito de sodio una vez que el agua paso por los filtros usando un kit analizador de pH y cloro para albercas, dicha prueba arrojó como resultado que los niveles de hipoclorito estaban por debajo del límite permisible.

Tabla 1. Medias de pH, ppm, Conductimetría y Temperatura en diferentes muestras de agua

Muestra de Agua	pH	Ppm	Conductimetría ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)
Agua Destilada	± 6.783	± 3.333	± 6.333	± 29.000
Agua de la llave	± 7.407	± 188.667	± 377.333	± 29.067
Recipiente 1	± 7.423	± 41.667	± 83.667	± 28.467
Recipiente 2 sin filtrar	± 7.283	± 76.333	± 153.000	± 29.033
Recipiente 2 filtrado	± 7.283	± 71.667	± 143.667	± 29.600

Como siguiente paso, usando como referencia la NOM-127-SSA1-2021, se procedió a la determinación de carbonatos en las diferentes muestras de agua.

Tabla 2. Determinación de dureza total en muestra problema

Muestra	Repetición 1 (mg/L)	Repetición 2 (mg/L)	Repetición 3 (mg/L)	Promedio (mg/L)
Recipiente 1	180.163	200.182	240.218	± 206.850
Recipiente 2 sin filtrar	400.364	460.418	420.382	± 427.050
Recipiente 2 filtrado	420.382	420.382	400.364	± 413.710



(a) Repetición 1, 2 y 3 para la muestra del Recipiente 1. (b) Repetición 1, 2 y 3 para muestra del Recipiente 2 sin filtrar. (c) Repetición 1, 2 y 3 para la muestra del Recipiente 2 filtrada.

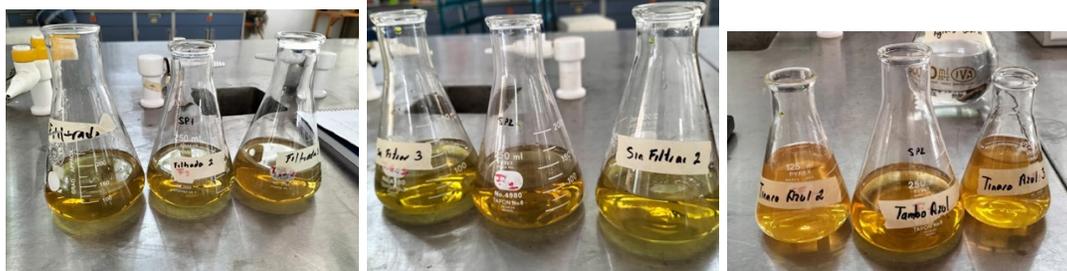
Figura 4: Repeticiones de los recipientes 1 y 2.

Nuevamente, se compararon los valores obtenidos anteriormente con la NOM-127-SSA1-2021 y la NOM-127-SSA1-1994, concluyendo que los datos resultantes están dentro o por debajo de los valores esperados.

Tabla 3. Tabla de muestras y promedios

Titulación	Muestra 1 (ppm)	Muestra 2 (ppm)	Muestra 3 (ppm)	Promedio (mg/L)
Recipiente 1	95.7231	88.6325	81.542	± 88.630
Recipiente 2 sin filtrar	223.354	205.627	212.718	± 213.900

Recipiente 2 filtrado	205.6274	198.5368	216.2633	±206.81
-----------------------	----------	----------	----------	---------



(a) Repetición 1,2 y 3 para la muestra del recipiente 2 filtrado. (b) Repetición 1,2 y 3 de la muestra 2 sin filtrar. (c) Repetición 1,2 y 3 para la muestra del recipiente 1.
Figura 5

Concluyendo esta parte, tomando en cuenta la NOM-127-SSA1-1994, que enuncia que el límite máximo permisible para cloruros en agua para consumo humano es de 250 miligramos por litro (mg/L) o partes por millón (ppm) se puede constatar que la concentración de cloruros está dentro del límite permisible.

Análisis microbiológico

Prueba presuntiva de coliformes

Después de un periodo de incubación de 24 horas, se observó turbidez en el agua en diferentes muestras, siendo más notable en la muestra -1 y disminuyendo gradualmente hasta la muestra -3. Sin embargo, no se detectó ninguna evidencia de fermentación.

El crecimiento con formación de gas es una indicación presuntiva de la presencia de coliformes. Dado que no se observó fermentación, nos inclinamos a suponer que no hay presencia de coliformes. A pesar de este resultado se decidió realizar la prueba confirmatoria.

Para la interpretación de resultados nos apegamos a las especificaciones sanitarias microbiológicas de la NOM-127-SSA1-2021 en la cual nos indica los parámetros, el límite permisible y las unidades que debe cumplir la prueba (Camacho, A., M. Giles, A. Ortegón, M. Palao, B. Serrano y O. Velázquez, 2009).



Figura 6: Resultados prueba presuntiva con caldo lactosado. De izquierda a derecha disolución al -1 a disolución al -3, el último de los tubos es el control

Prueba confirmatoria

Caldo EC:

Después de un periodo de incubación de 24 horas, se observó turbidez en el agua en todas las muestras, pero también se pudo notar una variación en el color. Algunas muestras presentaron un color ámbar más pronunciado que otras. No se detectó la formación de gas en las campanas durante esta prueba.

Al igual que en la prueba presuntiva, la ausencia de fermentación sugiere la falta de presencia de coliformes en las muestras. Sin embargo, es importante considerar la posibilidad de errores experimentales que puedan haber influido en los resultados obtenidos.



Figura 7: Resultados de la prueba confirmatoria con caldo EC. De izquierda a derecha se encuentran las disoluciones de -3,-2,-3,-2,-1,-1 y el control

Resultados de la observación microscópica en fresco

En la observación de la muestra en fresco, se visualizaron objetos con diversas dimensiones y formas los cuales no logramos identificar con certeza. No obstante, al compararlos con microorganismos conocidos por encontrarse en el agua de lluvia, como los *Ciliophora*, *Stentor* (un tipo de ciliado), ciliados y nematodos, notamos similitudes. Los primeros cuatro microorganismos mencionados son parte del grupo de protozoos.

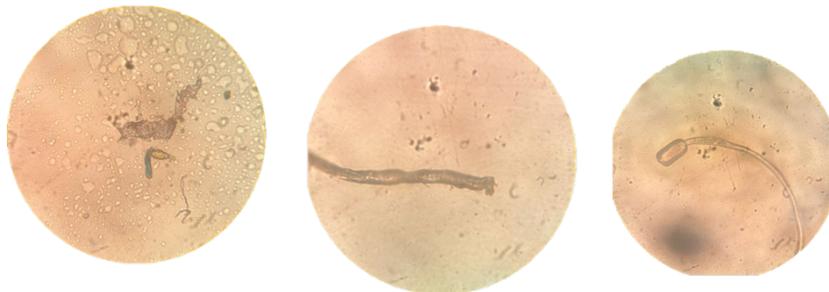


Figura 8: Muestras con lugol a 40x.

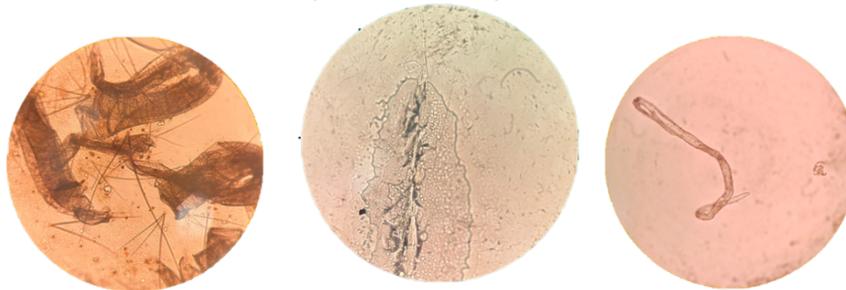


Figura 9: Muestras sin lugol a 40x.

Número más probable

Gracias a las anteriores pruebas realizadas, podemos obtener el número más probable (NMP), el cual es una técnica utilizada en microbiología para estimar la concentración de microorganismos en una muestra líquida. Esta prueba se basa en la observación de cambios en la muestra a lo largo de una serie de diluciones y repeticiones.

Después de la incubación, se observa si hay crecimiento microbiano en cada una de las diluciones inoculadas. Si no hay crecimiento en una dilución en particular, se considera que la concentración de microorganismos en esa dilución es menor al límite de detección.

Sin embargo, encontramos crecimiento en la mayoría de nuestras diluciones. Para la interpretación de estos resultados, utilizaremos una tabla de NMP que nos brinda la NOM-112-SSA1-1994 con los parámetros permisibles en el agua, con el fin de determinar la concentración estimada de microorganismos en la muestra original.

Disoluciones de muestras analizadas: -1, -2 y -3 Resultados:

Disolución	Resultados (tubos positivos)
-1	3
-2	3
-3	0

Se determinó NMP de organismos por cada 100 mL: 240 NMP/100 mL.

Siembra

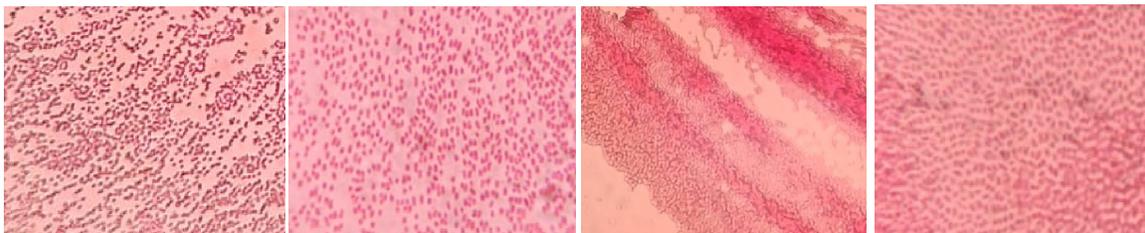
Se observó un crecimiento tal como se había anticipado.



Figura 10: Resultados del sembrado, de izquierda a derecha se observa el control, la prueba -1, prueba -2 y prueba -3.

Tinción de Gram

Los resultados de las pruebas revelaron la presencia de bacterias Gram negativas, lo cual determinamos a partir del color obtenido. También observamos que tienen una forma alargada, semejante a bastones o cilindros, y que se encuentran agrupadas, ya sea en pares o de forma solitaria. Basándonos en estas características y en la tinción que se utilizó, determinamos que se encuentra presencia de bacterias coliformes.



(a) Muestra -1, objetivo a 40x. (b) Muestra -1, objetivo a 100x. (c) Muestra -2.2, objetivo a 40x. (d) Muestra -2.2, objetivo a 100x.
Figura 11: Diferentes muestras observadas desde diferentes objetivos.

Para esta etapa se realizaron comparaciones de imágenes con diversas fuentes, incluyendo manuales. A continuación, presentamos uno de nuestros referentes.

Análisis microbiológicos después de usar el filtro

Al tener esta segunda muestra, se realizaron nuevamente todas las pruebas microbiológicas previamente explicadas.

Los resultados del caldo lactosado no indicaron la presencia de ninguna bacteria en la muestra.



Figura 13: Resultados de la segunda muestra. De derecha a izquierda: -1, -2, -3 y control.

Además, en las diluciones no se observó la formación de ningún tipo de gas. Por lo tanto, el número más probable nos indica que esta muestra no presenta concentración de microorganismos.

Conclusión

- Para las pruebas microbiológicas los resultados mostraron niveles que excedían los límites permitidos por la NOM-127-SSA1-1994.
- Dados los resultados obtenidos, es necesario procesar el agua a través de un filtro que elimine partículas de origen vegetal y animal, y la aplicación de hipoclorito de sodio para disminuir la cantidad de microorganismos patógenos, como las coliformes fecales que fueron detectadas.

Bibliografía

Camacho, A., M. Giles, A. Ortegón, M. Palao, B. Serrano & O. Velázquez. (2009). Método para la determinación de bacterias coliformes, coliformes fecales y *Escherichia coli* por la técnica de diluciones en tubo múltiple (Número más Probable o NMP) [Archivo PDF] http://sgpwe.izt.uam.mx/files/users/uami/acym/TecnicBasicas-Colif-tot-fecales-Ecoli-NMP_6529.pdf

Arana I., Oruño M., Barcina I., (sin fecha). COMO ABORDAR Y RESOLVER ASPECTOS PRACTICOS DE MICROBIOLOGÍA [Archivo PDF] https://ocw.ehu.eus/file.php/48/Tema_1._Diluciones_&_concentraciones.pdf

ANÁLISIS DE AGUA - DETERMINACIÓN DE DUREZA TOTAL EN AGUAS NATURALES, RESIDUALES & RESIDUALES TRATADAS. Disponible en: <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/166788/NMX-AA-072-SCFI-2001.pdf> (Recuperado: 24 julio 2023).

NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-230-SSA1-2002, SALUD AMBIENTAL. AGUA PARA USO Y CONSUMO HUMANO, REQUISITOS SANITARIOS QUE SE DEBEN CUMPLIR EN LOS SISTEMAS DE ABASTECIMIENTO PUBLICOS Y PRIVADOS DURANTE EL MANEJO DEL AGUA. PROCEDIMIENTOS SANITARIOS PARA EL MUESTREO. (sin fecha) DOF. Disponible en: <http://dof.gob.mx/notadetalle.php?codigo=2081772&fecha=12%2F07%2F2005> (Recuperado: 23 julio 2023).