

Determinación de coliformes totales y fecales en aguas de uso tecnológico para las centrífugas

María Teresa Fernández-Santisteban

Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar (Icidca).
Vía Blanca 804 y Carretera Central, San Miguel del Padrón, La Habana, Cuba.
maritere.fernandez@icidca.azcuba.cu

RESUMEN

Los coliformes son indicadores de contaminación del agua y los alimentos. La determinación y concentración de estas bacterias en el agua condensada para usos tecnológicos en los centrales azucareros proporciona una herramienta de control indispensable para conocer su calidad. El objetivo del trabajo fue la detección y enumeración de coliformes totales y fecales a las aguas para el lavado del azúcar crudo en las centrífugas en dos centrales del país por el método del número más probable (NMP), tomando como referencia las NC-ISO 4831-7218 y NC 968. Los resultados reflejaron la presencia en estas aguas de coliformes fecales y totales, estos últimos, por encima de los límites máximos admisibles reportados en la norma. Asimismo indicaron que algunas de estas aguas no cumplen los requisitos sanitarios del agua potable.

PALABRAS CLAVE: coliformes totales, coliformes fecales, contaminación, calidad, agua.

ABSTRACT

Coliforms are indicators of contamination of water and food. The determination and concentration of these bacteria in the condensed water for technological uses in sugar mills provides an indispensable control tool to know their quality. The objective of the work was to detect and enumerate total and fecal coliforms in the waters for the washing of raw sugar in the centrifuges at two plants of the country by the method of the most probable number (NPM), taking as reference the NC-ISO 4831-7218 and NC 968. The results showed the presence in these waters of fecal and total coliforms, the latter, above the maximum admissible limits reported in the standard. They also indicated that some of these waters do not meet the sanitary requirements of drinking water.

KEYWORDS: total coliforms, fecal coliforms, contamination, quality, water.

INTRODUCCIÓN

El agua es un elemento fundamental en el proceso de fabricación de azúcar crudo y proviene de dos fuentes principales: el agua contenida en la caña de azúcar y que se recupera en los procesos de evaporación y cristalización y el agua cruda proveniente de ríos y pozos naturales. El agua que se recupera en los procesos de evaporación o agua de condensados se utiliza como agua vegetal para el

lavado del azúcar en las centrífugas. La calidad de esta agua es un factor determinante en la industria azucarera y puede incidir directamente en la calidad microbiológica del azúcar. Por ello, se hace necesario que esta agua cumpla con los requisitos microbiológicos de la calidad sanitaria del agua potable. Uno de los grupos de microorganismos recomendados en guías y normas como indicadores de la calidad del agua potable e importantes para su valoración en términos sanitarios, es el grupo de

las bacterias coliformes, el cual está formado por los coliformes totales y fecales o termotolerantes, estos últimos relacionados con la posible presencia de contaminación fecal (1). Teniendo en cuenta estos análisis el objetivo del trabajo fue la detección y enumeración de este grupo bacteriano en el agua de uso tecnológico para las centrífugas en dos centrales azucareros productores de azúcar crudo, durante los meses de zafra, año 2016 y 2017.

MATERIALES Y MÉTODOS

La detección y enumeración de coliformes fecales y totales se realizó por la técnica del número más probable o tubos múltiples de fermentación (NMP), según la NC-ISO 4831:2010 (2), NC-ISO 7218: 2013 (3) y NC 968:2013 (4).

Se colectaron y analizaron muestras de agua durante dos meses consecutivos en la zafra 2016 y 2017 en días puntuales. Los resultados se reportan como NMP de coliformes/100 mL de agua.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las aguas para el lavado del azúcar en las centrífugas o agua de condensado son aguas turbias contaminadas con trazas de azúcar (figura 1). Esta contaminación es provocada principalmente por arrastres de pequeñas gotas de jugo en el vapor, por fallos de hermeticidad en los intercambiadores de calor y por incumplimiento de la disciplina tecnológica, aspectos frecuentes en las fábricas de azúcar (5). Estas aguas no deben tener microorganismos debido a que alcanzan temperaturas próximas a los 90 °C, lo que la convierte en un agua apta para ser utilizada como agua vegetal en el lavado del azúcar. Además debe cumplir estrictamente los parámetros de calidad del agua potable, ya que están en contacto directo con el azúcar, que es un alimento. Sin embargo, no siempre la temperatura de estas aguas se mantiene igual, oscila entre los 40 y 90 °C y en ocasiones puede contaminarse por malas condiciones higiénicas en el área de las centrífugas o por la entrada de agua cruda al tanque de condensado (6).

La detección y enumeración de coliformes totales y fecales por el método del NMP se fundamenta en la capacidad de este grupo microbiano de fermentar la lactosa con producción de gas (CO₂) (figura 2). El método consta de dos pruebas: la prueba presuntiva, que permite la recuperación de los microorganismos dañados que se encuentren presentes en el agua y que sean capaces de utilizar la lactosa como fuente de carbono, cuando son incubados a una temperatura de 37 °C por un



Figura 1. Aguas de condensados.

período de 24 a 48 horas y la prueba confirmativa que utiliza un medio de cultivo diferencial que contiene sales biliares y que elimina el desarrollo de microorganismos no coliformes (7). La diferencia de esta última prueba para determinar coliformes totales o fecales está en la temperatura de incubación.

Las aguas de condensado analizadas en este estudio resultaron positivas en la prueba presuntiva (datos no mostrados). En todas, se observó abundante crecimiento de bacterias y formación de gas a las 24 horas de incubación, confirmando la presencia en estas aguas de una alta concentración de bacterias del grupo coliformes. En Cuba, no hay reportes de este tipo de análisis a las aguas de condensado de los centrales azucareros, solo existe un estudio realizado por Duarte *et al.* (8), el cual brinda una visión amplia del comportamiento microbiológico en diferentes partes del proceso de fabricación de azúcar crudo. Estos autores, obtienen una concentración entre 10⁵-10⁷ bacterias/mL en las aguas de condensado del central G. A. Mañalich en la zafra de 1971, 1972 y 1973, resultados que incidieron directamente en la calidad microbiológica de las mieles y el azúcar (8). Los autores comprobaron en su estudio que al ejercer un control más eficiente sobre el agua de lavado utilizada en las centrífugas provocó la disminución de la carga contaminante en el azúcar. La alta concentración de bacterias obtenidas en la prueba presuntiva pudo estar relacionada, en primer lugar, con la temperatura del agua en el tanque del condensado, la cual estuvo por debajo de 90 °C, propiciando el desarrollo de estos microorganismos y en segundo lugar, por malas condiciones higiénicas en el área donde están ubicadas las centrífugas. Ambos elementos afectan la calidad de estas aguas; de ahí la necesidad de realizar su vigilancia microbiológica durante toda la zafra.

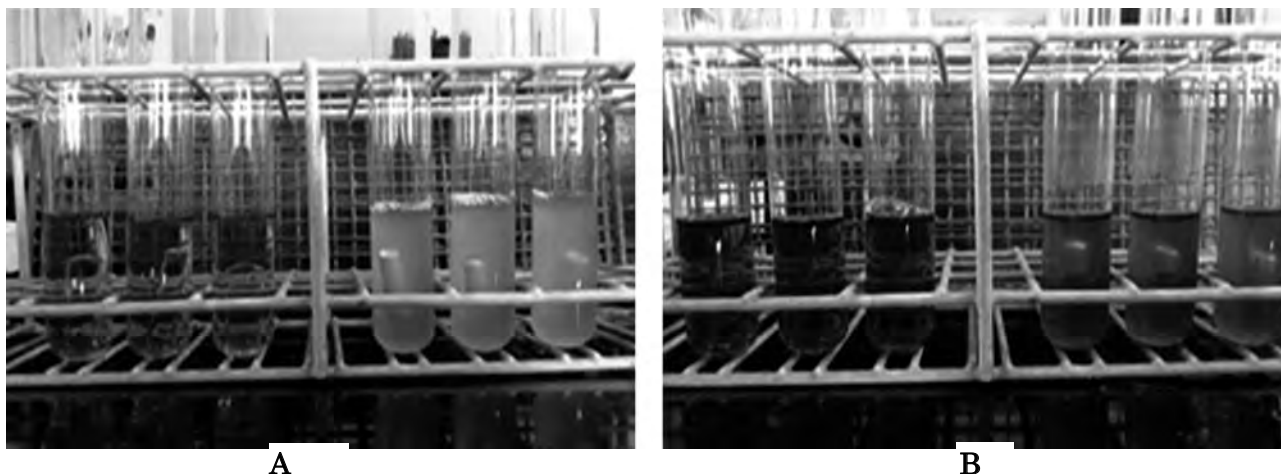


Figura 2.

- A.** Prueba presuntiva. Tubos conteniendo Caldo triptosa lauril sulfato, izquierda: tres tubos negativos, derecha: tres tubos positivos, mostrando gas en la campana de Durham.
- B.** Prueba confirmativa. Tubos conteniendo Caldo lactosa bilis verde brillante, izquierda tres tubos negativos, derecha tres tubos mostrando gas en la campana de Durham lo que se interpreta como resultado positivo.

Las muestras de agua que resultan positivas en la prueba presuntiva, se les realiza la prueba confirmativa, para reducir la posibilidad de resultados falsos-gas positivos; que pudieran ocurrir por la actividad metabólica de los microorganismos formadores de esporas o por la producción sinérgica de gas debido a que algunas cepas bacterianas no pueden, individualmente, producirlo a partir de la fermentación de la lactosa.

Para determinar el NMP de coliformes fecales en la prueba confirmativa, las muestras de agua se incubaron a una temperatura de 45 °C durante 24 horas. Los resultados de esta prueba confirmaron la presencia de coliformes fecales en el agua de condensado recolectada en el mes de febrero de 2017, en uno de los centrales azucareros estudiados (tabla 1). De manera general, hubo ausencia total de estas bacterias en estas aguas. Cuando se detecta la presencia de coliformes fecales en cualquier fuente de agua, se considera a la especie bacteriana *Escherichia coli* como el indicador de contaminación fecal más adecuado, ya que está presente en grandes cantidades en las heces humanas y animales, en las aguas residuales y en

el agua que ha estado expuesta recientemente a contaminación fecal. Sin embargo, existen otras especies de los géneros de *Klebsiella*, *Enterobacter* y *Citrobacter* que también son termotolerantes (9). Estos últimos, tienen la capacidad de reproducirse fuera del intestino de los animales homeotérmicos cuando existen condiciones adecuadas de materia orgánica, pH, humedad, temperaturas cálidas y tiempos largos de almacenamiento, formando biopelículas en tuberías y tanques de almacenamiento (10).

En este estudio, no se detecta por otro análisis la presencia de *Escherichia. coli* como prueba concluyente de contaminación fecal, por lo tanto, el NMP de coliformes fecales detectados pudiera pertenecer a esta especie en particular o a otros coliformes termotolerantes de los géneros antes mencionados. Independientemente de esto, la presencia de *Escherichia. coli* (o bien de coliformes termotolerantes) es un indicio de contaminación fecal reciente, por lo que tras su detección es necesario la toma de medidas adicionales en los centrales, como por ejemplo: la realización de muestreos adicionales, tratamiento adecuado al tanque de condensado y mantener buenas condiciones higiénicas alrededor de las centrífugas.

Por otro lado, para confirmar la presencia de coliformes totales, se incubaron las muestras de agua a una temperatura de 37 °C durante 24 horas en un medio selectivo. Los resultados determinaron la presencia de coliformes totales en ambos centrales azucareros por encima de las 1100 bacterias/100 mL de agua. A diferencia de los coliformes fecales, estas bacterias se pueden

Tabla 1. NMP de coliformes fecales por cada 100 mL de agua de condensado

Central	NMP/100 mL			
	Marzo 2016	Abril 2016	Enero 2017	Febrero 2017
1	<3	<3	<3	<3
2	<3	<3	<3	4

encontrar en grandes cantidades en el ambiente: fuentes de agua, vegetación y suelos, y no están asociados, necesariamente, con la contaminación fecal ni representan un riesgo evidente para la salud (1). Sin embargo, la alta concentración microbiana obtenida en varias de las muestras de agua indica que ocurrió contaminación en el tanque de condensado, la cual puede estar relacionada con la entrada al tanque de partículas de suelo que son arrastradas por el viento y por malas condiciones higiénicas en el área, donde están ubicadas las centrifugas (6).

Tabla 2. NMP de coliformes totales por cada 100 mL de agua de condensado

Central	NMP/100 mL			
	Marzo 2016	Abril 2016	Enero 2017	Febrero 2017
1	>1100	<3	>1100	<3
2	<3	<3	>1100	>1100

CONCLUSIONES

Las aguas de condensado de los centrales azucareros de manera general no contienen coliformes fecales. Sin embargo, la muestra de agua per-

teneciente al mes de febrero de 2017 no cumple los requisitos sanitarios como agua potable por la presencia de coliformes fecales.

Por otro lado, en varias de las muestras de agua se confirmó la presencia de coliformes totales por encima de los límites máximos admisibles reportados en la norma NC-ISO 7218:2013.

La detección y enumeración de coliformes como indicadores bacterianos de contaminación a las aguas de condensado garantiza la aplicación de un sistema de vigilancia, que aunque es limitado, teniendo en cuenta los perjuicios a la salud que pueden provocar el resto de los agentes patógenos implicados en la transmisión hídrica, aporta elementos importantes para minimizar futuras contaminaciones en el azúcar crudo.

RECOMENDACIONES

Proponer la inclusión en la actual norma cubana del azúcar crudo (NC 85:2013) los análisis para la detección y enumeración de coliformes totales, fecales y *Escherichia coli* sobre la base del conocimiento de los límites microbiológicos permisibles según los estándares internacionales.

Realizar este estudio a las aguas de proceso de todos los centrales del país.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Robert, M. Microorganismos indicadores de la calidad del agua potable en cuba. Revista CENIC Ciencias Biológicas, Vol. 45, No.1, pp, 32-43, 2014.
- Norma Cubana-ISO 4831: 2010. Método horizontal para la detección y enumeración de coliformes. Técnica del número más probable.
- Norma Cubana ISO 7218:2013. Microbiología de alimentos de consumo humano y animal. Requisitos generales y guía para los exámenes microbiológicos.
- Norma Cubana 968:2013. Método horizontal para la detección y enumeración de coliformes termotolerantes. Técnica del número más probable.
- Rodríguez, L. E., Batista R. Eliminación del consumo de agua cruda en el proceso de fabricación de azúcar crudo de caña. Ciencias Holguín, Revista trimestral, Año XV, julio-septiembre, 2009
- Manual para el Laboratorio Microbiológico de Azúcar Crudo. Ministerio de la Industria Azucarera. Dirección de NMCC. 1981.
- Camacho, A., M. Giles, A. Ortigón, M. Palao, B. Serrano y O. Velázquez. Técnicas para el Análisis Microbiológico de Alimentos. 2ª ed. Facultad de Química, UNAM. México. 2009.
- Duarte, E., Valdés, I., Paz, L y M. Negrete. Estudio sobre la microflora de la producción de azúcar crudo. Revista ICIDCA Vol. 8, No. 1, pp, 37-50, 1974.
- Gómez, M., Peña, P., Vásquez, M. Determinación y diferenciación de *Escherichia coli* y coliformes totales usando un mismo sustrato cromogénico. Laboratorio Central. Aquagest. Galicia, España.1999.
- Allen, M. La Importancia para la salud pública de los indicadores bacterianos que se encuentran en el agua potable. Reunión sobre la calidad del Agua Potable. CEPIS. OPS. OMS. Lima, Perú. 1996.