

■ EVALUACION DE NITRATOS, NITRITITOS Y CONTAMINACIÓN MICROBIOLÓGICA EN AGUA ENVASADA PARA CONSUMO HUMANO.

María Eugenia Guerín, María Alejandra G. Liboa,
Tutor: Graciela Marín,
Laboratorio Físico-Químico y Microbiológico,
Universidad Tecnológica Nacional, Facultad Regional Villa María. Av. Universidad 450 - (5900)
Villa María (Cba.).
Email: aleliboa5@hotmail.com; euge_guerin@hotmail.com

Resumen:

Se determinaron nitratos, nitritos y parámetros microbiológicos en agua de bebida envasada disponible en el mercado de distintas marcas y orígenes, evaluando su calidad con los parámetros establecidos en las normas del artículo N° 983 del Código Alimentario Argentino; reguladas por la Dirección de Agua y Saneamiento de la provincia de Córdoba.

Las muestras de aguas envasadas fueron determinadas mediante el manual de técnicas y procedimientos analíticos estándares del Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. Los nitratos se analizaron por el método espectrofotométrico por barrido ultravioleta, los nitritos por el método colorimétrico y los análisis microbiológicos por la determinación de las bacterias aerobias mesófilas (heterotróficas), coliformes totales por fermentación en tubos múltiples, coliformes fecales, *Pseudomona aeruginosa* confirmándose su presencia por aislamiento en agar cetrimide.

Los resultados microbiológicos de las 19 muestras procesadas concluyeron que el 28.6% son aptas para el consumo, el 28.6% presentan un peligro potencial por la presencia de *Pseudomona*, el 28,6% presenta altos números de unidades formadoras de colonias (UFC), que pueden simplemente indicar que hay contaminación en el proceso de embotellado y del 14.2% restante solo se puede objetar que presentan un recuento levemente superior a lo permitido. En cuanto al contenido de sales de las 10 muestras analizadas, los resultados están dentro de los valores establecidos por la legislación vigente.

Introducción:

El objetivo de este estudio fue evaluar nitratos, nitritos y parámetros microbiológicos en agua de bebida envasada disponible en el mercado, y determinar su calidad mediante la comparación de resultados obtenidos con límites establecidos en la resolución 608/93 de la provincia de Córdoba; normas reguladas por la Dirección de Agua y Saneamiento [D.A.S., 1994].

Los parámetros de calidad están dados a nivel nacional por el Código Alimentario Argentino que define en su artículo N° 983: "*Se entiende por agua de bebida envasada o agua potabilizada envasada a un agua de origen subterráneo o proveniente de un abastecimiento público, al agua que se comercialice envasada en botellas, contenedores u otros envases adecuados, provistos de la rotulación reglamentaria y que cumpla con las exigencias del presente artículo. La utilización de un agua proveniente de un suministro público queda condicionada a la aprobación de la autoridad competente, la que se deberá ajustar a las pautas sanitarias existentes*", indicando luego los estándares de calidad que debe cumplir [C. A. A., 1998].

La existencia de microorganismos patógenos en el agua para consumo puede provocar intoxicaciones, en algunos casos agudas. Para identificar su presencia se utilizan microorganismos indicadores, como lo es la *Scherichia Coli* para el grupo de organismos coliformes y la *Pseudomona aeruginosa*. La primera fue adoptada internacionalmente como indicador de contaminación fecal, por ser la más resistente que las bacterias entéricas, patógenas

y por encontrarse en gran cantidad en la materia fecal del ser humano y animales de sangre caliente. Mientras que la segunda refleja una deficiencia en la higiene, son bacterias que se hallan con cierta frecuencia aún en aguas cloradas de red, incluso en ausencia de coliformes. No se encuentra con frecuencia en el agua embotellada, cuando esto ocurre generalmente existe una posible contaminación durante el proceso de embotellado. Su presencia en los sistemas de almacenamiento, tanques y cisternas, tiene como probable causa el estado deficiente de dichas instalaciones. Los límites establecidos en la legislación provincial para coliformes totales es <2.2 NMP/100mL y para *Pseudomona aeruginosa* es de ausencia para ésta bacteria [D.A.S., 1994].

En el caso de las sustancias químicas son pocas las que pueden causar problemas agudos de salud, salvo por contaminación accidental masiva del abastecimiento. Si bien es menos frecuente este tipo de contaminación, merecen atención por su frecuencia los nitratos [Dr. Jara, J. H., 1997]. Los nitratos ingeridos tienen relativamente baja toxicidad por si mismo, son rápidamente absorbidos en el estómago y se excretan con la orina, las intoxicaciones no son comunes; su gravedad depende del nivel de reducción a nitritos. Los nitratos y nitritos contenidos en el agua de bebida, pueden provocar cianosis por metahemoglobinemia en los lactantes, la ingestión de nitrito produce la aparición más rápida de efectos clínicos y el límite tolerable para este ión es correspondientemente mas bajo que para el nitrato. Los límites establecidos por las normas vigentes en la provincia de Córdoba, reguladas por D.A.S. para nitratos es de 45 mg/L, en tanto que para nitritos es de 0.1 mg/L [D.A.S., 1994].

Se debe recordar que una vez que el contenedor está lleno y sellado, el agua envasada, puede permanecer almacenada durante semanas o a veces meses. Ya que la desinfección no es sinónimo de esterilización, cualquier bacteria presente se adherirá a los lados o inferior del contenedor y se multiplicará gracias a pequeñas porciones de materia orgánica presente en el agua. Este material orgánico puede variar sustancialmente en cantidad y tipo, dependiendo de la fuente de agua, aunque en la mayoría de los casos, el nivel de materiales orgánicos sea bajo, muchos de los microorganismos presentes se adecuan a estas condiciones. Así, el agua que contiene pocos organismos, una vez embotellada, puede presentar un aumento exponencial del número de bacterias [Díaz y col., 2007]. El límite establecido para el recuento de bacterias aerobias heterotróficas es de 100 UFC/L [D.A.S., 1994].

Materiales y Métodos:

Se analizaron en total 19 muestras de aguas envasadas. Las mismas se extrajeron de bidones de 20L (cerrados y/o abiertos), botellas de 500cc y 1,65L de las marcas más reconocidas en el mercado (por cuestiones de confidencialidad las mismas no son mencionadas en el presente trabajo). En el caso de los bidones se realizó el muestreo del agua directamente de los bidones y de los mismos una vez colocados en sus respectivos dispensers, tanto del grifo de agua fría, como caliente. Las aguas envasadas en diferentes recipientes nombrados anteriormente estaban comprendidas en el período intermedio entre la fecha de envasado y fecha de vencimiento. La toma de muestra y los volúmenes extraídos se realizaron según [ISO5667-3, 1994; APHA y col. 2005] a las que se les realizaron, según las técnicas indicadas en cada caso, las siguientes determinaciones:

- Análisis de nitratos y nitritos: La determinación se realizó por la técnica estándar del SMWW, en el caso de nitratos por el método espectrofotométrico por barrido ultravioleta 4500 NO- 3 B y nitritos por el método colorimétrico 4500 NO-2 B [APHA y col 2005].
- Análisis microbiológicos: La determinación de las bacterias aerobias mesófilas (heterotróficas) totales en agua, se realizó según la técnica de recuento de heterótrofos totales en placa fluida (9215 A y B), los coliformes totales por fermentación en tubos múltiples utilizando caldos lauril sulfato y Mc Conkey y el resultado fue expresado según la técnica del número más probable (NMP). En cuanto a la identificación de coliformes fecales, se sembró por aislamiento en placas con agar eosina azul de metileno, aquellos tubos que dieran positivos en coliformes (9221 C). Por otro lado, la detección y recuento de *Pseudomona aeruginosa* se efectuó según

la técnica de tubos múltiples (9213 F), indicándose presencia o ausencia en 100mL, confirmándose su presencia por aislamiento en agar cetrimide [ICMSF., 1982; APHA y col. 2005].

- Observación de otras características: Se tuvieron en cuenta algunos detalles del envase de agua como las fechas de elaboración y vencimiento, rotulación, tiempo de almacenaje hasta su colocación en el dispenser, entre otros.

Resultados y discusión

Se observo en los bidones para agua envasada que en su gran mayoría no presentan fecha de elaboración ni vencimiento, no poseían rótulo identificatorio del establecimiento elaborador, suciedad exterior, desgaste de los mismos y también en uno de ellos presencia de algas. En cuanto al período entre las distintas fechas de elaboración y la fecha de funcionamiento del recipiente en el dispenser, se tuvo en cuenta que cuando los bidones se encuentran bien almacenados, no incide el período de espera en el recuento total. Los envases del agua mineral se encontraban correctamente rotulados, obedeciendo todos los requisitos impuestos por la legislación vigente.

En las muestras de agua tomadas directamente del bidón cerrado, el cual posteriormente fue colocado en el abastecedor de agua para una siguiente toma de otra muestra desde grifo del mismo; comparando los resultados se observó una reducción del recuento total de casi el 60%. Esto puede estar asociado a la ausencia de oxígeno a la que es sometida el agua al transitar por la tubería del equipo, además de la refrigeración de la misma, que también retarda el crecimiento.

En el caso de la muestra de agua caliente se reduce aproximadamente en un 100% sin presencia de *Pseudomona aeuroginosa*, lo cual puede asociarse a la temperatura adquirida por el agua en el dispenser que ronda entre 70-80 °C, donde se produce una esterilización por la acción del calor sobre las bacterias.

El 66% de las aguas minerales naturales presentó un alto recuento total de bacterias aerobias, a diferencia de las mineralizadas que no presentaron contaminación alguna.

Las aguas minerales se encontraban todas correctamente rotuladas, obedeciendo todos los requisitos impuestos por la legislación vigente [C. A. A., 1998].

Los resultados de los análisis físico-químicos realizados a 10 muestras provenientes de distintos orígenes son presentados en la Tabla 1.

Tabla 1: Contenido de nitratos y nitritos en muestras de aguas envasadas.

Muestra N°	Nitratos (ppm)	Nitritos (ppm)
1	26,43	0,029
2	19,00	0,092
3	18,59	0,013
4	4,17	0,052
5	43,57	0,069
6	39,76	0,014
7	0,98	0,015
8	<1	0,037
9	2,823	0,034
10	<1	0,041

Para los análisis microbiológicos se recogieron 19 muestras de distintos orígenes cuyos resultados son expuestos a continuación en la Tabla 2.

Tabla 2: Resultado microbiológico y procedencia de 19 muestras de agua envasada.

Muestra N°	Lugar de la toma de muestra. Características	Bacterias Aerobias (UFC/mL)	Coliformes Totales (NMP/100mL)	P. Aeuroginosa (100mL)
1	Bidón cerrado	< 1	< 2	Ausencia
2(*)	Bidón cerrado	1289(**)	< 2	Ausencia
3	Bidón cerrado	98	< 2	Ausencia
4(*)	Dispenser, grifo agua temperatura ambiente	110(**)	< 2	Ausencia
5(*)	Dispenser, grifo agua temperatura ambiente	3820	< 2	Ausencia
6(*)	Dispenser; Bidón puesto el día de muestreo; grifo de agua refrigerada	> 5700(**)	< 2	Presencia(**)
7	Botella agua mineral natural de manantial. Botella cerrada	1	< 2	Ausencia
8	Botella Agua mineralizada artificialmente. Botella cerrada	1	< 2	Ausencia
9(*)	Botella Agua mineral de manantial. Botella cerrada	2123(**)	< 2	Ausencia
10(*)	Botella Agua mineral de natural. Botella cerrada	2095(**)	< 2	Ausencia
11(*)	Dispenser. Grifo, agua refrigerada	310(**)	< 2	Presencia(**)
12(*)	Bidón	2700(**)	< 2	Presencia(**)
13(*)	Dispenser. Grifo, agua refrigerada	270(**)	< 2	Ausencia
14(*)	Bidón	800(**)	< 2	Ausencia
15	Dispenser. Grifo, agua caliente	< 1	< 2	Ausencia
16(*)	Dispenser. Grifo, agua refrigerada	2800(**)	< 2	Presencia(**)
17(*)	Bidón	>6500(**)	< 2	Presencia(**)
18(*)	Dispenser. Grifo, agua refrigerada	860(**)	< 2	Ausencia
19(*)	Bidón	1100(**)	< 2	Ausencia

Referencias: (*) Muestras que no cumplen con la legislación provincial. (**) Valores por encima del límite permitido.

La calidad del agua puede alterarse durante el proceso, desde la producción hasta la distribución a los consumidores. Los procesos que se utilizan en el tratamiento del agua purificada son teóricamente de buena calidad. Generalmente el manejo que se le da al envase en esta etapa, puede no ser el óptimo, existiendo factores de contaminación del recipiente: mala manipulación del personal, desinfección inadecuada o un almacenamiento incorrecto. Al comercializarse el agua en envases retornables aumenta la probabilidad de un alto riesgo implícito.

Un alto porcentaje de bacterias se encuentran en los reservorios de los abastecedores de agua, obteniendo como resultado la formación de un biofilm; para evitarlo se realiza un adecuado mantenimiento del mismo, comúnmente ofrecido por la empresa distribuidora. Cuando se procede al cambio de un bidón vacío a un bidón con agua, este último sirve de fuente de material orgánico, que es accesible a los organismos residuales. Los reservorios son semejantes a un sistema abierto donde su contenido bacteriano está correlacionado con la cantidad de agua fresca que ingrese al dispenser, es decir, se añade más material orgánico [Díaz y col. 2007]. Es relevante la importancia de limpiar y esterilizar periódicamente estas unidades con una solución de lejía, para minimizar los potenciales problemas.

Conclusiones

De un total de 19 muestras analizadas microbiológicamente: 5 resultaron ser totalmente aptas para el consumo humano, 5 presentan crecimiento de *Pseudomonas*, 11 mostraron altos recuentos de unidades formadoras de colonias y de las 3 restantes solo se puede objetar que presentan un recuento levemente superior a lo permitido. En el caso de las UFC indican una presunta contaminación en el proceso de embotellado y el contenido de *Pseudomonas* implica un peligro potencial para la salud, sobre todo para las personas inmunodeprimidas.

En la evaluación del contenido de nitratos y nitritos, el resultado de las 10 muestras se encuentra dentro de los límites estipulados por la legislación vigente.

Se considera necesario establecer medidas de control con relación a las condiciones sanitarias de los envases que se utilizan para el transporte del agua embotellada.

Referencias:

APHA; AWWA; WPCF. American Public Health Association; American Water Works Association; Water Pollution Control Facilities. 2005. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 21th.*

C. A. A. Código Alimentario Argentino. 1998. *Actualización Acumulada Ley18.284.* Buenos Aires, Argentina. Ediciones Marsocchi. págs. 461-496.

D.A.S, Sistema Provincial de Control de Calidad. 1994. *Normas Provinciales de Calidad y Control de Agua para Bebida, Resolución Di.P.A.S. 608/93.* Córdoba. vol. I.

Díaz, J.C; Caraballo, H; Villareal, M; Lobo, A; Rosario, J; Briceño, J; Gutiérrez, G; Díaz, S. 2007. *¿El Agua Embotellada es Adecuada para Nuestro Consumo?* Venezuela. vol. VI. 11:2-12.

Dr. Jara, J. H. Instituto Nac de Epidemiología. 1997. *Curso de Epidemiología de las Enfermedades Transmitidas por Alimentos.* Mar del Plata : Estructura modular 2, Módulo 4 Control del Medio.

ICMSF., International Commission on Microbiological Specifications for Foods. 1982. *Microbiología de los Alimentos - Técnicas de Análisis Microbiológico.* Acribia.

ISO5667-3. International Organisation for Standardisation. 1994. *Guía para la conservación y manipulación de muestras.* parte 3. Norma Europea.