

## Incidencia de microorganismos mesófilos en la producción del agua de bebida envasada

Corredor Y.R.<sup>1</sup>, Mercado M.M.<sup>1</sup>, Pérez G.A.<sup>2</sup>, Campos C.<sup>3</sup>

### Resumen

Con el fin de determinar una posible incidencia de microorganismos mesófilos en la producción del agua de bebida envasada, se analizaron los factores más importantes implicados en la producción.

Para determinar la calidad del agua, se almacenó en diferentes tipos de envases (policarbonato, vidrio, polietileno de alta densidad (PAD), polietileno de baja densidad (PBD) y polipropileno coextruido con polietileno (PCP), y posteriormente se realizaron recuentos totales para microorganismos mesófilos y número más probable para coliformes totales y *Pseudomonas aeruginosa* obteniéndose menores recuentos en el agua envasada en vidrio.

Posteriormente, se compararon los tratamientos de descontaminación del agua (cloración-ozonización) utilizando dos tipos de envase (PBD y PCP), para determinar el material y tratamiento que conservan mejor las características organolépticas-fisicoquímicas y la menor incidencia de microorganismos mesófilos durante el tiempo de almacenamiento del producto. El envase más adecuado es el de PCP de calibre 2,5 con el tratamiento de cloro 0,6 pm; también se demostró que el crecimiento bacteriano fue un producto más del almacenamiento y el tipo de envase, ya que al realizar el muestreo de los sistemas de producción, el agua fue siempre potable. Finalmente, se realizó un panel de saboreo, obteniéndose una preferencia del 80% de los encuestados, hacia el envase de PCP con el tratamiento de cloro.

### Summary

With the purpose, of determining the likely incidence of mesophilic microorganisms on bottled drinking-water (BDW), the most relevant factors involved in the water production were analyzed.

In order to determine the quality, water was stored in several different containers (polycarbonate, glass, high-density polyethylene (HDP), low-density polyethylene (LDP), and polyethylene-coextruded polypropilene (PCP) containers), and subsequently total counts were analysed for mesophilic microorganisms and the most likely number for total coliforms and *Pseudomonas aeruginosa*. The best results were achieved by using glass-containers.

---

<sup>1</sup> Bacterióloga, Universidad Javeriana, Santafé de Bogotá, Colombia.

<sup>2</sup> Microbióloga, Universidad de los Andes, Santafé de Bogotá, Colombia.

<sup>3</sup> Docente, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Básicas, Universidad Javeriana, Santafé de Bogotá, Colombia.

Subsequently the treatment of water (chlorination-ozonisation) was compared by using two types of containers (LDP and PCP) so as to determine which material and treatment best kept best the organoleptic and physicochemical features, as well as causing the lowest incidence of mesophilic microorganism during the span of product storage. The most adequate container turned out to be that made from 2.5 gauge PCP with 0.6 ppm chlorine treatment. It was also concluded that bacterial growth was more an additional by-product of storage and type of container since our sampling of the production methods showed that at all times the water was drinkable. Lastly, a tasting panel was held where 80% of the tasters selected chose the PCP.

Recientemente se han creado polémicas acerca de la calidad microbiológica del agua envasada. Los elevados recuentos de microorganismos mesófilos, encontrados en muestras de agua envasada después de permanecer por diferentes espacios de tiempo en la estantería, a pesar de la ausencia de microorganismos indicadores de contaminación de origen fecal, crearon una alarma considerable en la ciudadanía que estaba prevenida por la presencia del cólera en el país, ocasionando un rechazo del producto.

Virtualmente, todos los alimentos contienen bacterias de ocurrencia natural como parte de su ambiente; el agua de bebida envasada, manufacturada con el uso de múltiples barreras y cumpliendo con especificaciones severas (7), tiene una flora natural que no presenta consecuencias de riesgo para la salud pública, siempre y cuando dentro de estos microorganismos no se encuentren aquéllos que den indicio de contaminación fecal o *Pseudomonas aeruginosa*, considerada como un germen oportunista. Tanto para el consumidor como para el productor, la aceptabilidad de un producto no sólo está dada por los peligros potenciales para la salud que su consumo representa, sino que también es importante el tiempo de duración en la estantería y las características organolépticas del producto, que pueden ser debida a la calidad fisicoquímica y microbiológica de las fuentes de agua, los tratamientos empleados en la obtención del agua para el envasado y los procedimientos mismos de envasado (2). El propósito de este estudio es medir la incidencia que tienen los diversos factores implicados en el proceso de producción, transporte y almacenamiento, en la aparición de

los recuentos totales en el agua envasada en bolsa cuando ha transcurrido un tiempo de almacenamiento, con el fin de dar alternativas de solución para optimizar la calidad del producto, haciéndolo más agradable y atractivo para el consumidor.

### **Materiales y métodos**

#### *Presencia de microorganismos mesófilos en agua de bebida envasada*

Con el fin de demostrar la presencia de microorganismos mesófilos en agua de bebida envasada, se tomaron al azar muestras del producto de diferentes marcas envasadas en diferentes países. El muestreo se llevó a cabo en un día. Las muestras se dejaron en reposo durante una semana. Pasado este tiempo, se realizó el recuento de microorganismos mesófilos a cada una de estas muestras por medio de la técnica de recuento en placa y filtración por membrana para microorganismos mesófilos y, paralelamente número más probable para coliformes totales y *Pseudomonas aeruginosa* (4, 5).

#### *Comparación de la calidad del agua en diferentes tipos de envases*

En una planta procesadora de agua de bebida envasada, se compararon los diferentes tipos de envases utilizando agua de la misma calidad para ser llenados. Los tipos de envases que se compararon fueron los siguientes:

- policarbonato
- vidrio
- PAD
- PBD
- PCP

Se tomaron muestras por triplicado de cada uno a determinados intervalos de tiempo: tres el primer día de envasado, al tercer día, a los 8, 15, 20 y 30 días. Durante este tiempo se tomaron muestras de todo el proceso de la fuente de agua (pozo), del filtro de arena, de los purificadores, del pulidor y del producto terminado.

Tomadas las muestras en botellas estériles, se realizaron los siguientes análisis:

- técnica de recuento en placa para microorganismos mesófilos.
- número más probable para coliformes totales, fecales y *Pseudomona aeruginosa*.

#### *Ensayo de bolsas plásticas con los tratamientos de descontaminación*

Se analizaron dos marcas de bolsas plásticas con los tratamientos de descontaminación (1, 3):

1. Ultravioleta - cloro
2. Ozono

Se tomaron muestras por triplicado durante cinco días consecutivos; luego a los 8, 15, 20 y 30 días. Se determinaron:

- recuentos totales de microorganismos mesófilos.
- sabor: por medio de formatos de panel de saboreo.

Una vez determinado el envase de plástico y el tratamiento que reunía todas las condiciones analizadas (PCP con tratamiento de cloro) se evaluaron las variables:

- calibre de la lámina de plástico;
- condiciones ambientales de sol y sombra. Se midieron dos condiciones: ambiente del laboratorio, que se denominó sombra y el ambiente de las condiciones de transporte, que se denominó sol.
- Empleo de un empaque adicional: se tomaron bolsas individuales del producto (sencillo) y se colocaron en uno de material más grueso (doble).

#### *Medición de los valores fisicoquímicos del producto terminado*

Se midieron estos factores teniendo en cuenta el proceso de descontaminación al que fue sometido el producto y el material del empaque. La determinación del pH se llevó a cabo utilizando un potenciómetro; la alcalinidad por medio de la titulación con solución de ácido sulfúrico y con naranja de metilo como indicador; la medición del cloro y ozono se realizó por la técnica de la ortotolidina (5).

#### **Resultados**

##### *Presencia de microorganismos mesófilos en el agua de bebida envasada*

Se demostró la presencia de microorganismos mesófilos en el agua de bebida envasada en diferentes países bajo dos condiciones:

- A. Agua envasada con gas: este tipo de producto presentó menor recuento de microorganismos mesófilos comparada con la condición B (tabla 1).
- B. Agua envasada sin gas (tabla 2).

Al comparar las técnicas de recuentos de microorganismos mesófilos, filtración por membrana y recuento en placa, se observó que esta última es más confiable para realizar el recuento de este tipo de productos. La técnica de filtración por membrana tiene el problema de presentar cierto tipo de inhibición por contacto por las bacterias que quedan atrapadas en el poro.

Se demostró la ausencia de coliformes totales y *Pseudomona aeruginosa* por la técnica de número más probable.

##### *Comparación de la calidad del agua en los diferentes tipos de envases*

El proceso de producción se mantuvo microbiológicamente estable durante el tiempo de análisis. Se demostró la ausencia de coliformes totales por la técnica número más probable en la fuente de agua, pulidor y producto terminado.

Se evaluó la calidad del agua en los diferentes tipos de envases y tratamientos de descontaminación según la prueba estadística de Friedman.

**Tabla 1.** Análisis de aguas envasadas en diferentes países (con gas).

País	Tipo de agua	Especificaciones	Recuento en placa para microorganismos mesófilos	Recuento de microorganismos mesófilos por FM*	NMP** para coliformes totales	NMP** para <i>Pseudomona aeruginosa</i>
México	Agua mineral	350 ml, vidrio, tapa corona	1 UFC/ml	0 UFC/100 ml	<2,2/100 ml	<2,2/100 ml
Ecuador	Agua mineral	10 onzas, vidrio, tapa corona	6 UFC/ml	1 UFC/100 ml	<2,2/100 ml	<2,2/100 ml
Francia	Agua mineral	200 ml, vidrio, tapa corona	1 UFC/ml	0 UFC/100 ml	<2,2/100 ml	<2,2/100 ml
Chile	Agua mineral	1.500 ml, plástico, tapa corona	0 UFC/ml	0 UFC/100 ml	<2,2/100 ml	<2,2/100 ml

\* Técnica de filtración por membrana

\*\* Técnica del número más probable

**Tabla 2.** Análisis de aguas envasadas en diferentes países (sin gas).

País	Tipo de agua	Especificaciones	Recuento en placa para microorganismos mesófilos	Recuento de microorganismos mesófilos por FM*	NMP** para coliformes totales	NMP** para <i>Pseudomona aeruginosa</i>
Brasil	Agua mineral	1,5 litros, envase y tapa de plástico	13 UFC/ml	1 UFC/100 ml	<2,2/100 ml	<2,2/100 ml
Francia	Agua de fuente	14 cl vaso	540 UFC/ml	0 UFC/100 ml	<2,2/100 ml	<2,2/100 ml
E.U.A.	Agua natural	16 onzas envase y tapa de plástico	12 UFC/ml	0 UFC/100 ml	<2,2/100 ml	<2,2/100 ml
Venezuela	Agua mineral	1,5 litros envase y tapa de plástico	33 UFC/ml	0 UFC/100 ml	<2,2/100 ml	<2,2/100 ml
Colombia	Agua mineral natural	480 ml envase de plástico, tapa metálica	1.040 UFC/ml	50 UFC/100 ml	<2,2/100 ml	<2,2/100 ml <sup>8</sup>

\* Técnica de filtración por membrana

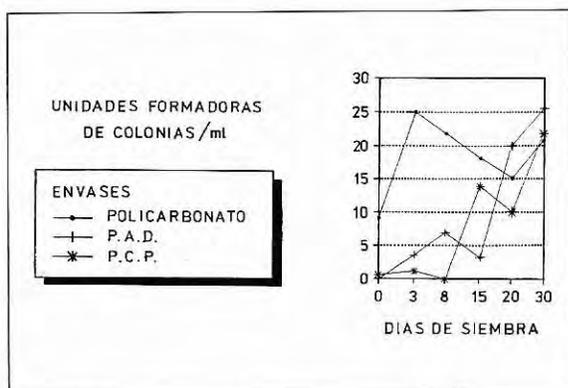
\*\* Técnica del número más probable

El análisis estadístico se dividió en dos partes:

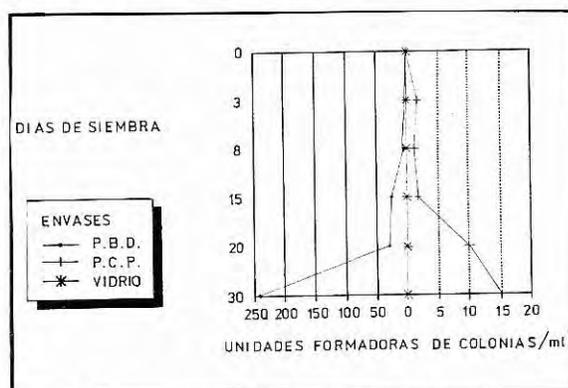
- Se comparó la calidad del agua tratada con ozono en diferentes tipos de envases (policarbonato, PAD y PCP) obteniéndose diferencias significativas entre el envase de policarbonato y PCP (figura 1).
- Se comparó la calidad del agua tratada con cloro en diferentes tipos de envases (vidrio, PBD y PCP) obteniéndose diferencias signifi-

cativas entre los diferentes envases; el envase óptimo es el de vidrio en donde el agua se mantuvo estéril durante el tiempo de almacenamiento (figura 2).

Al comparar los envases de plástico, el PCP resultó ser mejor que el PBD puesto que el recuento de microorganismos mesófilos fueron más bajos durante el tiempo de almacenamiento para el análisis del producto.



**Figura 1.** Comparación de la calidad del agua en diferentes tipos de envases tratados con ozono.



**Figura 2.** Comparación de la calidad del agua en diferentes tipos de envases tratados con cloro.

#### *Ensayos de bolsas plásticas con los diferentes tratamientos de descontaminación*

Se comparó la calidad del agua tratada con cloro en dos tipos de envase plástico (PBD y PCP) obteniéndose recuentos más bajos de microorganismos mesófilos con el plástico de PCP durante el tiempo de almacenamiento (figura 2).

Se comparó la calidad del agua tratada con cloro y con ozono en la misma clase de plástico (PCP) obteniéndose mejores resultados con el tratamiento de descontaminación de cloro ya que su efecto residual es más prolongado.

En cuanto a las condiciones fisicoquímicas de las diferentes marcas y tratamientos de descontaminación se mantuvieron estables durante todo el tiempo de almacenamiento.

El empleo de un empaque adicional evita que el producto se contamine y tome olores desagradables

durante el proceso de transporte, distribución y almacenamiento.

Todos los resultados se valoraron por curvas de estabilidad microbiológica del producto, tomando en el eje de la X el tiempo en que se realizó el análisis y en el eje de la Y el crecimiento bacteriano (UFC/ml).

Por medio de formatos de panel de saboreo, se observaron los siguientes resultados en cuanto a preferencias de sabor y envases con los diferentes tratamientos de descontaminación.

Producto 1: PBD con tratamiento de cloro.

Producto 2: PCP con tratamiento de cloro.

Producto 3: PCP con tratamiento de ozono.

El 80% de los encuestados prefirieron el sabor del producto 2 debido a que el sabor del agua les pareció más natural e inodoro.

El 90% de los encuestados prefirieron el envase del producto 2 debido a su transparencia, la cual le da un aspecto más higiénico y cristalino al agua ("provoca tomarla").

#### **Discusión**

Los resultados evaluados indican que el agua de bebida envasada no es estéril y normalmente los microorganismos presentes participan en el ciclo de vida biológico del producto no siendo nocivos para la salud, debido a que no poseen capacidad patógena para el hombre.

La presencia de microorganismos mesófilos varía de acuerdo al tratamiento de descontaminación que se le dé al agua y al tipo de envase en el que esté contenida durante el tiempo de almacenamiento hasta su consumo.

Dependiendo de las barreras que el envase proporcione, el producto se va a conservar por más tiempo. Se determinó que el envase que proporciona todas las barreras para que el producto permanezca inalterable es el envase de vidrio.

En cuanto al material de envase de plástico, el PCP proporciona mayores barreras que el envase de PBP; es por esto que resulta ser más confiable para la conservación de las caracte-

rísticas fisicoquímicas y microbiológicas del producto. Está comprobado que las barreras contra el vapor de agua, grasas, aromas y gases son buenas, mientras de las barreras de la lámina de PBD contra estos factores son malas o nulas lo que permite la alteración del producto en menos tiempo.

El tratamiento de descontaminación elegido fue el de cloro debido a que pudo garantizar una desinfección efectiva en un período de tiempo más prolongado, puesto que ejerce un efecto residual sobre la materia orgánica que se encuentra en el agua envasada; el ozono en cambio presenta una baja solubilidad y estabilidad, lo que hace que no se mantenga por mucho tiempo en el agua, permitiendo el aumento de recuento de microorganismos mesófilos.

### Conclusiones

1. La presencia de microorganismos mesófilos en el agua de bebida envasada en diferentes países y con diferentes tratamientos de descontaminación, demuestra que los mesófilos son flora natural de este tipo de productos.
2. La técnica de recuento en placa proporciona resultados más reproducibles que la técnica de filtración por membrana, ya que esta última tiene el inconveniente de presentar inhibición por contacto.
3. La lámina de plástico PCP de calibre 2,5, proporcionó mayores ventajas sobre la lámina de PBP, debido a que evita el paso de gases, olores y sustancias que pueden alterar la vida útil del producto.
4. El tratamiento de descontaminación con cloro resultó más eficiente que el tratamiento con ozono debido al efecto residual del cloro que es más prolongado que el del ozono.
5. El agua contenida en el envase de PCP tratada con cloro, conservó mejor sus características sensoriales, comparada con el agua tratada con ozono.
6. Se comprobó que el empleo de un empaque adicional, protegía el producto de la contaminación durante el proceso de transporte, distribución y almacenamiento.

### Agradecimientos

A Claudia Campos P, bacterióloga de la Pontificia Universidad Javeriana.

### Bibliografía

1. **Ajdari A, Ludmik L.** Los plásticos heterogéneos. Mundo Científico 1990; 116:860.
2. **Broody AL.** Empaquetado y sabor. Tecnología y Producción 1989; 7:28.
3. **Combs RF.** Comparación de la clorinación, ozono y luz UV. Beverage World International 1986; 12:20.
4. **Hofmann F.** Integrity testing of microfiltration membranes. Journal of Parenteral Science and Technology 1984; 4: 148.
5. Instituto Nacional de Salud. Análisis microbiológico de alimentos. 1988.
6. **Korshon E.** Activity assessment in drinking water bacteriology-a comparison on methods and possibilities. Aqua 1988; 3:133.
7. Ministerio de Salud. Resolución número 012186 del 20 de septiembre de 1991 por la cual se fijan las condiciones para los procesos de obtención, envasado y comercialización del agua potable tratada, con destino al consumo humano.
8. **Renton SP, Durstow S.** The bacterial screening of food and water. Med Lab Sci 1989; 46: 207.
9. **Wrasidlo W, Mysels KJ.** The structure and some properties of graded highly asymmetrical membranes. Journal of Parenteral Science and Technology 1984; 1:24.