

Estudio microbiológico de efluentes de fábricas de elaboración artesanal de quesos

Microbiological study of effluents from artisanal cheese factories

BUCCELLA, G.¹; CISNEROS BASUALDO, N. E.^{2,3}; RODRÍGUEZ, C. I.^{2,4}; KRÜGER, A.^{1,5}; TABERA, A.E.¹

¹Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires, Tandil, Argentina. ²Centro de Investigaciones y Estudios Ambientales (CINEA). Facultad de Ciencias Humanas. Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires. Tandil, Argentina. ³Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires (CICPBA), La Plata, Argentina. ⁴Consejo Nacional de Investigaciones Científicas (CONICET), CABA, Argentina. ⁵Centro de Investigación Veterinaria de Tandil (CIVETAN) (CONICET, CICPBA, UNCPBA).

RESUMEN

En el partido de Tandil (provincia de Buenos Aires) existen fábricas de quesos de tipo artesanal, que se ubican mayormente en zonas rurales. Fueron seleccionados 7 establecimientos lácteos en donde se realizaron muestreos durante 4 años, con el objetivo de evaluar la calidad microbiológica de los efluentes vertidos por las queserías. Se identificaron distintas disposiciones finales de efluentes: por eliminación directa de desechos al ambiente, o por vertido en piletas o lagunas de estabilización. Se estudiaron microbiológicamente 41 muestras, analizando los contenidos en coliformes termotolerantes, según los límites del reglamento de vuelco de la Autoridad del Agua de la provincia de Buenos Aires. Los resultados mostraron que el 50 % de las muestras de vuelcos superaron el límite exigido de coliformes termotolerantes. También se hallaron, en algunas muestras, *Escherichia coli*, *Enterococcus* spp., y otras bacterias entéricas. Los problemas encontrados en los vertidos estuvieron relacionados con la falta de asesoramiento adecuado para adoptar sistemas de tratamientos eficientes y también al costo que implica su implementación.

Palabras clave: (queserías artesanales), (descarga de efluentes), (controles microbiológicos), (coliformes termotolerantes)

SUMMARY

In Tandil (Buenos Aires province) there are artisanal cheese factories, which are mostly located in rural areas. Seven cheese factories were selected, and sampling was carried out for 4 years to evaluate the microbiological quality of their effluents. Different ways of effluent disposal were identified: by direct discharge to the environment, or with a system of pools or stabilization lagoons. A total of 41 samples were microbiologically analyzed and the contents of thermotolerant coliforms were compared to the limits of the regulations by the Water Authority of the province of Buenos Aires. The results showed that 50% of the samples exceeded the required limit of thermotolerant coliforms. *Escherichia coli*, *Enterococcus* spp., and other enteric bacteria were also found in some of the samples. The problems encountered in the discharges were related to the lack of adequate advice to adopt efficient treatment systems and also to the cost involved in their implementation.

Keywords: (artisanal cheese factories), (effluent discharge), (microbiological controls), (thermotolerant coliforms)

INTRODUCCIÓN

En la Argentina, como en el resto del mundo, cada vez se pone más énfasis en estudiar las producciones agropecuarias junto con los cambios que producen en el entorno y, sobre todo, su impacto ambiental⁶. En el caso de las producciones lecheras, se necesita garantizar la disponibilidad de agua apta para el consumo de la población rural, así como para la alimentación de los animales y otras prácticas ganaderas. Debido a esto, se requiere un análisis integral del agua que evalúe su gestión dentro del proceso productivo y la disposición final del efluente generado^{5,7}.

Generalmente, la fuente de provisión de agua de los tambos es la subterránea y en muchos casos las perforaciones se encuentran a escasa distancia de fuentes de contaminación: corrales de animales, lugares de vertidos de efluentes, pozos absorbentes de las viviendas y establecimientos; poniendo en riesgo la calidad química y microbiológica del recurso^{10,13}.

En los establecimientos que poseen producción de leche vacuna integrada con la fabricación de productos lácteos se produce un especial interés en el efluente generado para que cumpla con las normativas para los vertidos líquidos³. El vertido de efluentes sin tratamiento en el suelo o en cuerpos de agua superficiales puede tener impacto sobre la calidad del recurso hídrico, afectando también a las aguas subterráneas. De

esa manera, se produciría la degradación de la calidad físico-química y microbiológica del agua, incluyendo la disminución del oxígeno disuelto en los cuerpos de agua superficiales. Debido a esto, es necesario hacer un seguimiento de los vertidos de efluentes, mediante análisis periódicos, para verificar que los parámetros sean los adecuados y que se puedan liberar al ambiente disminuyendo el peligro de contaminación¹⁴.

Los tratamientos de efluentes y los controles posteriores del cumplimiento de su eficiencia pueden implicar costos difíciles de solventar para los pequeños productores⁹. Esta situación no puede ser una traba, sino que debería estar acompañada por mecanismos de apoyo, asesoría y financiamiento para su desarrollo. Un sistema de tratamiento muy utilizado en la zona de estudio consiste en emplear separadores de sólidos, canales y piletas de estabilización¹¹.

Sumado a lo anterior, existen debilidades en la gestión integral del agua en la mayoría de los sitios, por lo tanto, no se reutiliza para diversas actividades como por ejemplo limpieza de instalaciones, lo cual disminuiría la cantidad de los vuelcos a los cuerpos de agua¹². También el lactosuero, que se produce en grandes volúmenes durante la fabricación de quesos, se podría reciclar desarrollando nuevas formulaciones alimentarias, ya que posee alto contenido proteico⁸.

En este trabajo se planteó como objetivo evaluar la calidad microbiológica de efluentes de fábricas elaboradoras de quesos de tipo artesanal del partido de Tandil, a través de la evaluación de indicadores fecales, como coliformes termotolerantes, *Escherichia coli* y enterococos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se seleccionaron 7 establecimientos lecheros ubicados en zonas rurales dentro del partido de Tandil. Cinco de ellos presentan tambos y fábricas de quesos de tipo artesanal en el mismo emplazamiento, mientras que dos solamente realizan la actividad de fabricación de quesos (Tabla 1).

Se realizaron al menos 2 visitas anuales, en distintas estaciones del año, en un período de 3 a 4 años (2016-principio de 2020), según las posibilidades en cada establecimiento.

Todos los establecimientos utilizan agua subterránea obtenida a partir de perforaciones para consumo humano y animal, y para funcionamiento y limpieza en las maquinarias del tambo y fábrica de productos lácteos con la consiguiente formación de aguas residuales. En ningún caso existe conexión con una red cloacal centralizada.

Se estimaron los consumos de agua en cada etapa de los procesos productivos de los tambos y las queserías, de manera de conocer los volúmenes diarios de efluentes generados en cada caso. Para ello se realizaron aforos volumétricos en el momento de los procesos para cada uso de agua. En los tambos se midieron los consumos de agua de la placa de refrescado y para la limpieza de las instalaciones. En las fábricas, se evaluaron los consumos de la pasteurización y la limpieza de maquinarias y edificios.

Se registró el manejo y la disposición de los efluentes en cada establecimiento. En los casos en los que se volcaban los efluentes crudos de las queserías a lagunas o arroyos, se recolectaron las muestras directamente a la salida de las instalaciones. En aquellos establecimientos que vertían sus efluentes en piletas y/o lagunas, la metodología de la toma de muestra se basó en la propuesta por Taverna

et al¹⁵ con modificaciones adaptadas a los distintos sitios (Figura 1).

Se tomaron sub-muestras con un brazo extensor firme de 2 m, en envases de 0,5 L y se depositaron en un balde recolector de 20 L. Luego de homogeneizar bien el efluente, en sentido vertical y horizontal, se trasvasó una alícuota de 50 mL de muestra a un recipiente estéril. Todas las muestras fueron rotuladas y trasladadas refrigeradas, hasta su procesamiento en laboratorio. Se procesaron a las pocas horas de realizada la toma de muestra, siempre dentro de las 24 horas de la toma.

Se efectuaron determinaciones microbiológicas para la búsqueda de los indicadores fecales: coliformes termotolerantes (CTT), *Escherichia coli* y *Enterococcus* spp. Para la búsqueda de los CTT, primero se realizó la determinación de microorganismos coliformes totales por el método del Número Más Probable (NMP). Se inocularon series de 3 tubos, conteniendo 9 mL de caldo Lauril Sulfato (LS) y campana de Durham, con alícuotas de 1 mL de las muestras y de distintas diluciones decimales (hasta 10⁻⁶, según la clase de muestra) y se incubó a 35 ± 0,5 °C durante 48 h. Se registraron los tubos positivos (turbidez y gas), confirmando en medio Lactosa Bilis Verde Brillante caldo (LBVB). Desde los tubos positivos del ensayo anterior, se transfirieron a caldo EC, y se incubaron a 44,5 ± 0,2 °C durante 24 h. Se registró el número de tubos positivos y se determinó el NMP/100 mL de CTT a partir de tablas y cálculos correspondientes a las diluciones.

Para la detección de *E. coli* se sembraron los cultivos positivos de caldo EC en medios selectivos y diferenciales (Agar Mac Conkey, Agar eosina azul de metileno, Agar Chromobrit CC®) y posteriormente se realizaron las pruebas bioquímicas para su identificación¹. Se registraron las muestras en las que hubo detección de *E. coli*. A partir de las pruebas bioquímicas realizadas a distintas colonias en esta etapa, se identificaron otras bacterias y se registraron.

La búsqueda e identificación de *Enterococcus* spp. se realizó por la técnica del NMP en caldo azida glucosa y se incubó a 35 °C por 24-48 h. Los tubos que presentaron

turbidez se repicaron en agar azida bilis esculina a igual temperatura y tiempo. Las colonias típicas se evaluaron con pruebas bioquímicas para su identificación. Para la evaluación de clostridios sulfito reductores, se sembró en caldo diferencial y reforzado para clostridios

(DRCM) y, previo shock térmico (80 °C 10 min.), se incubó anaeróbicamente a 37 °C durante 48-72 h. Para confirmación se repicó en agar sulfito-polimixina- sulfadiacina (SPS) y se incubó en anaerobiosis a 37 °C hasta 72 h. Se realizaron pruebas bioquímicas de confirmación.



Figura 1. Puntos de tomas de muestra. **A)** Vuelco crudo a la salida de quesería en sitio D. **B):** Laguna de tratamiento en sitio E, dividida en cuadrantes para la toma de sub-muestras. **C):** Vuelco a piletas en sitio F. **D):** Sistema de piletas en sitio G.

RESULTADOS

La Tabla 1 presenta las principales características de cada establecimiento, incluyendo el número de vacas en ordeño y producción de leche para los tambos y la producción de quesos en las fábricas. Se detalla el volumen estimado de efluentes generados diariamente en cada proceso productivo.

Se identificó que cuatro de los sitios (A, B, C y D) vuelcan los efluentes crudos, sin tratamiento; mientras que los tres restantes (E, F y G) realizan algún tipo de tratamiento (Tabla 1).

Tabla 1. Características de los establecimientos.

Establecimiento	Tambo	Vacas en ordeño (VO)	Producción de leche (L/día)	Fábrica	Producción de quesos (Kg/día)	Volumen estimado de efluentes (L/día)*	Manejo de efluentes
A	Si	80	1600	Si	200	Tambo: 15430 Fábrica: 5100 Total: 20530	Los efluentes del tambo y de la fábrica son vertidos conjuntamente a una laguna artificial a 60 m de las instalaciones. El suero del queso es separado y se destina a alimentación porcina.
B	Si	84	2000	Si	315	Tambo: 8070 Fábrica: 14540 Total: 22610	Los efluentes del tambo y de la fábrica son derivados hacia dos lagunas artificiales conectadas, a 440 m de las instalaciones.
C	Si	63	1300	Si	300 **	Tambo: 11150 Fábrica: 6730 Total: 17880	Los efluentes del tambo junto con los de la fábrica son canalizados y vertidos en un arroyo a 60 m de las instalaciones.
D	Si	300	6000	Si	950	Tambo: 47330 Fábrica: 21750 Total: 69080	Los efluentes del tambo son canalizados hasta una laguna natural ubicada 150 m. Los efluentes de la fábrica son derivados en forma separada hacia un bajo distante 160 m del edificio.
E	Si	380	9000	Si	800	Tambo: 11500 Fábrica: 9400 Total: 20900	Los efluentes de tambo y quesería son derivados juntos hacia un sistema de tratamiento. Consiste en un tratamiento primario de separación de sólidos, uno secundario a partir de una serie de 4 lagunas, y cloración final. El efluente tratado es utilizado para riego y fertilización de las parcelas agrícolas.
F	No	-	-	Si	220	Fábrica: 6730	Los efluentes son canalizados a un conjunto de piletas de fibrocemento, conectadas entre sí. De allí son derivados a un arroyo cercano.
G	No	-	-	Si	200	Fábrica: 7000	El suero del queso se separa y se destina a alimentación porcina. Se realiza un tratamiento de efluentes en la misma fábrica. Incluye un tratamiento primario de desengrasado y decantación de sólidos, dos piletas de mampostería conectadas y cloración final. Los efluentes tratados son derivados hacia un canal.

* Estimado a partir de los consumos de agua medidos.

** Incluye en la producción 1600 L de leche que recibe a diario de otros tambos.

Los resultados microbiológicos de las muestras analizadas se presentan en la Tabla 2, por establecimiento. A partir de los resultados se observó que sólo un 50 % de las muestras analizadas de efluentes que se vierten al ambiente presentaron valores de CTT por debajo del valor límite de vuelco de desechos. Notoriamente, solo dos (A y B) de los sitios presentaron valores de CTT por debajo del valor límite de NMP/100 mL en el 100% de

las muestras recolectadas. La mayoría de las muestras con valores de CTT mayores al límite permitido también presentaron *E. coli*.

En dos de los sitios que realizan algún tipo de tratamiento (E y F), no se observó variación significativa de la carga bacteriana de las sucesivas piletas, sólo el establecimiento (G) presentó disminución de la carga bacteriana de la primera piletta a la tercera, cumpliendo la última con la legislación vigente de vuelco. (Tabla 2)

Tabla 2. Resultados de determinaciones microbiológicas

Establecimiento	Origen de la muestra de efluente	N° de muestras analizadas	% de muestra aceptables según estimación de CTT*	% de muestras con detección de <i>E. coli</i>	% de muestras con detección de <i>Enterococcus</i> spp.	Otras bacterias detectadas
A	Quesería	3	100%	33%	0%	
B	Quesería	4	100%	25%	50%	<i>Salmonella</i> spp. <i>Citrobacter</i> spp. <i>Klebsiella</i> spp. Clostridios sulfito reductores
C	Quesería y Tambo	5	60%	20%	80%	<i>Klebsiella</i> spp. <i>Proteus</i> spp. <i>Providencia</i> spp. Clostridios sulfito reductores
D	Quesería	8	37,5%	75%	12,5%	<i>Enterobacter</i> spp. <i>Citrobacter</i> spp.
E	Quesería y Tambo	9	0%	100%	11,1%	
F	Quesería	9	33,3%	78%	44,4%	<i>Klebsiella</i> spp
G	Quesería	3	66,7%	100%	100%	-

* % de aceptación según el límite de <2000 NMP/100 mL de la Res. 336/2003

DISCUSIÓN

Este trabajo, a pesar de haber incluido un número limitado de establecimientos, permitió evidenciar la diversidad de formas de vertido de efluentes de las industrias lácteas. Muchos de los sitios estudiados no realizaban tratamiento o se encontraban mal diseñados o con problemas en su funcionamiento, permitiendo la liberación de una alta carga orgánica y bacteriana a cursos de agua. Se observaron límites de vuelco mayores a los aceptables de NMP CTT/100 mL en muestras de tres de cinco queserías, pero todas las queserías presentaron alguna muestra en la que se detectó *E. coli* o *Enterococcus* spp. Similares resultados microbiológicos fueron encontrados en otras investigaciones del lactosuero, como en el estudio de Guano Velasco y Zambrano Montaluisa⁸ que hallaron *E. coli*; y también describieron la problemática de su eliminación en forma cruda al medio ambiente.

Se considera importante que el diseño de sistemas de tratamiento para este tipo de fábricas de quesos tenga en cuenta el volumen real de efluentes que se genera; las características físicas, químicas y microbiológicas de los efluentes; las condiciones topográficas e hidrológicas del terreno donde se localiza el establecimiento; las

prácticas necesarias de mantenimiento para el correcto funcionamiento del sistema; entre otros aspectos como la capacitación del personal para su operación y mantenimiento y la capacidad de afrontar los costos asociados.

CONCLUSIONES y RECOMENDACIONES

La mayoría de los establecimientos visitados no cumplen con las exigencias de vuelcos. Los tratamientos de efluentes son inexistentes o presentan falencias en su diseño, funcionamiento y/o mantenimiento. En general, no se contemplan las particularidades del sistema receptor y el ambiente en donde se localizan.

Sumado a esto, tampoco se tiene en cuenta el re-uso de esos efluentes como el uso agronómico de los purines del tambo, regulado por la Resolución 737/2018², de la provincia de Buenos Aires. Se refleja la necesidad de que los productores y operarios reciban capacitación, por medio de recursos como la Guía de Buenas Prácticas⁴ y asesoramiento profesional competente, para adoptar programas de mejoras que permitan reducir la cantidad de efluentes que se generan e implementar sistemas de tratamientos eficientes.

BIBLIOGRAFÍA

1. APHA, AWWA, WPCF. Standard Methods for the examination of water and wastewater. *Part 9000: Microbiological examination. 23° Ed.* Baird, R.; Eaton, A.; Rice, E. Editors. Washington DC. 2017.
2. Autoridad del Agua (ADA). Res. 737/2018. *Uso agronómico de los purines en el tambo.* 2018. En: <https://www.ada.gba.gov.ar/purines-de-tambo/>
3. Autoridad del Agua (ADA). Resolución 336/2003. *Normas para el vertido de efluentes líquidos.* 2003. En: <https://normas.gba.gob.ar/documentos/0P3k4eSA.html>
4. Cañada, P.; Herrero, MA.; Dejtiar, A.; Vankeirsbilck, I. *Guía para el manejo de purines.* 2018. En: <https://www.crea.org.ar/mapalegal/wp-content/uploads/2016/11/GBP-Gesti%C3%B3n-de-Purines-en-Tambo.-Dic2018.pdf>
5. Córdoba, J.; Di Giorgi, H.; Zubiaurre, L.; Cisneros Basualdo, NE.; Puricelli, M.; Rolando, R. Gestión del agua y residuos de queserías familiares del Cluster Quesero de Tandil: Resultados Preliminares. *I Jornadas Internacionales y III Nacionales de Ambiente.* Octubre 26-28, 2016. Tandil, Argentina.
6. Charlón, V.; Tieri, MP.; Cuatrín, A. Uso del agua y gestión de los efluentes en la Argentina. *Información Técnica de Producción Animal 2017.* Publicación Miscelánea Año V-N°2, 1-4. 2017. Estación Experimental Agropecuaria Rafaela. INTA. En: https://repositorio.inta.gob.ar/xmlui/bitstream/handle/20.500.12123/9568/INTA_CRSantaFe_EEARafaela_informacion_tecnica_produccion_animal_2017.pdf?sequence=1&isAllowed=y
7. Fernández Cirelli, A. y Volpedo, A. Calidad de Agua para la Producción Agropecuaria. *Red de Agua para la Producción Agropecuaria-SPU.* 2016. En: <http://grupomontevideo.org/ndca/caaguas/wp-content/uploads/2015/12/2016-Fernandez-Cirelli-y-Volpedo-calidad-de-agua-ppua.pdf>
8. Guano Velasco, LF. y Zambrano Montaluisa, AP. Caracterización del lactosuero en las microempresas productoras de lácteos en la Parroquia Mulaló del Cantón Latacunga, Provincia de Cotopaxi, Ecuador. Trabajo de grado para Ingeniero Agroindustrial. Universidad Técnica de Cotopaxi. Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales. Ecuador 1-72. 2021. En: <http://repositorio.utc.edu.ec/handle/27000/10161>
9. Guerreiro, R.; Jerómino, E.; Luz, S.; Pinheiro, H.; Prazeres, A. Cheese manufacturing wastewater treatment by combined physicochemical processes for reuse and fertilized production. *Journal of Environmental Management* 264, 1-11. 2020. En: <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.110470>
10. Herrero, MA.; Korol, S.; Charlón, V.; Salazar, F., La Manna, A. Uso del agua, manejo de efluentes e impacto ambiental en el tambo. Informe internacional presentado en las *III Jornadas Internacionales para la calidad de leche (JICAL III)*, Buenos Aires, Argentina, 26, 27-57. 2009.
11. Kvolek, CM. *Efluentes en establecimientos lecheros. Gestión, manejo y aprovechamiento.* Curso online. Organizado por: FEPALE (Federación Panamericana de Lechería). 2016.
12. Ramírez, I. *Tratamiento de efluentes de producción láctea para la agricultura familiar.* Intervención profesional en el tambo "6 de Agosto". Trabajo de grado para Ingeniería. Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales. Universidad Nacional de La Plata. 1-51. 2018. En: <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/65605>
13. Rodríguez, CI. *Evaluación ambiental del uso y gestión del agua subterránea en el partido de Tandil. Pautas para su gestión sustentable.* Tesis doctoral. Facultad de Ciencias Naturales y Museo. Univ. Nacional de La Plata. 2014. En: <https://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/34169>
14. Samaniego Marín, WJ. *Prediseño de una planta de tratamiento de las aguas residuales de la empresa de lácteos "El Pajonal".* Trabajo de grado para Ingeniero Ambiental. Universidad Nacional de Chimborazo. Riobamba, Ecuador. Facultad de Ingeniería 1-75. 2022. En: <http://dspace.unach.edu.ec/handle/51000/9420>
15. Taverna, M.; García, K.; Adorni MB. *Procedimiento de muestreo de efluentes líquidos y sólidos orgánicos generados en el tambo.* 1er. Ed. Rafaela, Santa Fe. Ediciones INTA. 2014.