

00528
23



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE QUÍMICA

**DETERMINACIÓN DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA
DE HORTALIZAS DE MAYOR CONSUMO
EN UNA ZONA DE XOCHIMILCO**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICO DE ALIMENTOS

PRESENTA :

JOSÉ CHÁVEZ ESPINOSA



**EXÁMENES PROFESIONALES
FACULTAD DE QUÍMICA**

México, D. F. 2003

A



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Jurado asignado:

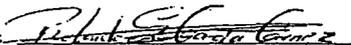
Presidente Dra. María del Carmen Durán Domínguez
Vocal Q. F. B. Mercedes Palao Rincón
Secretario M. en C. Rolando Salvador García Gómez
Primer suplente Q. F. B. Aurora Irma Ortega Ávila
Segundo suplente M. en C. Hilda Elizabeth Calderón Villagómez

Lugar donde se realizó la investigación:

- (I) Laboratorios E-301 al 303 del Programa de Ingeniería Química Ambiental y de Química Ambiental (PIQAYQA) de la Facultad de Química, UNAM
- (II) Laboratorio de medios de cultivo 1-A del la Facultad de Química, UNAM

Asesor del Tema

M. en C. Rolando Salvador García Gómez



Supervisión Técnica

Q. F. B. Adriana Guadalupe Mejía Chávez



Sustentante:

José Chávez Espinosa



Agradecimientos

Esta tesis es el resultado del trabajo realizado en la última y la más importante etapa de mi vida estudiantil; terminarla no hubiera sido posible sin el apoyo y aliento de muchas personas a las que quisiera expresar mi gratitud:

- A la Dra. María del Carmen Durán Domínguez de Bazúa, por su amabilidad, apoyo y sus sabios consejos y recomendaciones, sin los cuales no hubiera sido posible la realización del presente trabajo.
- Al M. en C. Rolando Salvador García Gómez, por su gran interés durante toda la realización de esta tesis, porque sin su apoyo y entusiasmo nada de esto hubiera sido posible.
- A la Maestra Adriana Mejía Chávez, con quien he conseguido un verdadero clima de entendimiento y que me ha ayudado a remontar las dificultades que han ido surgiendo para lograr concluir un gran paso.
- A la Maestra Mercedes Palao Rincón, cuyas sugerencias y recomendaciones hicieron que se elevara la calidad de esta investigación.
- A la Maestra Norma Castellanos Chávez, por haber contribuido en mi formación profesional y por haberme ilustrado en este campo tan fascinante de la microbiología, quien con su ejemplo de entusiasmo y dedicación, hizo despertar en mí, a seguir superándome como profesionalista y persona.
- Al personal que labora en el IGCyQA y en el laboratorio de medios de cultivo 1-Q, que me han ayudado desde el comienzo de este trabajo y que han contribuido a que mi estancia allí haya sido una experiencia inolvidable.
- Al Sr. Gregorio Hernández Colalpa, quien donó las hospitalizas de sus chinampas, me presentó con otros propietarios y preocupado por la problemática de su población, se interesó en todo momento por la presente investigación.
- A la Universidad Nacional Autónoma de México, por otorgarme el privilegio de pertenecer a esta máxima casa de estudios desde la preparatoria y a la Facultad de Química, no sólo por darme las bases que me permitieron realizar mi carrera profesional, sino por haber contribuido en la formación de una persona crítica, analítica y orgullosa de portar el escudo UNAM.

• A mis padres:

Concepción Espinosa Bautista, quien desde que me dio el ser ha procurado por mí, me ha educado, enseñado, dirigido y querido con su verdadero amor, ya que con sus desvelos, preocupaciones, atenciones y confianza que ha tenido en mí, ha logrado que me convirtiera en el profesionalista que ahora soy. Gracias a ti Mamá.

José Chásvez García, quien con su apoyo incondicional ha estado conmigo en todo momento y es quien me ha servido de ejemplo para concluir mis estudios. Gracias por tu insistencia y tenacidad para concluir este trabajo.

- A la Lic. en Inglés Paola Cruz Macías, por la chiapa que enciende el fuego y la leña que ayuda a mantenerlo, por la llave que abre puertas, por la mano que acompaña y tranquiliza y porque fue mi guía en la construcción de esta tesis que ya llegó a su fin.
- A mis amigos: Arturo Alonso, Isaac Barrios, Oscar Barrón, Saúl García, Rubén Hernández, Ernesto Laguna, Miguel Ángel Ramírez, Felipe Suárez, Eduardo Velázquez y Arminda Jacarón, que siempre están, estuvieron y seguirán estando brindándome su cálida amistad y con quienes constituimos conocimiento, compartimos mañanas, tardes y noches de estudio, alegrías, tristezas, pastados y viajes, momentos de neciosismo en parciales y finales; todo esto y más quedó estampado como un hermoso recuerdo de nuestra vida de estudiantes.

José Chásvez Espinosa

Dedicatorias

A mis padres:

Concepción Espinosa Bautista:

Se dedica con toda mi corazón este trabajo producto de mi esfuerzo y dedicación, que es incomparable con el esfuerzo y dedicación que has tenido conmigo.

Esta tesis es tuya.

José Chávez García:

Tus palabras no han quedado en el viento, sino han hecho eco en mí y se han depositado en mi mente y mi corazón, las llevo siempre conmigo y son la luz que me ilumina por este camino tan duro de la vida. Este trabajo está dedicado a ti.

A Yulizait:

Quien ha estado conmigo por más de siete años pasando por triunfos, fracasos, alegrías, enojos, satisfacciones y si continuara, ni esta tesis me alcanzaría para decir lo que he pasado contigo, pero si puedo decirte que eres lo más bello que ha llegado a mi vida y más bello es poder decir que fuiste la que me inspiró para concluir este trabajo y no sólo este trabajo, sino que eres la inspiración para poder seguir adelante.

Esta tesis no hubiera sido posible sin tu ayuda y comprensión, por lo que también es tuya.

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
GLOSARIO	1
RESUMEN	4
1.0 INTRODUCCIÓN	5
1.1 Problemática	5
1.2 Objetivos	7
1.2.1 Objetivos generales	7
1.2.2 Objetivos particulares	7
2.0 MARCO TEÓRICO	8
2.1 Problemática	8
2.2 Hortalizas	8
2.2.1 Factores nutrimentales de las hortalizas	9
2.2.2 Flora microbiana presente comúnmente en las hortalizas	12
2.2.3 Factores de contaminación de las hortalizas	12
2.2.4 Legislación referente al consumo de hortalizas	17
2.3 Microorganismos indicadores de contaminación de alimentos	17
2.3.1 Mesófilos aerobios	19
2.3.2 Coliformes	19
2.3.3 Coliformes fecales	20
2.3.4 Ventajas y desventajas de los microorganismos coliformes como indicadores	22
2.4 <i>Salmonella</i>	23
2.4.1 Taxonomía	24
2.4.2 Características morfológicas	24
2.4.3 Características fisiológicas y bioquímicas	26
2.4.4 Factores ambientales	27
2.4.5 Susceptibilidad de <i>Salmonella</i> a los antimicrobianos	27
2.4.6 Patología	28
2.5 Aguas residuales	28
2.5.1 Clasificación	30
2.5.2 Tratamiento de aguas residuales	32
2.5.3 Problemática del destino y reutilización de las aguas residuales	33
2.5.4 Legislación	34
2.6 Agentes desinfectantes empleados en las hortalizas	36
2.6.1 Definición de desinfectante	36
2.6.2 Definición de "sanitizante"	36
2.6.3 Plata coloidal como agente descontaminante en alimentos	37

	Pág.
2.6.4 Mecanismos de acción	38
2.6.5 Toxicidad	39
3.0 METODOLOGÍA	40
3.1 Área de estudio donde se desarrolló la investigación	40
3.1.1 Localización	40
3.1.2 Descripción del área de estudio	41
3.1.2.1 Clima	41
3.1.2.2 Suelos	42
3.1.2.3 Hidrología	42
3.1.2.4 Sistema de riego	42
3.1.2.5 Plantas cultivadas	43
3.1.3 Origen de las chinampas	45
3.2 Materiales y métodos	47
3.2.1 Selección de las hortalizas (previa encuesta)	48
3.2.2 Obtención de las muestras	48
3.2.3 Homogenización de las muestras	49
3.2.4 Tratamiento de las muestras	49
3.2.5 Análisis microbiológicos realizados en las muestras	50
3.2.5.1 Preparación y dilución de las muestras	50
3.2.5.2 Determinación de microorganismos mesófilos aerobios por el método de cuenta en placa	52
3.2.5.3 Determinación de microorganismos coliformes fecales por la técnica del Número Más Probable* (NMP)	54
3.2.5.4 Determinación del microorganismo patógeno propuesto: <i>Salmonella</i>	56
3.2.6 Recolección y obtención de las muestras de agua	60
3.2.7 Muestreo en la planta de tratamiento de San Luis Tlaxiatemalco	61
3.2.8 Muestreo realizado en el cárcamo de San Gregorio Atlapulco	61
3.2.9 Muestreo en uno de los canales de riego	62
3.2.10 Análisis microbiológicos	62
4.0 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	64
4.1 Hortalizas	65
4.1.1 Mesófilos aerobios	65
4.1.2 Coliformes fecales	66
4.1.3 <i>Salmonella</i>	67
4.2 Agua	69
4.2.1 Agua procedente de la planta de tratamiento	69
4.2.2 Agua procedente del cárcamo principal	70

4.2.3 Agua procedente de uno de los canales de riego

Pág.

5.0 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

70

BIBLIOGRAFÍA

73

ANEXOS

76

Anexo 1 Muestreo de agua

82

Anexo 2 Determinación de microorganismos coliformes fecales por la técnica del "Número Más Probable" (NMP)

82

86

ÍNDICE DE FIGURAS Y DIAGRAMAS

Figura 1	Mapa delegacional del Distrito Federal	40
Figura 2	Mapa de la delegación Xochimilco	44
Figura 3	Hortalizas de mayor consumo en la zona de Xochimilco	64
Figura 4	Método de limpieza y desinfección comúnmente utilizado por habitantes de Xochimilco	65
Diagrama 1	Diagrama general de la investigación	63

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1	Valor calórico y composición de algunas hortalizas	10
Tabla 2	Contenido vitamínico de algunas hortalizas	11
Tabla 3	Contenido de minerales de algunas hortalizas	11
Tabla 4	Materiales y equipo empleados en el desarrollo de la investigación	47
Tabla 5	Colonias típicas de <i>Salmonella</i> spp. en medios selectivos	59
Tabla 6	Reacciones químicas y serológicas de <i>Salmonella</i>	60
Tabla 7	Resultados de las determinaciones microbiológicas de las hortalizas	68
Tabla 8	Resultados de las determinaciones microbiológicas de agua	71

PALABRAS CLAVE

NMP/100 mL	Número más probable / 100 mililitros de agua
NMP/g	Número más probable / gramo de muestra de hortaliza
Mycrodin™	Agente descontaminante comercial de la marca Mycrodin™
UFC/g	Unidades formadoras de colonias / gramo de muestra de hortaliza

GLOSARIO

"Asada": Porción de microorganismos que se extraen del medio de cultivo con el asa microbiológica. La connotación usada en microbiología para "asada" no existe en el diccionario.

Chernozem: Palabra de origen ruso que significa suelos de utilidad agrícola. Son suelos negros ricos en materia orgánica, que presentan color negro en la superficie, se localizan principalmente en los climas húmedos de México, Estados Unidos, Canadá, Europa Oriental y Asia Central, entre otros lugares.

Fermentar, Fermentación: Degradar por acción enzimática hidratos de carbono a alcohol etílico.

Nicromel: Aleación de níquel y cromo que es utilizado en la fabricación de alambres de las asas microbiológicas.

"Reúso": Que puede volver a ser utilizado. No existe en el diccionario, pero es una palabra de uso común que aparece, incluso, en la normatividad mexicana.

"Sanitizante": Palabra tomada del inglés, de sanitize + agent, agente que da salud. Debería usarse desinfectante, del verbo desinfectar o higienizar (aunque higienizante no existe).

Toxicidad aguda: Se habla de toxicidad aguda cuando una exposición única al agente tóxico causa un daño orgánico mensurable que puede provocar la muerte.

Toxicidad subaguda: Se habla de toxicidad subaguda cuando una exposición única al agente tóxico no causa un daño orgánico mensurable y que no provoca la muerte sino daños específicos.

USEPA: Agencia para la Protección del Medio Ambiente de Los Estados Unidos (por sus siglas en inglés, United States Environmental Protection Agency).

Agares y Caldos de Cultivo

Agar: Gel coloidal formado por hidratos de carbono, de extendido uso comercial y que proviene de las paredes celulares de varias especies de algas rojas, en concreto de miembros orientales del género *Gelidium*. Es un excelente medio de cultivo de bacterias, ya que no se disuelve por el efecto de las sales, ni se consume por la acción de la mayoría de los microorganismos.

Caldo de cultivo: Preparación líquida de medios de cultivo en donde proliferan y se identifican microorganismos.

Agar citrato de Simmons: Medio para la diferenciación de enterobacterias basada en la utilización del citrato como única fuente de carbono.

Agar cuenta estándar: Medio de cultivo utilizado para determinar cuentas microbianas en alimentos y agua, principalmente bacterias aerobias.

Agar HE: Por sus siglas en inglés *Hektoon Enteric*. Medio selectivo y diferencial para el cultivo y aislamiento de microorganismos entéricos Gram-negativos en muestras clínicas y no clínicas.

Agar LIA: Por sus siglas en inglés *Lysine Iron Agar*. Medio diferencial para la detección de enterobacterias, especialmente *Salmonella* y *Arizona*, basada en la descarboxilación de la lisina, formación de sulfuro de hidrógeno y fermentación de la dextrosa.

Agar SB: Agar de sulfito y bismuto. Medio para el aislamiento de *Salmonella typhi* y otros bacilos entéricos.

Agar SIM: Recomendado para determinar producción de sulfuro de hidrógeno, formación de indol y movilidad.

Agar SS: Medio selectivo para el aislamiento de *Salmonella* y *Shigella*.

Agar TSI: Por sus siglas en inglés *Triple Sugar Iron*. Medio para la diferenciación e identificación de enterobacterias basado en la biodegradación de dextrosa, lactosa y sacarosa, generando sulfuro de hidrógeno.

Agar VB: Agar verde brillante. Medio altamente selectivo utilizado para el aislamiento de *Salmonella* (excepto *S. typhi*).

Agar XLD: Por sus siglas en inglés *Xylose Lysine Deoxycholate*. Medio ligeramente selectivo y diferencial para el aislamiento de patógenos entéricos Gram-negativos en muestras clínicas y no clínicas.

Caldo EC: Caldo *E-coli*. Medio para la detección y diferenciación de bacterias coliformes en aguas, alimentos y otros materiales.

Caldo Urea: Base destinada a la preparación de la versión líquida del medio de Christensen para la diferenciación de microorganismos, especialmente bacilos entéricos, por su capacidad de hidrolizar la urea.

Caldo RM-VP: Medio de cultivo que se utiliza para la prueba de Rojo de metilo Voges Proskauer, el cual es utilizado para la identificación bioquímica de enterobacterias.

RESUMEN

El consumo de hortalizas en México es ampliamente recomendado por su apreciable contenido de vitaminas, minerales y fibra dietética. No obstante, el riego de estos vegetales empleando aguas residuales, tratadas no siempre en forma muy eficiente, pueden ocasionar mas perjuicios que beneficios, ya que pueden convertirse en vehículos de substancias u organismos potencialmente peligrosos. En la presente investigación se analizaron muestras de tres hortalizas de amplio consumo directo, la lechuga (*Lactuca sativa*), el cilantro (*Eryngium foetidum*) y la espinaca (*Spinaca oleracea*); así como también el agua proveniente, tanto, de una planta de tratamiento (Planta de tratamiento de San Luis Tlaxialtemalco) como el de dos puntos diferentes ubicados en la zona chinampera de San Gregorio Atlapulco, en Xichimilco, D. F. (el cárcamo principal y uno de los canales de riego). La selección de las hortalizas y el método de desinfección a emplearse se realizó mediante un cuestionario de 200 personas seleccionadas en forma aleatoria dentro de la zona. Similarmente, la toma de muestra de cada hortaliza se efectuó mediante un muestreo aleatorio para cada una de las hortalizas de interés cultivada en cada "chinampa". Las muestras fueron almacenadas en bolsas de plástico, en el caso de las hortalizas, y para las muestras de agua en frascos color ámbar previamente lavados y esterilizados. Ambas muestras fueron transportadas, al laboratorio, para su análisis en hieleras, manteniendo su temperatura en 4°C, para proceder al análisis microbiológico, según lo establecido por las normas vigentes en México (NOM-093-SSA1-1994 para las hortalizas y la NOM-003-ECOL-1997 para agua). Los resultados obtenidos demostraron que las muestras de lechuga, cilantro y espinaca, tratadas con el agente desinfectante cuyo principio activo se basa en la plata coloidal y que resultó ser el más ampliamente usado, previa encuesta, no fue lo suficientemente efectivo para la eliminación de microorganismos patógenos como *Salmonella typhi*, tanto, en las muestras de las hortalizas analizadas, como en el agua proveniente de los dos puntos muestreados, ya que solamente se redujo la cantidad de microorganismos mesófilos aerobios en las muestras de lechuga (*Lactuca sativa*), cilantro (*Eryngium foetidum*) y espinaca (*Spinaca oleracea*) con respecto a las lavadas con agua común, en un 52% para la lechuga, en un 28.6% para el cilantro y en un 66.5% para la espinaca. Por otra parte, para los microorganismos coliformes fecales encontrados en las mismas muestras, la reducción fue de aproximadamente el 90% (de 75 a 0.43 NMP/g de muestra en la lechuga y de 150 a 2.10 NMP/g de muestra en el cilantro, respectivamente), ya que para la espinaca la reducción fue de 47.8% (de 460 a 240 NMP/g). Con respecto al agua proveniente de la planta de tratamiento de San Luis Tlaxialtemalco, no se encontró carga microbiana patógena, mientras que al analizar el agua proveniente tanto del cárcamo principal como el del canal de riego, se observó que estos exceden los límites máximos permisibles establecidos por la Norma Oficial (NOM-003-ECOL-1997), además de identificar a *Salmonella typhi* en las muestras. Con base a estos resultados, se sugiere emplear otro tipo de agente desinfectante con un mayor poder germicida para la eliminación de microorganismos patógenos, así como también por medio de las autoridades sanitarias del Gobierno del Distrito Federal GDF, proponer mejores opciones para tratar las aguas residuales generadas en casas habitación antes de ser vertidas en los canales.

1.0 INTRODUCCIÓN

1.1 Problemática

Recordando que la Cuenca de México se encontraba formada por varios sistemas lagunares (los ubicados en la parte sur de la ahora Ciudad de México, Chalco y Xochimilco) eran empleados para el cultivo de la mayor parte de los productos hortofrutícolas consumidos por la cultura *mexica* asentada antes de la conquista española (Durán-de-Bazúa, 1992). En esa época, los habitantes emplearon variadas tecnologías que les facilitaron el uso de los recursos a su alcance; donde la tierra era escasa y el agua abundante, idearon una forma de ganar terreno al lago para asentar sus huertos; así fue como nacieron las "Chinampas". Durante el gran auge de las chinampas se usaban todos los recursos provenientes del sistema lacustre, de hecho, puede decirse que las chinampas se endurecían como cemento y formaban varias islas iguales separadas por canales (Cabanillas, 2002).

Con el crecimiento anárquico que ha vivido esta región, después de la conquista española y hasta nuestros días, los lagos se encuentran prácticamente desecados y solamente sobrevive una pequeña fracción del lago de Xochimilco, la cual recibe para su recarga aguas tratadas de dos plantas construidas en la parte sureste y sur de la ciudad. Una de ellas es la de "Cerro de la Estrella" y la otra la de "San Luis Tlaxialtemalco". Como no se cuenta con drenajes separados para agua de lluvia, aguas negras de tipo doméstico y aguas residuales de industrias, comercios, hospitales, negocios, etc., la composición de las aguas residuales que llegan a estas plantas es altamente variable y, en ocasiones, no recibe el tratamiento adecuado. Por otro lado, los habitantes de la zona "chinampera" de Xochimilco han perdido las tecnologías ancestrales de uso eficiente del agua y de disposición adecuada de las aguas residuales, teniendo como problemática que la mayor

parte de ellos, vierten sus propias aguas sin tratamiento a los canales. Dichas aguas, al mezclarse tanto en los canales, como con el agua proveniente de las plantas de tratamiento antes mencionadas, aumentan considerablemente la carga de contaminantes y microorganismos, sobre todo, de microorganismos *coliformes fecales* y de las familias *Salmonellaceae* y *Vibrionaceae*, entre otras, las cuales son las responsables de las principales endemias gastrointestinales entre habitantes y consumidores de las hortalizas de mayor consumo directo en crudo. Debido a lo expuesto con anterioridad, en este proyecto se pretende por un lado, determinar la presencia de microorganismos patógenos de alto riesgo para los consumidores, en algunas de las hortalizas de mayor consumo en fresco tales como lechuga (*Lactuca sativa*), cilantro (*Eryngium foetidum*), espinaca (*Spinaca oleracea*), acelgas (*Beta vulgaris*) y perejil (*Petroselinum crispum*). Por otro lado, se busca determinar la calidad microbiológica del agua, tanto de una de las plantas de tratamiento de agua (conocida como la Planta de tratamiento de San Luis Tlaxialtemalco, la cual realiza su tratamiento a nivel "terciario" y fue construida durante el Plan de Rescate Ecológico de Xochimilco, y se encuentra ubicada en el poblado de San Luis Tlaxialtemalco, en la delegación Xochimilco), como de dos puntos de toma diferentes (uno en el cárcamo principal y otro en uno de los canales de riego). Ambos caudales son empleados para regar las chinampas encontradas en la zona chinampera de San Gregorio Atlapulco. Estos puntos fueron tomados con el propósito de evaluar la(s) posible(s) fuente(s) de contaminación(es) y poder ofrecer un panorama que permita diseñar posteriormente un tratamiento adecuado que beneficie a los consumidores de este tipo de alimentos. Con base en el contexto anterior, a continuación se presentan los objetivos particulares de esta investigación, enmarcados dentro de un objetivo general.

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivos generales

- ❖ **Determinar la carga microbiana en tres hortalizas de mayor consumo en una zona establecida de Xochimilco antes y después del tratamiento de desinfección**
- ❖ **Determinar la carga microbiana en dos puntos específicos de los canales de Xochimilco y de la salida de una planta de tratamiento de aguas residuales para evaluar su calidad microbiológica**

1.2.2 Objetivos particulares

- ❖ **Conocer a través de una serie de encuestas, las hortalizas de mayor consumo por los habitantes de Xochimilco**
- ❖ **Determinar la calidad microbiológica de las hortalizas que, previa encuesta, hayan sido las de mayor consumo por parte de la población y en apego a la Norma Oficial Mexicana (NOM-093-SSA1-1994)**
- ❖ **Determinar la calidad microbiológica, tanto del agua tomada directamente de la planta de tratamiento de aguas de San Luis Tlaxialtemalco, como del agua proveniente del cárcamo principal de San Gregorio Atlapulco y de uno de los canales de suministro para el riego de las hortalizas, con base a lo dispuesto en la Norma Oficial (NOM-003-ECOL-1997) y la Norma Mexicana (Norma Mexicana NMX-AA-042)**

2.0 MARCO TEÓRICO

2.1 Problemática

El consumo de hortalizas en México es ampliamente recomendado por su apreciable contenido de vitaminas, minerales y fibra dietética. No obstante, el riego de estos vegetales empleando aguas residuales, tratadas no siempre en forma muy eficiente, pueden ocasionar más perjuicios que beneficios, ya que pueden convertirse en vehículos de sustancias u organismos potencialmente peligrosos. Aunado a esto, el empleo deficiente de las tecnologías ancestrales de uso del agua y de disposición adecuada de las aguas residuales, hace que la mayor parte de los habitantes de la zona chinampera de Xochimilco viertan sus propias aguas residuales sin tratamiento a los canales, contaminando el agua de riego con compuestos químicos y microorganismos patógenos para el hombre. Por otro lado, la escasa o nula desinfección que reciben este tipo de alimentos por parte de los consumidores, hace que se presenten graves problemas para el consumidor dentro del sector salud (Muller, 1991). Esta situación conlleva una enorme problemática para los consumidores de las hortalizas cultivadas en las chinampas.

2.2 Hortalizas

El Diccionario de la Lengua Española (Real Academia Española, 1996) define a las hortalizas como "plantas comestibles que se cultivan en las huertas" y, a su vez, a la huerta como "el sitio de corta extensión, generalmente cercado de pared, en que se plantan verduras, legumbres y, principalmente, árboles frutales". Claramente, esta definición no expresa o describe lo que se entiende por hortaliza, puesto que los árboles frutales y las legumbres son tratados y considerados en otro apartado, dentro

de otras asignaturas y rubros de la producción agrícola (Real Academia Española, 1996).

La progresión de conceptos descrita y el entendimiento agronómico actual, permiten proponer la siguiente definición de hortalizas: Las hortalizas son plantas herbáceas, de ciclo anual o bienal (excepcionalmente perenne), de prácticas agronómicas intensivas, cuyos productos son usados en la alimentación humana al estado natural o procesados y presentando un alto contenido de agua (mayor a 70%), un bajo contenido energético (menos de 100 cal/100g) y una vida útil corta en poscosecha (variable desde unos pocos días a un año como máximo) (Krarup, 1997).

Entre las hortalizas y verduras de mayor consumo destacan aquellas plantas herbáceas útiles, de uno o varios años, que se consumen, ya sea de manera natural, cocidas o tratadas por otros procedimientos. Según la parte de la planta que se emplea para su consumo, es posible separarlas en raíces y tubérculos, entre las que se encuentran las zanahorias, remolacha, apio, rábanos y nabo entre otras. Existen las denominadas bulbos, como son las cebollas. Las hojas y tallos tiernos se representan con las espinacas, espárragos, lechuga, acelgas, cilantro y perejil y, finalmente, las flores (flor de calabaza) y frutos de hortalizas entre las que destacan los tomates, pepinos, berenjenas, calabazas y pimientos (Muller, 1991).

2.2.1 Factores nutrimentales de las hortalizas

Las verduras u hortalizas en general, son ricas en vitaminas, minerales y fibra dietética, sobre todo si son ingeridas en "crudo", ya que la mayoría de las vitaminas se ven altamente alteradas o destruidas por la acción del calor. El color verde que presentan es debido a la clorofila, compuesto nutritivo que poseen las plantas verdes en la que,

por influjo de la acción solar, se transforma esta energía en compuestos energéticamente útiles a las plantas, lo cual confiere a las hojas verdes varias virtudes o propiedades para la nutrición del hombre; entre las que destacan las siguientes: 1) Contribuyen a la regeneración sanguínea y de los glóbulos rojos, 2) Ayudan a la asimilación de las proteínas, 3) Presentan una acción reguladora de la nutrición y de la tensión arterial y, por último, 4) Influyen en el equilibrio ácido-base del organismo (Acevedo, 1998).

En las **Tablas 1, 2 y 3** se presentan los valores calorimétricos y la composición de algunas hortalizas, en cuestión de su contenido vitamínico y en cuanto al contenido de minerales respectivamente (Acevedo, 1998).

Tabla 1. Valor calórico y composición de algunas hortalizas
(Composición dada por 100 gramos de alimento) (Acevedo, 1998)

Hortaliza	Agua %	Grasa %	Proteína %	Libre Carbono %	Sal %	Cal/100
Alcachofas	84	3	0.2	12	1.7	550
Calabaza	95	0.8	0.1	3.5	0.5	150
Cebolla	89	1.4	0.2	9	0.6	400
Col	92	1.6	0.1	5.8	0.5	250
<i>Espinaca</i>	<i>92</i>	<i>2.2</i>	<i>0.3</i>	<i>4</i>	<i>1.8</i>	<i>230</i>
<i>Lechuga</i>	<i>95</i>	<i>1.2</i>	<i>0.2</i>	<i>3</i>	<i>0.9</i>	<i>180</i>
Papas	78	2	0.1	19	1	800
Pimiento	93	1.2	0.2	5	1.5	240
Zanahoria	88	1.2	0.2	9	0.9	400

Tabla 2. Contenido vitamínico de algunas hortalizas
(Composición dada por 100 gramos de alimento) (Acevedo, 1998)

Hortaliza	Retinol (µg)	Caroteno (µg)	Vitamina E (mg)	Vitamina B6 (mg)	Niacina (mg)	Ácido fólico (µg)	Ácido ascórbico (mg)	Cobalamina (µg)
Apio	10	8	0.02	0.04	0.4	0.03	12	0
Berro	161	51	0.13	0.2	1.5	0.13	200	0
Cilantro	384	11	0.12	0.08	1	-	-	-
Col blanca	2	38	0.1	0.06	0.6	0.1	87	-
Espinaca	320	40	0.1	0.16	0.5	0.18	140	0
Lechuga orejona	44	8	0.14	0.05	0.3	0.18	34	-
Lechuga romana	44	7	0.05	0.03	0.3	-	136	0
Rábano chico	0	22	0.03	0.06	0.4	0.1	-	0

Tabla 3. Contenido de minerales de algunas hortalizas
(Composición dada por 100 gramos de alimento) (Acevedo, 1998)

Hortaliza	Calcio (mg)	Fósforo (mg)	Magnesio (mg)	Sodio (mg)	Potasio (mg)	Zinc (mg)
Apio	52	1.4	12	88	284	0.17
Berro	155	206	20	41	330	0.15
Cilantro	108	2.3	26	28	542	-
Col blanca	38	1.4	13	20	233	0.18
Espinaca	66	4.4	39	130	160	0.5
Lechuga orejona	25	0.5	11	9	264	0.5
Lechuga romana	16	0.4	8	11	290	0.5
Rábano chico	24	0.4	16	21	227	-

2.2.2 Flora microbiana presente comúnmente en hortalizas

Mientras que en su interior los tejidos vegetales se mantienen libres de gérmenes, en su superficie se adhieren numerosos microorganismos que son depositados por contacto con el suelo, aire, agua, y protozoos, entre otros. La flora común está constituida por diversas bacterias Gram (+) y Gram (-). La microflora de las verduras se encuentra formada por bacterias entre los que destacan los siguientes géneros *Corinebacterium*, *Alcaligenes*, *Achromobacter*, *Flavobacterium*, *Lactobacillus* y *Micrococcus* (Tortora, 1995).

2.2.3 Factores de contaminación de las hortalizas

La carga microbiana de los vegetales frescos se encuentra influenciada por numerosos factores, entre los cuales se citan debido a sus repercusiones sanitarias los siguientes:

a) El suelo: El suelo es una mezcla compleja de materia sólida inorgánica (rocas y minerales), materia orgánica, agua, aire y organismos vivos. El deslave de las rocas genera elementos tales como silicio, hierro y aluminio que son depositados en el suelo. El calcio, sodio, magnesio, potasio, fósforo y pequeñas cantidades de otros elementos, que son esenciales para la vida, también se encuentran allí. Adicionalmente, es uno de los principales reservorios de vida microbiana, aunque tengan baja tasa de reproducibilidad y se encuentren en vida latente. Sin embargo, si el suelo presenta los nutrimentos necesarios, su actividad metabólica se incrementa, así como también su capacidad de reproducción (Tortora, 1995).

Por la acción del polvo y de la lluvia, los microorganismos del suelo llegan también indirectamente a las hortalizas, por lo que las partes externas de la planta se

encuentran en mayor contacto microbiológicamente a diferencia del interior de la misma (Muller, 1991).

Las hortalizas crecen casi exclusivamente en contacto inmediato con el suelo, jugando un papel importante su contaminación con la tierra, ya que se encuentran inmiscuidos microorganismos autótrofos, heterótrofos, mesófilos, termófilos, psicrófilos, aerobios y anaerobios, degradadores de celulosa y oxidantes del azufre, fijadores de nitrógeno y degradadores de proteínas; entre los géneros que destacan están *Bacillus*, *Clostridium*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Micrococcus*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium*, *Chromobacterium*, *Pseudomonas*, *Proteus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc* y *Acetobacter* (Pelczar, 1990).

De los microorganismos patógenos que pueden sobrevivir en el suelo se encuentran, bacterias formadoras de esporas. Tal es el caso de *Bacillus anthracis* el causante del ántrax en los animales; *Clostridium tetani* agente causante de tétanos; *Clostridium botulinum* causante de botulismo; *Clostridium perfringens* causante de la gangrena gaseosa; entre otras. Estos microorganismos se adhieren a frutas y hortalizas, desarrollándose en ellas, produciendo toxinas (Tortora, 1995).

b) Fertilizantes orgánicos: Los fertilizantes orgánicos no depurados es otro factor que afecta la carga microbiana de los vegetales con bacterias patógenas para el hombre, especialmente de aquéllas que causan enfermedades gastrointestinales. Aparte de los gérmenes patógenos, los alimentos pueden también contaminarse con microorganismos coliformes, anaerobios y otras bacterias intestinales no patógenas (González, 1987). Cuando los desechos de animales o de humanos son utilizados como abono, los patógenos de estas fuentes pueden contaminar la planta y sus

derivados, ya que al ser consumidas en crudo dan lugar a enfermedades de tipo alimentario (Banwart, 1990).

c) Aire: Algunos microorganismos pueden llegar a los alimentos transportados por el aire, principalmente aquellos que ocasionan enfermedades de tipo respiratorio. Concomitante con estas vías de entrada del microorganismo patógeno en el vegetal, un factor que interviene en el grado de contaminación, es el tiempo de supervivencia de muchos de ellos. Éste se encuentra condicionado por numerosos factores, entre los que destacan: la luz solar, el porcentaje de humedad, la textura, el tipo de suelo y los sistema de riego. Se ha comprobado que, para algunas bacterias tales como *Salmonella*, el tiempo de vida oscila de 7 a 40 días sobre vegetales y de alrededor de 40 días en la superficie del suelo. En microorganismos coliformes dicho tiempo se sitúa próximo a los 38 días en ambos casos, lo que de cualquier modo supera la vida útil del producto (González, 1987).

Por otra parte el aire puede impulsar partículas de polvo y formas infectantes desde los terrenos baldíos a las casas vecinas o tierras de cultivo, especialmente en las grandes ciudades donde en los "terrenos baldíos" los solares baldíos a veces se emplean para la defecación al aire libre (Santaella, 2002).

d) Pájaros e insectos: Los pájaros e insectos producen lesiones mecánicas en las frutas y hortalizas, por lo que los microorganismos penetran, facilitándose la contaminación microbiana (Fraizer y Westhoff, 1990).

Otra forma de contaminación es la manipulación a la que son sometidos, trayendo como consecuencia una mayor carga microbiana. Por otro lado, la recolección mecánica ha aumentado la contaminación, así como los daños causados en frutas y hortalizas (Banwart, 1990).

e) Fecalismo: Se llama fecalismo a la diseminación en el ambiente de la materia fecal humana y animal y a la transmisión de las formas infectantes frescas hasta los nuevos huéspedes. No sólo los coliformes fecales se transmiten por el fecalismo, sino también otros microorganismos, tales como el virus de la polio, diversas enterobacterias como *Salmonella*, *Shigella* y varios protozoos. En los países subdesarrollados, entre los que se encuentra México, es de gran importancia tratar el asunto del fecalismo ya que de acuerdo a las condiciones insalubres en las que vive un gran porcentaje de la población, este problema se acentúa. La materia fecal se disemina en el ambiente de diversas formas: Por fecalismo al aire libre, por el uso de letrinas inadecuadas, por drenajes defectuosos, por riego con aguas negras sin tratamiento y por deficiencia de la higiene personal. La defecación al aire libre es el mecanismo más corriente de diseminación y en muchos países se practica por casi todas las personas que viven en zonas rurales y muchas de las que viven en las ciudades (Biagi, 1982).

f) Agua: Adicionalmente, el agua también es una fuente potencial de contaminación. La lluvia contiene microorganismos tomados del aire. Cuando ésta incide contra el suelo, la contaminación de que es objeto por los organismos presentes en él se suma a la que ya poseía (Jiménez, 1994). Los géneros de bacterias que suelen formar parte de la flora "normal" del agua son: *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Cytophaga*, *Acinetobacter*, *Moraxella*, *Aeromonas*, *Corynebacterium*, *Klebsiella*, *Alcaligenes*, *Bacillus*, *Micrococcus*, *Streptococcus*, *Enterobacter* y *Escherichia* (Banwart, 1990). Los microorganismos patógenos transmitidos con mayor frecuencia por el agua, producen infecciones del aparato digestivo, tales como, fiebre tifoidea, paratifoidea, disentería y cólera. Los agentes etiológicos de éstas se encuentran en las materias fecales y en la orina de los infectados y cuando son eliminadas pueden llegar a un depósito que desemboque en

una fuente de agua (Pelczar, 1990). Algunos de los microorganismos capaces de causar enfermedades y cuyos brotes de enfermedades potenciales son desconocidas (tal y como es el caso de *Aeromonas hydrophilia*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae* y *Klebsiella spp.*) han sido aisladas en muestras de lechuga y ensalada, lo cual repercute en la calidad higiénica y microbiológica de estos productos, los cuales deben ser controlados para minimizar o reducir la carga microbiana y las enfermedades patógenas (Soriano y col., 2000).

El agua utilizada para enfriar las hortalizas tras su recolección, a menudo va contaminada por los efluentes residuales o desechos humanos, los cuales actúan como inoculadores de varios microorganismos, que son distribuidos en el vegetal desde las zonas más externas hasta las escondidas (Barwart, 1990). Por otro lado, se sabe que si el agua de riego se encuentra contaminada o proviene en parte o en su totalidad de una red colectora de aguas residuales los productos recolectados pueden ser peligrosos para la salud (Jiménez, 1994).

Adicionalmente, las huertas irrigadas con aguas residuales sin ningún tratamiento previo, constituyen un gran peligro, ya que pueden servir de vehículo a microorganismos enterogástricos tales como: *Salmonella*, *Vibrio*, *Streptococos* y *Enterobacterias* (Muller, 1991).

Debido a que la mayoría de las frutas y verduras se consumen crudas, el empleo de agua no tratada para el riego o lavado de estos alimentos pueden servir de vehículo de transmisión de microorganismos patógenos (Jiménez, 1994).

2.2.4 Legislación referente al consumo de hortalizas

La Norma Oficial Mexicana NOM-093-SSA1-1994 posee un apéndice informativo (B) en el que se establecen recomendaciones sobre las cuentas microbianas de un determinado tipo de alimentos y platillos listos para servirse y consumirse. Entre estas recomendaciones se encuentran las correspondientes a ensaladas verdes crudas, teniéndose los siguientes conteos máximos permisibles para los siguientes microorganismos: mesófilos aerobios: 150,000 UFC/g y coliformes fecales: 100 NMP/g.

2.3 Microorganismos indicadores de contaminación en alimentos

Los microorganismos indicadores son un grupo de gémenes de enumeración más fácil, y cuya presencia en cierto número se considera como una indicación de que el agua o los alimentos se encontraron expuestos a condiciones no higiénicas que permitieron la proliferación de microorganismos inoocuos y patógenos (Santaella, 2002).

El principio del indicador es una necesidad, y no se ha encontrado un organismo conocido específico del hombre que pueda utilizarse para indicar todos los riesgos potenciales a la salud, ya que pueden contener una gran variedad de especies de microorganismos que actúan como contaminantes. Los objetivos del examen microbiológico de los alimentos, son el determinar si éstos han sido expuestos a una contaminación fecal, la cual puede ser la causa de un serio problema para la salud pública (Santaella, 2002).

Desde siempre, los organismos indicadores han sido empleados para determinar alguna condición microbiológica objetable de la comida, tal y como sucede con la contaminación fecal, la presencia de patógenos potenciales, la proliferación potencial

de los microorganismos en los alimentos, y las situaciones sanitarias durante el procesamiento, almacenamiento o transporte de alimentos (Acevedo, 1998).

Los microorganismos indicadores presentan las siguientes características:

- Se encuentran como flora normal en la fuente de contaminación, independientemente de que haya o no microorganismos patógenos.
- Son más resistentes y sobreviven en el agua más tiempo que los patógenos.
- Su detección en el laboratorio es más rápida, fácil y confiable.

Durante los tratamientos de proceso de los alimentos, el microorganismo indicador debe comportarse de una manera similar a los patógenos, si éste fuese más estable, podría persistir mucho más tiempo antes de su destrucción. Muchos grupos de microorganismos han sido sugeridos como organismos indicadores de contaminación fecal incluyendo bacterias, virus y protozoarios en general. Bacterias tales como los coliformes, enterobacterias, enterococos, pseudomonas, clostridios, estafilococos, hongos, levaduras y la cuenta aerobia en placa, se han sugerido como organismos indicadores. Debido a lo anterior, es necesario conocer la fuente habitual, la asociación con microorganismos patógenos entéricos, los métodos para la enumeración de ellos, las condiciones de desarrollo, la sobrevivencia durante el almacenamiento y el procesamiento y, sobre todo, el significado de estos microorganismos en los alimentos, o en un alimento en particular. Entre los microorganismos indicadores de contaminación se agrupan de manera general a las bacterias coliformes, a los coliformes fecales y a los microorganismos mesófilos aerobios (Barwart, 1990).

2.3.1 Mesófilos aerobios

Los microorganismos mesófilos presentan un desarrollo óptimo a temperaturas entre los 25 y 40°C. Los organismos que se han adaptado a vivir dentro del cuerpo de los animales incluyendo al hombre comúnmente tienen una temperatura óptima cercana a la de su huésped. La temperatura óptima para muchas bacterias patogénicas es de 37°C. El número de microorganismos mesófilos aerobios ("cuenta en placa") encontrados en un alimento ha sido uno de los indicadores microbiológicos de calidad de los alimentos más comúnmente utilizado. Los mesófilos aerobios reflejan la exposición de la muestra a la contaminación en general, la existencia de condiciones favorables para la multiplicación de microorganismos y la presencia de materia orgánica. La flora aerobia mesófila resulta útil en muchos elementos por diversos motivos, como por ejemplo, es indicativa de la limpieza, desinfección y el control de la temperatura durante los procesos de tratamiento industrial (Santaella, 2002; Tortora, 1995).

2.3.2 Coliformes

Se definen como microorganismos coliformes a las bacterias aerobias o anaerobias facultativas, Gram negativas, no formadoras de esporas que fermentan la lactosa con formación de gas a las 48 horas de haberlas colocado en caldo con lactosa a 35°C. Estos microorganismos habitan en el tracto intestinal del hombre y de los animales de sangre caliente, sin causar generalmente enfermedades gastrointestinales. Dentro de estos bacilos, que en cierta forma son similares a *Escherichia coli*, se encuentran los siguientes géneros y especies: *Citrobacter freundii*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae* y *Klebsiella pneumoniae*. La utilización de microorganismos

coliformes como microorganismos indicadores de calidad sanitaria de alimentos, pueden ser microorganismos indicadores falsos, en relación a los daños que pudieran ocasionar a la salud del hombre, ya que la correlación de estos microorganismos coliformes con la contaminación fecal suele no ser adecuada, ya que no son específicos de la materia fecal; sin embargo, las bacterias de este grupo pueden ser provenientes tanto de la materia fecal como no fecal, no obstante estos organismos pueden encontrarse en grandes cantidades en el suelo contaminado con materia fecal. Bajo ciertas condiciones tienden a morir en el suelo pero con nutrimentos adecuados y humedad pueden incrementar su número. El polvo del suelo puede diseminar los coliformes en la atmósfera. La lluvia acarrea la contaminación superficial del suelo a los ríos y lagos. Los miembros del grupo coliforme pueden persistir en agua, suelo o en alimentos por largos periodos de tiempo (Tortora, 1995).

Desafortunadamente, como algunos miembros no son de origen fecal, la presencia de esos miembros en los alimentos podrían no indicar contaminación fecal o patógenos entéricos potenciales. Sin embargo, se puede orientar este predicamento diciendo que los microorganismos coliformes no fecales dan un margen de seguridad extra. Debido a que los coliformes pueden multiplicarse fuera de los cuerpos de los animales, su presencia en cantidades elevadas en un producto alimenticio podría no ser indicativo de contaminación original, pero sí de una inapropiada manipulación, la cual promovió la multiplicación de los microorganismos (Taylor, 1990).

2.3.3 Coliformes fecales

Los microorganismos coliformes fecales son un grupo de microorganismos que son seleccionados mediante la incubación, de un inóculo derivado de un medio de

enriquecimiento de coliformes, a una temperatura más alta de la normal (44.5°C). La detección de contaminación fecal en alimentos siempre ha sido tema de discusión. Los coliformes capaces de crecer a 44.5°C han sido considerados como organismos indicadores. De estos, *Escherichia coli* es todavía la especie más asociada a materia de desecho intestinal (materia fecal); siendo su presencia en alimentos un indicativo de contaminación fecal; sin embargo, no hay evidencia que permita saber el origen de la contaminación, ya que puede ser humana, animal o ambiental (Beerens, 1998).

El microorganismo *Escherichia coli* es un bacilo del colon y se clasifica dentro de las especies facultativas que habitan el intestino grueso. Su presencia en el agua indica contaminación de origen fecal, por lo que las pruebas que determinan su presencia se emplean ampliamente en los laboratorios de salud pública. En alimentos, la presencia de este microorganismo se encuentra asociada con contaminación de origen fecal o un sustrato en el cual ocurrió la proliferación de *Escherichia coli* y otros microorganismos patógenos asociados, si éstos se encontraban presentes. Para la seguridad de la calidad sanitaria de un alimento, la presencia de este microorganismo generalmente garantiza mayor peligro que la presencia de otros coliformes (Davis y col., 1980).

Los coliformes fecales son los organismos indicadores comúnmente utilizados para determinar la calidad microbiológica del agua y de efluentes de aguas residuales. La Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos de América (USEPA por sus siglas en inglés) ha especificado el método de dilución de tubos múltiples (número más probable) para la determinación de coliformes fecales de agua y aguas residuales (Sandhya y col., 1998).

Los coliformes fecales se encuentran estrechamente más relacionados con la contaminación fecal que los coliformes totales. Los organismos pueden estar presentes en una superficie de trabajo sanitizada inadecuadamente en una planta procesadora. En este caso, su presencia podría reflejar la calidad de la sanitización y no la contaminación directa del producto (Taylor, 1990).

2.3.4 Ventajas y desventajas de los microorganismos coliformes como indicadores

Las ventajas de analizar al grupo coliforme y no al de patógenos específicos son las siguientes:

- 1) Los organismos coliformes se encuentran constantemente, tanto en los intestinos de humanos sanos como en enfermos en gran número, y miles de millones de estos microorganismos, son excretados diariamente por una persona. Se estima que por cada bacilo tifoideo u otro patógeno, en suministros de agua contaminada, generalmente hay millones de microorganismos coliformes especialmente *Escherichia coli*.
- 2) Los microorganismos del grupo coliforme sobreviven por más tiempo en un ambiente acuático que la mayoría de los patógenos intestinales; por lo tanto, es posible localizar una contaminación reciente o no tan reciente.
- 3) La presencia de estos microorganismos se puede detectar fácilmente mediante técnicas de rutina.
- 4) La ausencia de coliformes es un evidencia de la potabilidad del agua y sanidad de los alimentos desde el punto de vista microbiológico.

5) El aumento en la cantidad es aproximadamente proporcional al grado de contaminación.

6) Los miembros del grupo coliforme no son patógenos excepto algunas cepas.

Entre las desventajas encontradas del grupo coliforme como índice de contaminación se tienen las siguientes:

- 1) Algunos miembros del grupo coliforme se distribuyen ampliamente en el medio ambiente en comparación a su presencia en los intestinos de animales de sangre caliente.
- 2) No es posible determinar con precisión el momento en que principió la contaminación.
- 3) Algunas de las especies pueden multiplicarse en aguas contaminadas.
- 4) A veces la flora bacteriana no coliforme impide el crecimiento de los coliformes (Prueba falsa negativa), o produce gas sin haber microorganismos coliformes (prueba falsa positiva).
- 5) Un número pequeño de coliformes fecales, da negativa la prueba de temperatura (Santaella, 2002).

2.4 Salmonella

En 1880, Eberth publicó el hallazgo de encontrar un bacilo Gram (-) en tejidos de personas muertas por fiebre tifoidea. Los miembros del género *Salmonella* penetran casi siempre por vía digestiva mediante la ingesta de alimentos o bebidas contaminadas, multiplicándose activamente en el tejido linfóide del intestino delgado, de donde pueden pasar a vasos linfáticos y al torrente sanguíneo para localizarse en cualquier órgano. Las manifestaciones clínicas varían desde una enteritis leve hasta los

de una septicemia rápidamente mortal. El género *Salmonella*, perteneciente a la familia *Enterobacteriaceae*, comprende varias especies y centenares de serotipos diferentes, todos los cuales pueden ser patógenos (Guerrero, 2002).

2.4.1 Taxonomía

La familia *enterobacteriaceae* se encuentra en la actualidad, dividida en 20 géneros y un centenar de especies.

- Orden IV *Eubacteriales*
- Familia IV *Enterobacteriaceae*
- Tribu I *Eschericheae*
- Género I *Escherichia*
- Género II *Shigella*
- Género III *Salmonella*
- Género IV *Citrobacter*

Algunas especies del género *Salmonella* de importancia médica son las siguientes:

- *Salmonella typhi*
- *Salmonella cholerae-suis*
- *Salmonella enteritidis*

2.4.2 Características morfológicas

Los microorganismos del género *Salmonella* son bacilos cortos y gruesos, de 0.5 a 0.8 micrómetros de grosor y de 1 a 3.5 micrómetros de longitud. Son activamente móviles, debido a la posesión de flagelos peritricos o inmóviles, bacilos Gram negativos, no esporulados, no capsulados, aero-anaerobios facultativos. Se tiñen fácilmente con los

colorantes usuales de anilina. Como todas las bacterias, las *Salmonellas* están constituidas por una serie de sustancias químicas diversas, que forman la estructura celular de la bacteria. Además, algunas de estas sustancias tienen la propiedad de ser antigénicas. Estos antígenos se utilizan para preparar sueros que contienen anticuerpos específicos, lo que permite hacer el diagnóstico serológico. Esquemáticamente una *Salmonella* se encuentra compuesta de tres grupos de antígenos: Somático u "O", de Superficie o "K" y Flagelar o "H" . A continuación se hace una breve descripción de ellos:

- Antígenos somáticos: Se encuentran localizados en el soma o cuerpo de la bacteria. Son carbohidratos resistentes al calentamiento a 100°C y a la acción del alcohol y de los ácidos diluidos (Guerrero, 2002).
- Antígenos de superficie: Comprenden los antígenos que se encuentran en la cápsula. Los antígenos capsulares tienen un papel poco importante en la clasificación serológica dentro de las *Salmonellas*, pero un papel importante en la patogenicidad del microorganismo que lo posee. Se presentan sólo en las especies *Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphi* y en algunas de *S. enteritidis* y se les denomina como antígeno Vi o de virulencia. Los antígenos de superficie junto con las diferentes toxinas y su capacidad de invasividad, constituyen los elementos básicos de patogenicidad (Olvera, 1991).
- Antígenos flagelares: Se encuentran compuestos por proteínas y son los constituyentes químicos de los flagelos. Pueden presentarse en dos formas: Antígenos de fase 1 y de fase 2. Los antígenos de fase 1 llamados también específicos, son compartidos por sólo unos cuantos microorganismos y reaccionan

con sueros homólogos; en cambio, los de fase 2 son comunes en muchos microorganismos y pueden presentar reacciones cruzadas con antisueros heterólogos (Olvera, 1991). Los lipopolisacáridos de la pared celular (antígeno "O"), se comportan como endotoxinas típicas y se liberan al destruirse la bacteria. Mediante la hidrólisis con ácidos débiles se obtiene una fracción lipoidea, llamada lípido "A" a la que se le ha atribuido la acción tóxica (Guerrero, 2002).

2.4.3 Características fisiológicas y bioquímicas

Las salmonellas crecen muy bien a 37°C en los medios de cultivo ordinarios. Tiene la propiedad de desarrollarse en presencia de sustancias como el verde brillante, el tetrionato y el desoxicolato de sodio que son capaces de inhibir a otros microorganismos presentes en la muestra. Son destruidas a temperaturas de 60°C por 20 minutos.

Su requerimiento nutrimental no es complejo, pueden utilizar sales de amonio como fuente de nitrógeno y glucosa, piruvato o lactato como fuente de carbono. Son quimiorganótrofos, poseen un metabolismo oxidativo, con producción de ácido sulfhídrico y gas durante la degradación de la glucosa o de otros hidratos de carbono, pero no fermentan la lactosa. Son catalasa positivos, oxidasa negativos. Tampoco licuan la gelatina, ni hidrolizan la urea, ni peptonizan la leche (Bourgeois, 1994).

Las salmonellas se multiplican bien en medios ordinarios, tales como agar Salmonella – Shigella (SS), agar bilis verde brillante (VB), agar sulfito bismuto (SB), por mencionar algunos. Las colonias son visibles al cabo de 18 a 24 horas, con 2 a 3 mm de diámetro, salvo por algunos serotipos que producen siempre colonias enanas (*abortusovis*, *abortusequi*, *typhisuis*) (Bourgeois, 1994).

2.4.4 Factores ambientales

- **Temperatura:** La temperatura óptima de proliferación se encuentra entre 35 y 37°C, sin embargo, las salmonellas pueden multiplicarse de 25 a 47°C, aunque a temperaturas inferiores a 10°C su desarrollo sufre un retraso considerable. Las salmonellas, como la mayoría de las bacterias Gram negativas, presentan una cierta sensibilidad al calor. La pasteurización a 72°C /15 segundos asegura la destrucción de la *Salmonella*. Las temperaturas de refrigeración permiten la supervivencia de las salmonellas, en tanto que la congelación provoca un descenso considerable del número de ellas, aunque no produce nunca su completa desaparición (Bourgeois, 1994).
- **pH:** Estos microorganismos soportan un intervalo de pH entre 4.5 y 9 con un óptimo de 6.5 a 7.5. pueden existir variaciones en la intensidad del crecimiento en función del tipo de ácido utilizado para conseguir un determinado pH (Bourgeois, 1994).
- **Actividad acuosa, A_w :** Estos microorganismos se desarrollan bien a valores de a_w de 0.945 a 0.999. A valores muy bajos (del orden de 0.2), correspondientes a productos deshidratados, sobreviven largo tiempo. En los alimentos pueden multiplicarse hacia valores de a_w iguales a 0.93 (Bourgeois, 1994).

2.4.5 Susceptibilidad de *Salmonella* a los antimicrobianos

El antibiótico difiere de los desinfectantes corrientes, porque muestran toxicidad selectiva para los microorganismos patógenos sin causar graves daños a la mayoría de las células de los tejidos. Algunos antibióticos son efectivos contra un número mas o menos limitado de organismos patógenos; mientras que otros, conocidos como antibióticos de amplio espectro, actúan sobre una gama extensa de diferentes

patógenos. La *Salmonella* es relativamente resistente a la penicilina *in vitro*, pero aunque es susceptible bajo estas condiciones a otros antibióticos comunes, el cloranfenicol parece ser el único bastante eficaz *in vivo*. Así pues, éste es el agente quimioterapéutico de elección, que ha dado resultados muy prometedores. Se han realizado algunos intentos para curar a portadores sanos con quimioterapia (Bayardo, 1982).

2.4.6 Patología

- Casi todos los miembros del género *Salmonella* son potencialmente patógenos para el hombre, además de infectar a múltiples mamíferos, aves, reptiles y otros animales, debido a que son parásitos obligados. Las especies *typhi*, *enteritidis* serotipo *paratyphi A*, se encuentra sólo en el hombre, *paratyphi B, C* y *S. sendai*, tienen como reservorio primario al hombre, el resto de las salmonellas tienen como reservorio primario a los animales, constituyendo un riesgo de infección al hombre. Estas bacterias se encuentran asociadas comúnmente con trastornos gastrointestinales y fiebres entéricas presentes en todo el mundo. La fiebre entérica más conocida a nivel histórico e internacional es la fiebre tifoidea. La salmonelosis puede presentarse en cualquiera de sus tres diferentes entidades clínicas: Gastroenteritis, septicemia con lesiones focales y fiebres entéricas (Lennette, 1982; Olvera, 1991).

2.5 Aguas residuales

Xochimilco, cuyo nombre significa "en la sementera de las flores", del náhuatl Xóchitl = flor, milli = semillas, co = desinencia de lugar, fue hasta antes de principios del siglo XX un lugar de singular belleza, no sólo por el lago en sí, sino por la riqueza de plantas y la

abundante flora y fauna que ahí se gestaba; sin embargo, el explosivo crecimiento de la gran Ciudad de México, aunado a la creciente demanda de agua por parte de sus habitantes originó el constante bombeo del agua de los manantiales hacia la ciudad, observándose un abatimiento considerable de éstos, y de los mantos freáticos, lo que ha repercutido en un descenso del nivel del lago y sus canales por falta de alimentación. Ante estos hechos, el Gobierno del Distrito Federal GDF, estudió las posibilidades de restituir parte del agua extraída, por medio de aguas residuales tratadas provenientes de la Ciudad de México, con la finalidad de conservar un nivel aceptable tanto para la navegación como para mantener la humedad de los terrenos agrícolas. Existen en la actualidad 17 plantas de tratamiento de aguas residuales en nuestra ciudad. Sin embargo dichas plantas no tienen la capacidad de tratar el volumen total del agua residual producida en el valle de México (Rodríguez, 1998).

Una definición de aguas residuales es la de las aguas de composición variada provenientes de las descargas de usos municipales, industriales, comerciales, de servicios agrícolas, pecuarios, domésticos, incluyendo fraccionamientos y en general de cualquier otro uso o la mezcla de ellos (NOM-003-ECOL-1997).

Las aguas residuales contienen diversidad de compuestos y organismos, dependiendo de su origen, como desechos humanos, desperdicios caseros, corrientes pluviales, que además pueden contener otras especies de desperdicios que las personas tiran al sistema de alcantarillado (Rodríguez, 1998).

Puesto que la composición de las aguas residuales es variada, es de esperarse que el tipo y número de microorganismos también fluctúe, como ocurre con los hongos, protozoos, algas, bacterias y virus. Las aguas residuales contienen millones de bacterias por mL, como lo son, coliformes, estreptococos, bacilos esporulados

anaerobios, *Proteus* y otros géneros que se originan en el tracto digestivo humano. En las aguas residuales se encuentran los agentes etiológicos de la disentería, cólera y fiebre tifoidea. El predominio de algunos tipos fisiológicos de bacterias cambian durante el curso del tratamiento de las aguas negras (Pelczar, 1990).

Los drenajes defectuosos tienen un papel secundario en la diseminación de los microorganismos, ya que los defectos no son muy comunes; sin embargo, se registran epidemias que se deben a contaminación de la red de agua potable por drenajes defectuosos. El riego con aguas residuales podría desempeñar también un papel importante en la diseminación de ciertas formas infectantes (Santaella, 2002).

2.5.1 Clasificación

De acuerdo a su origen se han clasificado en varios tipos: a) en aguas residuales de tipo doméstico (de casas habitación), b) de tipo municipal (de instalaciones urbanas), c) de tipo industrial (de todo tipo de industria) y d) de tipo agropecuario (de zonas de cultivo y granjas de crianza) (Olvera, 1991). A continuación se hace una breve descripción de cada una de ellas.

- **Aguas residuales domésticas.**- son líquidos o desechos arrastrados por el agua, procedentes de la casa habitación, edificios comerciales e instituciones, junto con las aguas subterráneas, superficiales o de precipitación pluvial que pueda agregarse. Generalmente se encuentran constituidas por desechos humanos y animales, desperdicios caseros y corrientes pluviales (Rodríguez, 1998):

a) Desechos humanos y animales.- Son las excretas corporales que llegan a formar parte de las aguas residuales domésticas mediante los sistemas hidráulicos de los retretes o letrinas, estos desechos son de importancia sanitaria para la salud

pública, debido a que pueden contaminar a los cuerpos receptores con microorganismos patógenos: *Vibrio cholerae*, *Salmonella typhi*, *Shigella sp.*

b) Desperdicios caseros.- Estos desechos contienen detergentes sintéticos no biodegradables u otros agentes químicos usados en los hogares urbanos, los cuales generalmente incluyen en su composición agentes espumantes que impiden la oxigenación de los cuerpos de agua y provocan daños a la ecología de los mismos o sustancias tóxicas a los organismos depuradores que proliferan en ellos, también las partículas de alimentos y grasas impiden la oxigenación del agua y consecuentemente la autopurificación de la misma.

c) Corrientes pluviales.- Las aguas de lluvia al caer lavan la superficie de la tierra, arrastrando cantidades variables de polvo, arena, hojas y otras basuras a los sistemas de alcantarillado.

- **Aguas residuales municipales.-** En términos generales, dichas aguas se caracterizan por las elevadas concentraciones de sólidos, materia orgánica, grasas y detergentes. (Rodríguez, 1998). Las aguas residuales domésticas y municipales contienen materia orgánica putrescible y potencialmente removible. Entre los compuestos orgánicos que se encuentran en este tipo de aguas residuales se incluyen: aminoácidos, ácidos grasos, jabones, ésteres, detergentes aniónicos, azúcares, aminas y amidas, entre otros. También se encuentran compuestos de tipo inorgánico en sales disueltas en forma iónica (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mn^{2+} , NH_4^+ , Cl^- , NO_3^- , NO_2^- , HCO_3^- , SO_4^{2-} y PO_4^{3-}) (Olvera, 1991).
- **Aguas residuales industriales.-** El agua residual industrial es la que se deriva de los procesos productivos a nivel nacional. El tipo y características de los contaminantes, hacen muy dañinas este tipo de descargas, debido a su toxicidad. A

pesar de que el promedio de las aguas residuales industriales es muy bajo en relación con el urbano, la toxicidad producida por este tipo de descargas es mayor, por lo que produce más alteraciones y contaminación en el agua, de ahí que la salud humana se ve más dañada por la gran variedad de elementos químicos arrojadas a las aguas (Castañeda, 2000).

- **Aguas residuales agropecuarias.**- Este tipo de descarga de aguas residuales se integra en gran medida por las descargas residuales agrícolas, provenientes principalmente del riego de los campos y las ganaderías. El principal problema de este tipo de descargas es su infiltración en la tierra, en el caso de las agrícolas, o directamente a los cuerpos receptores de agua más cercanos, ocasionando efectos tóxicos en los organismos que viven en dichos cuerpos de agua, provocando el crecimiento excesivo de plantas acuáticas. Estas aguas son vertidas sin tratamiento previo a pesar de la existencia de la Norma Oficial Mexicana que regula los máximos permisibles de contaminantes en este tipo de descargas (Castañeda, 2000).

2.5.2 Tratamiento de aguas residuales

El tratamiento de las aguas residuales es la serie de operaciones unitarias a que se someten dichas aguas para impartirles una calidad determinada, de acuerdo al uso requerido (Mondragón, 2001).

En el tratamiento de aguas de desecho biodegradables se aplican una serie de medidas que imitan el proceso natural de autolimpieza. Por ello, una planta de tratamiento de aguas residuales puede considerarse como una estación de trabajo ecológico intensivo.

A pesar de que son muchos los métodos empleados para el tratamiento de las aguas residuales, todos pueden incluirse dentro de los cinco procesos siguientes:

- Tratamiento preliminar
- Tratamiento primario
- Tratamiento secundario
- Tratamiento terciario o avanzado
- Desinfección (cloración, ozonación, irradiación) (Rodríguez, 1998).

2.5.3 Problemática del destino y reutilización de las aguas residuales

Debido a la escasez del recurso ocasionado por la contaminación de los cuerpos de agua que emplean a las aguas residuales para el riego de ciertas legumbres sin pasar por algún tratamiento previo, los efluentes que se utilizaban para regar cultivos se encuentran totalmente contaminados, no dejando otra alternativa para los agricultores de dichas chinampas, que el de disponer de estas aguas. Esta situación ha originado graves problemas en la salud de los consumidores de este tipo de alimentos, así como también en los agricultores que se encuentran empleando directamente este tipo de aguas y de sus familias. Debido a esto, cuando se requiera reutilizar el agua residual, será necesario emplear una forma de tratamiento. El nivel primario, acondiciona el agua residual para descargarla a una corriente natural para su autodepuración o para su posterior tratamiento secundario. El agua tratada a nivel secundario es empleada en el riego de parques, jardines y áreas verdes, llenado de lagos recreativos, lo cual sirve como suministro de agua para sanitarios de escuelas, para la compactación de suelos en diferentes construcciones, para el riego de campos agrícolas y de uso industrial, entre otros. Por último, el agua tratada a nivel terciario se emplea en la recarga de

mantos acuíferos y eventualmente es utilizada para su consumo (Castañeda, 2000; Mondragón, 2001).

En la Ciudad de México y hasta el año de 1956 se empezaron a reutilizar las aguas negras previo tratamiento, ya que en ese año, se creó la primera planta de tratamiento de aguas en el país, ubicada "en el Bosque de Chapultepec" (DGCOH, 1989). El agua residual proveniente de una zona residencial (sin residuos tóxicos), una vez tratada, se usó para mantener el nivel del lago de Chapultepec.

Es a partir de ese ejemplo de la reutilización de las aguas por el Gobierno del Distrito Federal, que esta actividad se consideró hacia los usos industriales del agua para la diversidad de los procesos que se realizan en dicho ramo y, además, de poder contribuir a satisfacer la demanda creciente del recurso en la sociedad, ya que para ciertas actividades no se requiere que se encuentre totalmente potabilizada. En la actualidad, el agua tratada sustituye un importante volumen de agua potable que originalmente se destinaba para usos que no requerían de tal calidad. Sin embargo, es importante destacar que el uso principal de las aguas residuales sigue siendo el de riego agrícola (Castañeda, 2000).

2.5.4 Legislación

En relación con las Normas Oficiales Mexicanas expedidas por la SEMARNAP y referidas a los límites máximos permisibles de contaminantes en el agua, es posible apreciar las siguientes normas:

- **NOM-001-ECOL-1996.** La cual establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales y bienes nacionales. Publicada

en el Diario Oficial de la Federación el 6 de enero de 1997, con aclaraciones publicadas con fecha 30 de abril de 1999.

- **NOM-002-ECOL-1996.** La cual establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales, a los sistemas de alcantarillado. Publicada en el Diario Oficial de la Federación el 3 de junio de 1997.
- **NOM-003-ECOL-1997.** La cual establece los límites máximos permisibles en las aguas tratadas que se reúsen en servicios al público. Publicada en el Diario Oficial de la Federación el 22 de septiembre de 1998.

De las tres normas mencionadas anteriormente, la NOM-001-ECOL-1996, referida a los límites máximos permisibles en las aguas contaminantes, es la que sirve de base y de referencia para la expedición y aplicación de las dos normas posteriores. Las tres normas definen en el ámbito de su competencia, los diferentes conceptos necesarios para regular el objetivo para el que fueron creadas, siendo el concepto de aguas residuales el único concepto totalmente homogéneo en las tres normas vigentes. Dentro de las definiciones contenidas en la NOM-003-ECOL-1997, es necesario resaltar el concepto de agua tratada, el cual se entiende como "Aquellas que mediante procesos individuales o combinados de tipo físicos, químicos, biológicos y otros se ha mejorado su calidad a efectos de hacerlas aptas al público" siendo éste el primer concepto técnico jurídico de agua residual y destinado a una reutilización adecuada y determinada. El presente trabajo de investigación se realizó en apego a la NOM-003-ECOL-1997, cuyo ámbito de aplicación es el de determinar los límites máximos permisibles de contaminantes para las aguas residuales tratadas que se reutilicen en servicios al público. Esta Norma es de observancia para las entidades públicas, y de los responsables de su tratamiento y "reúso" por los particulares o terceros que tengan

concesionado el servicio de "reúso". La vigilancia del cumplimiento de esta Norma corresponde a la SEMARNAP (actualmente Semarnat), a través de la CNA y de la Secretaría de Salud, en el ámbito de sus respectivas atribuciones (Castañeda, 2000).

2.6 Agentes desinfectantes empleados en las hortalizas

2.6.1 Definición de desinfectante

Un desinfectante es un agente que mata el 100% de los organismos que pueden ocasionar infecciones, tales como hongos o bacterias, pero que no necesariamente matará esporas bacterianas sobre superficies inanimadas. Los productos desinfectantes según la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos de América (USEPA, por sus siglas en inglés) han dividido dentro de dos categorías a esta definición: 1) Los desinfectantes para hospitales empleados en instrumentos médicos y dentales, así como en paredes, pisos y camas; y 2) Los desinfectantes generales que son usados en casas, albercas y para la desinfección de aguas (Remes, 1995).

2.6.2 Definición de "sanitizante"

Los "sanitizantes", palabra tomada del inglés, de "sanitize" + "agent", agente que da salud, son aquellos agentes químicos que tienen la aptitud de reducir a niveles insignificantes la tasa de patógenos y demás microorganismos contaminantes, pudiendo, en algunos casos, llegar a eliminarlos completamente. También se denominan agentes para higienizar o desinfectar (desinfectantes), que se aplican en la etapa de la limpieza microbiológica de las superficies. Aunque los "sanitizantes" son productos que tienen acción desinfectante, esta denominación no es apropiada, ya que la denominación de desinfectante debe reservarse para los productos farmacéuticos

que se aplican en los humanos o en los animales sobre las heridas para reducir una infección. En el caso de las superficies de los equipos, de las paredes, de los pisos, de los materiales de envasado, o de algunos productos animales o vegetales, no es correcto decir que se infectan, sino que se contaminan y por lo tanto los "sanitizantes" son, propiamente, agentes que eliminan a los contaminantes ("descontaminantes", aunque esta palabra tampoco existe) (Remes, 1995).

2.6.3 Plata coloidal como agente "descontaminante" en alimentos

La plata es un metal blanco lustroso y blando, insoluble en agua y en los álcalis. Se ioniza fácilmente por electrólisis, constituyendo esta propiedad la base de algunos sistemas empleados en la desinfección de agua. La desinfección puede aumentarse o disminuirse variando el flujo de corriente, aunque las concentraciones empleadas en el tratamiento del agua se encuentren comprendidas entre 0.025 y 0.075 ppm (Zinsser, 1990).

Los preparados de plata coloidal no son corrosivos, ni astringentes, ni manchan la piel como las sales solubles de plata y, dado que los metales pesados como la plata son tóxicos, son antisépticos en grado notable. La acción antiséptica de los coloides no es proporcional al contenido total de plata, pero se encuentra en función de la concentración de los iones plata que liberan. Los preparados coloidales de la plata metálica se obtienen por reducción química o por electroreducción de las sales de plata y se estabilizan por la adición de un derivado proteínico (Jiménez, 1994; Rusell, 1982). Los iones plata, similares a muchos metales pesados pueden formar complejos con grupos conteniendo: azufre, oxígeno o nitrógeno. En los sistemas biológicos estos se encuentran presentes como tioles, carboxilatos, fosfatos, hidroxilos, aminas, imidazoles,

indoles, de manera individual o en una gran variedad de combinaciones. Para contar con acción antimicrobiana, la plata puede ser usada como: metal en forma activa; en soluciones coloidales adsorbida sobre carbón u otra forma física, en los cuales, el agente activo parecen ser los iones plata producidos (Jiménez, 1994).

2.6.4 Mecanismos de acción

Muchas enzimas bajo condiciones *in vitro* son inhibidas por la plata y, según varios estudios, es más eficiente que los compuestos organomercuriales. La gran eficacia observada por la plata comparada con la del mercurio algunas veces es atribuida a su gran habilidad para unirse a los grupos sulfhidrilo de las proteínas de las bacterias (Jiménez, 1994).

Las formas solubles de la plata "envenenan" la actividad enzimática al formar mercaptanos con los grupos sulfhidrilos. La reacción inicial es reversible pero después de un contacto prolongado o en concentraciones elevadas, se forma una combinación irreversible que mata a los microorganismos. La plata coloidal actúa también sobre la superficie celular bacteriana y causa la muerte de las bacterias por alteraciones en la pared celular y la membrana citoplasmática, desintegrando el ADN de la misma. Algunos autores consideran que estos compuestos son más eficaces como agentes bacteriostáticos que como bactericidas aunque, en realidad, cuando las soluciones de sales de plata coloidal estable se aplican, ejercen un inmediato efecto bactericida y germicida. Esta acción de la plata coloidal es común a muchos metales pesados y se llama oligodinámica. El efecto antiséptico de las sales de plata se reduce por las proteínas y por los cloruros presentes en el medio circundante (Zinsser, 1990).

2.6.5 Toxicidad

Los intervalos de toxicidad oral aguda van de 2 a 30 mg de Ag^+ ; la toxicidad sub-aguda es aparentemente rara. La absorción también puede ser por el tracto respiratorio, pero primero se da por la vía oral. Los síntomas de toxicidad por ingestión incluyen: gastroenteritis y reacciones graves tales como: coma, convulsiones, parálisis y disturbios severos en la respiración (Gosselin, 1985).

A continuación se presenta el área de estudio en donde se llevó a cabo la recolección, tanto de hortalizas como de agua, empleadas en esta investigación

3.0 METODOLOGÍA

3.1 Área de estudio donde se desarrolló la investigación

3.1.1 Localización

El área de estudio donde se desarrolló la investigación se encuentra ubicada en la Delegación Xochimilco, localizada al suroriente del Distrito Federal, México, que ocupa el tercer lugar entre las 16 delegaciones ya que presenta una extensión territorial de 128.1 kilómetros cuadrados, representando el 8.9% de la superficie total del Distrito Federal. Sus límites son, al norte, con las delegaciones Coyoacán, Iztapalapa y Tláhuac, al sur, con la de Milpa Alta, al oriente con la de Tláhuac y, al poniente, con la de Tlalpan. Su sistema orográfico se encuentra dividido en tres zonas principales: Sierra del Ajusco, Tlalpan-Xochimilco y del valle. Las elevaciones de estas zonas van de 2000 a los 2500 M.S.N.M., destacando por su altura el volcán Teuhtli y el cerro de Xochitepec (Herrera, 1997).

En la **Figura 1** es posible apreciar la ubicación de la Delegación Xochimilco en el Distrito Federal.

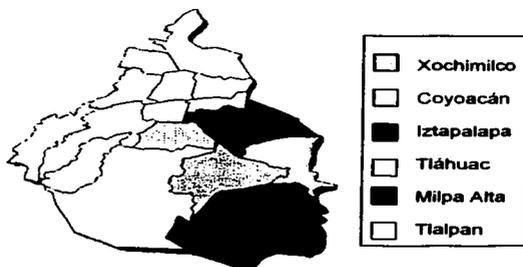


Figura 1. Mapa delegacional del Distrito Federal (Anónimo, 2003)

3.1.2 Descripción del Área de estudio

El presente estudio se llevó a cabo en el pueblo de San Gregorio Atlapulco, el cual pertenece a la Delegación Xochimilco. Esta zona está situada a 21 km al sureste de la ciudad de México, y es uno de los catorce pueblos que integran la Delegación de Xochimilco. La altitud aproximada es de 2238 M.S.N.M., colinda por la parte norte con la Delegación Tláhuac, por el sur con la Delegación Milpa Alta, hacia el este con San Luis Tlaxialtemalco (Becerril, 1993).

Tanto el pueblo de San Gregorio, como el de Xochimilco, en general, son una zona tradicionalmente chinampera. Esta zona se encuentra situada en lo que fueran los lagos de Xochimilco y Chalco, aunque también hubo chinampas en otras partes de la cuenca. Xochimilco y Chalco ofrecieron las mejores condiciones para las chinampas por contar con manantiales y con desagüe natural hacia la laguna de México. Por otro lado, frente al poblado de San Gregorio Atlapulco, se encuentra una zona de chinampas, rodeada por canales secundarios y terciarios (Coutiño, 1981).

3.1.2.1 Clima

El clima de San Gregorio Atlapulco, según la carta climática de escala 1:50, 000 en la entonces Secretaría de Programación y Presupuesto en 1970, se clasifica como C(W₁) (W) b(1), es decir clima templado húmedo, el cual es considerado como el más seco de los templados subhúmedos con lluvias en verano. La temperatura media anual de la zona es de 12.7 a 13.6°C, con máximas hasta de 31°C. La precipitación es de 891 mm anuales en promedio (Coutiño, 1981).

3.1.2.2 Suelos

Los suelos al sur de la cuenca de México son de origen volcánico y se han clasificado fundamentalmente como chernozems, los cuales son muy ricos en materia orgánica y con un alto contenido de nitrógeno y fósforo. Presentan un drenaje particular que permite la gran infiltración de agua de lluvia, que luego aflora en copiosos manantiales. Antiguamente, éstos eran las fuentes mas importantes de abastecimiento del lago (Coutiño, 1981).

3.1.2.3 Hidrología

El pueblo de San Gregorio Atlapulco poseía manantiales, que en el pasado brotaban en las orillas del pueblo, agregando sus aguas a los canales de la zona chinampera. En la actualidad estos manantiales abastecen de agua a la ciudad de México. Los más conocidos eran: el Tiilac, el de la Espejera, Caltongo, Coacomíc y el de Tlapechicali. Los canales que todavía existen en esta región son: el canal de Apatlaco, canal de Tezhuila, el de San Sebastián, el de Chalco y el canal del Bordo, sirviendo este último de división entre la chinampería y los terrenos del ejido de San Gregorio Atlapulco. Hoy en día dichos manantiales se están secando o ya están secos, lo cual ha disminuido el nivel de los canales. Por tal motivo, para mantener su nivel se recibe agua de las plantas de tratamiento de aguas residuales de San Luis Tlaxialtemalco y del Cerro de la Estrella (Becerril, 1993).

3.1.2.4 Sistema de riego

Una chinampa en condiciones óptimas no requiere ser irrigada, debido a las características de la rápida infiltración del agua a través del suelo poroso, manteniéndolo constantemente húmedo. Sin embargo hoy en día no se cuenta con los

niveles adecuados de agua, por lo que se requiere de la irrigación, sobre todo durante los meses de sequía. La intensidad y número de riegos depende de factores como la altura de la chinampa sobre el agua, la edad, las condiciones del suelo y el nivel de precipitación. El tipo de riego en las chinampas se practica de diferentes formas tales como: riego por tendido, riego por surcos, riego por goteo, predominando el riego por aspersión. Este último consiste en la distribución del agua en forma de lluvia, la cual se realiza mediante un equipo de bombeo, inyectando presión a la tubería. Este sistema no requiere más que la eliminación de algunas irregularidades del terreno para no tener demasiados cambios de dirección en la tubería y evitar con esto mayores pérdidas de flujo (Coutiño, 1981; Herrera, 1997).

3.1.2.5 Plantas cultivadas

Algunas de las plantas comestibles cultivadas en las chinampas desde la época prehispánica son las siguientes: maíz (*Zea mays*), calabaza (*Cucurbita pepo*), tomate (*Physalis tozomatli*), jitomate (*Lycopersicum esculentum*), diferentes tipos de frijol (*Phaseolus vulgaris*), chile pasilla (*Capsicum annum*), chilacayote (*Cucurbita ficifolia*), quelites, huauzontles (*Chenopodium album*), etc. Después de la conquista se empezaron a cultivar las hortalizas europeas como: col (*Brassica oleracea*), lechuga (*Lactuca sativa*), rábanos (*Raphanus sativus*), nabos (*Brassica napus*), zanahorias (*Daucus carota*), etc. Actualmente, se cultivan 25 verduras diferentes y varias flores originarias de todo el mundo. En cada época del año, en las diferentes parcelas, se encuentran diversos cultivos que se van alternando; por lo que la producción es constante y abundante (Coutiño, 1981).

En la **Figura 2** se aprecia la Delegación Xochimilco, los poblados que la conforman, sus límites con otras delegaciones, la zona agrícola y el área donde se realizó el muestreo de las hortalizas y del agua (los poblados de San Gregorio Atlapulco y San Luis Tlaxialtemalco, respectivamente).

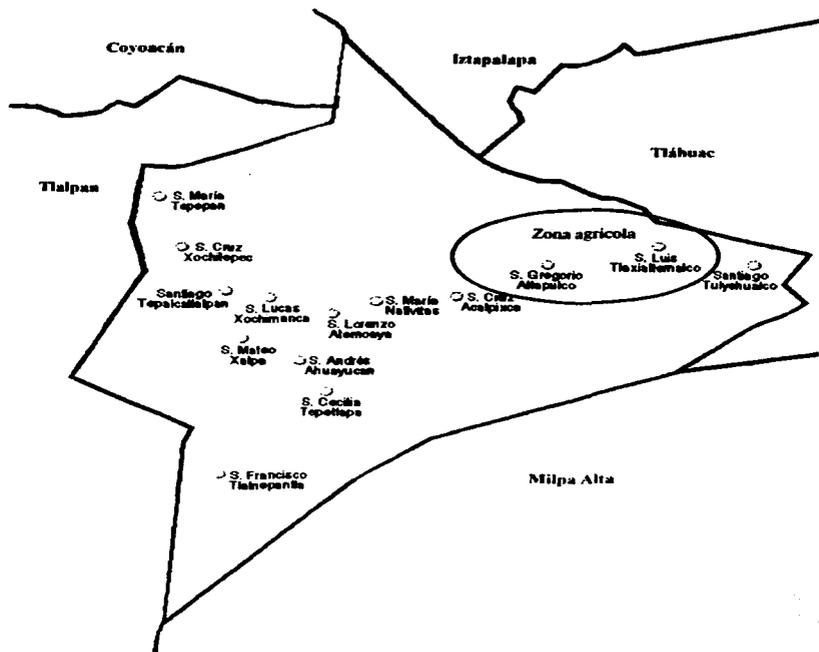


Figura 2. Mapa de la Delegación Xochimilco (Anónimo, 2002)

3.1.3 Origen de las chinampas

El surgimiento de las chinampas, no fue una casualidad, sino una necesidad de los primeros habitantes que llegaron a la cuenca de México, la cual se encontraba ocupada en su mayor parte por lagos, lo cual obligó a los pobladores, a buscar la forma de aprovechar el medio existente de la zona lacustre; se explotó la caza, la pesca y se formaron las primeras chinampas para cultivar plantas alimenticias, iniciándose así la forma de agricultura mas intensa que ha existido en Mesoamérica. Para hacer una descripción de la palabra chinampa es necesario recurrir a la lingüística y decir que la palabra tiene dos raíces del náhuatl, que son: *Chinamitl*, que significa "seto o cerco de cañas entrelazadas" y *Pa*, que significa "sobre de"; quedando como: "*el terreno formado sobre un seto o cerco de cañas entrelazadas*". Las chinampas son islotes rodeados por lo menos en tres lados por agua, que fueron construidos artificialmente por la mano del hombre en ciénegas y lagos poco profundos por la acumulación de espesos mantos de plantas acuáticas y lodo extraído de la misma ciénega. Este tipo de uso de la tierra no requiere maquinaria, ni fertilizantes químicos o plaguicidas; ya que estos han sido introducidos hasta fechas muy recientes. La base de este tipo de agricultura es la abundancia de agua, que se debe de manejar de una forma muy eficiente en los canales construidos en forma artificial. En estos canales se produce buena parte de la materia orgánica utilizada para la fertilización de las chinampas. Los productos de esta materia orgánica son los vegetales y animales que viven en los canales. Sus desechos se acumulan en el fondo, formando parte del lodo o cieno que es sacado de los canales para el cultivo. El mantenimiento de los canales permite la irrigación por infiltración, lo cual resulta muy eficiente (Coutiño, 1981; Becerril, 1993).

La mayor parte de los vegetales cultivados, se siembran primero en almácigo. El almácigo se hace generalmente en el extremo de la chinampa, junto al canal. Se forma una capa de vegetación acuática, sobre la cual, una vez que éste seca, el chinampero forma otra capa de cieno de 6 a 8 cm de espesor. Se deja endurecer 2 a 3 días, para posteriormente cortarse en bloques rectangulares pequeños llamados chapines; posteriormente, con el dedo se hace un hoyo en cada chapín, donde se depositan las semillas cubriéndolas con estiércol y se riega el almácigo especialmente durante los meses de sequía. Una vez que se ha desarrollado la plántula, los chapines se desgajan fácilmente y son transportados al sitio donde serán plantados (la chinampa) (Coutiño, 1981).

De todos los estudios que se han desarrollado sobre los diferentes sistemas de cultivo, se ha encontrado que el sistema de chinampas fue el más eficiente, estable y autosuficiente que se conoce hasta nuestros días. Debido a estas características, se cree que las chinampas en la época prehispánica, eran la base de la economía en el ahora valle de México. Se menciona que el área ocupada por las chinampas, se extendía desde la región de Tenochtitlan-Tlatelolco, hasta el lago de Chalco (Becerril, 1993).

Con base en estos conceptos, a continuación se presentan los materiales y métodos empleados en esta investigación.

3.2 Materiales y métodos

En la **Tabla 4** se describen los materiales, medios de cultivo y reactivos empleados en el desarrollo experimental.

Tabla 4. Materiales y equipo empleados en el desarrollo de la investigación

Material de vidrio	Especificaciones
Pipetas bacteriológicas de 10, 5 y 1 mL	Marca: PIREX
Tubos de ensayo de 22 x 175, de 16 x 150 y de 13 x 100 mm	Marca: PIREX
Campanas de "fermentación" (tubos de Durham)	Marca: PIREX
Matraces Erlenmeyer de vidrio de 1000, 500 y 250 mL	Marca: PIREX
Medios de cultivo	
Peptona de carne, Agar Cuenta Estándar (ACE), Caldo lauril sulfato triptosa, caldo EC, Caldo de soya tripticasa, Caldo lactosado, Caldo Selenito-Cistina, Caldo tetrionato, Agar Xilosa Lisina Desoxicolato (XLD), Agar bilis verde brillante (VB), Agar entérico de Hektoen (HE), Agar sulfito de bismuto (SB), Agar para <i>Salmonella</i> y <i>Shigella</i> (SS), Agar hierro triple azúcar (TSI), Agar hierro-lisina (LIA), Caldo Urea, Medio sulfuro-indol-movilidad (SIM), Agar citrato de Simmons, Caldo Manitol, Caldo manolot, Caldo Rojo de metilo Vogues – Proskawer (RM-VP)	Marca: BIOXON
Reactivos	
Solución salina isotónica (S.S.I.), Reactivo de Kovac, Solución de rojo de metilo, Solución de reactivo de (RM-VP) 1 y 2, Solución de yodo-yoduro.	Marca: J.T BAKER
Antisuero polivalente somático ("O") H	Marca: DIFCO
Aparatos e instrumentos	
Balanza granataria con sensibilidad de 0.1 g	Marca: Mettler – Toledo; modelo AG245
Autoclave	Marca: Consolidated Stills and Soons
Contador de colonias de campo oscuro	Marca: Darkfield Colony Counter, American Optical Corporation
Microscopio óptico de campo claro	Marca: Carl Zeiss
Cajas petri desechables (90 x 15 mm)	Laboratorios S y M
Licudadora de dos velocidades	Marca: Osterizer

Aparatos empleados	Ubicación
Incubadora	Laboratorio 1 - A
Vasos para licuadora con tapa esterilizable	Marca: Osterizer

3.2.1 Selección de las hortalizas (previa encuesta)

Las hortalizas fueron seleccionadas mediante la realización de una encuesta, dicha encuesta se efectuó en el mes de mayo del año 2001 y se aplicó en una zona determinada de Xochimilco (conocida como "Mercado del Centro de Xochimilco"), a un sector de 200 personas tomadas en forma aleatoria. La encuesta abarcaba dos preguntas, de las cuales se deseaba conocer, por un lado, las hortalizas de mayor consumo en su forma original (sin cocción u otro procesamiento) y, por el otro, el método de desinfección usado antes de su consumo. Las dos preguntas realizadas al sector fueron las siguientes:

- a) ¿Cuáles son las hortalizas que consume con mayor frecuencia? y
- b) ¿Cómo las limpia o desinfecta antes de consumirlas?

Estas respuestas permitieron conocer, por un lado, a las hortalizas de mayor consumo en esa área y, por el otro, el tipo de sistema de desinfección empleado por ese sector de población.

3.2.2 Obtención de las muestras

Las hortalizas seleccionadas previa encuesta (lechuga, espinaca y cilantro) fueron adquiridas en chinampas de San Gregorio Atlapulco, Xochimilco, por la mañana, en el mes de junio del mismo año en que se realizó la encuesta. La extensión de cada chinampa varía de acuerdo al tipo de hortaliza que se siembre y la proximidad que

tengan del canal de riego, las chinampas donde se muestrearon estos vegetales, cuentan con dos canales de riego y una extensión de 300 m² para la lechuga, de 150 m² para la espinaca y de 100 m² para el cilantro. Debido a la extensión de los terrenos se decidió seleccionar cinco puntos diferentes para realizar el muestreo entre cada chinampa (los cuatro extremos y el centro) y se hizo una muestra compuesta de los 5 puntos. Una vez tomadas las muestras se introdujeron en bolsas previamente esterilizadas y en hieleras para mantener la temperatura de las muestras a 4±1.5°C, según lo establecido en la NOM-109-SSA1-1994.

3.2.3 Homogenización de las muestras

Una vez adquiridas las hortalizas se trasladaron al laboratorio E-301 del Programa de Ingeniería Química Ambiental y de Química Ambiental de la Facultad de Química, de la UNAM, en donde, inmediatamente, fueron preparadas para su análisis microbiológico. La preparación consistió en realizar una muestra homogénea de los 5 puntos del muestreo de cada chinampa seleccionada. Una vez realizada la homogeneización de las mismas se procedió a su tratamiento.

3.2.4 Tratamiento de las muestras

Cada una de las tres bolsas homogeneizadas, se dividieron en dos partes iguales cada una, con el propósito de contar al final con seis muestras. La primera parte no recibió tratamiento de limpieza y desinfección alguno; mientras que la segunda, se lavó con agua de la llave, para posteriormente sumergirse en una charola la cual contenía el agente "descontaminante" resultante de la encuesta realizada, el cual resultó ser el "Mycrodin[®]" (cuyo principio activo se basa en la plata coloidal), de acuerdo con la

cantidad y el tiempo estipulado por el fabricante (8 gotas por litro, aplicados durante 10 minutos). Se cree que la eficiencia de estas pequeñas cantidades del metal argentífero en forma coloidal se debe a la gran afinidad que tienen ciertas proteínas celulares por los iones, acumulándose de esta forma en grandes cantidades en las células a partir de las disoluciones diluidas, y substituyendo a otros metales en compuestos de coordinación (Pelczar, 1990), como ya se mencionó en el capítulo 2.

3.2.5 Análisis microbiológicos realizados en las muestras

A las seis muestras (tres con tratamiento y tres sin tratamiento de limpieza y desinfección) se les determinaron la calidad microbiológica según lo establecido por la norma NOM-093-SSA1-1994, la cual señala la cuantificación de microorganismos coliformes fecales y mesófilos aerobios. Por otra parte, debido al tipo de abono empleado en los sembradíos, (estiércol de bovino y ovino) se propuso la determinación adicional de un microorganismo, *Salmonella*. Además de la Norma en cuestión, para la determinación de los análisis microbiológicos, se recurrieron a las Normas Oficiales Mexicanas siguientes, como apoyo para la toma de muestra, preparación y dilución de las mismas y para las determinaciones de los microorganismos: mesófilos aerobios, coliformes fecales y *Salmonella* (NOM-092, 109, 110, 112, 114-SSA1-1994.)

3.2.5.1 Preparación y dilución de las muestras

Procedimiento

Pesar 10 g de la muestra, recién llegada al laboratorio, en un recipiente estéril de tamaño adecuado. Se adiciona un volumen de 90 mL del diluyente llevado a una temperatura similar a la de la muestra. Se opera la licuadora hasta obtener una

suspensión completa y homogénea, no excediendo el tiempo de 2.5 minutos. Se deja reposar por 10 minutos para permitir que las partículas grandes sedimenten, y la cantidad deseada es transferida tomando de las capas superiores de la suspensión la alícuota deseada.

Preparación de las diluciones decimales adicionales.

- Se transfiere 1 mL de la dilución primaria 1 + 9 (10^{-1}), en otro recipiente conteniendo nueve veces el volumen del diluyente estéril a temperatura ambiente, evitando el contacto entre la pipeta y el diluyente. Las diluciones se mezclan cuidadosamente de un lado a otro, tomándose 1 mL del tubo donde se desee realizar la cuantificación y se trasvasa a otro tubo conteniendo el medio de cultivo adecuado donde se realizará su crecimiento.

Notas:

Es necesario utilizar pipetas diferentes para cada dilución. El volumen que se transfiera nunca debe ser menor al 10% de la capacidad total de la pipeta.

Duración del procedimiento

En general, las diluciones de la muestra deben ser preparadas inmediatamente antes del análisis y éstas deben ser usadas para inocular el medio de cultivo dentro de los 20 minutos posteriores a su preparación (NOM-110-SSA1-1994).

3.2.5.2 Determinación de microorganismos mesófilos aerobios por el método de cuenta en placa

Fundamento

El fundamento de la técnica consiste en contar las colonias, que se desarrollan en el medio de elección después de un cierto tiempo y temperatura de incubación, presuponiendo que cada colonia proviniera de un microorganismo de la muestra bajo estudio. El método admite numerosas fuentes de variación, algunas de ellas controlables, pero sujetas a la influencia de varios factores.

Procedimiento

Las cajas estériles se distribuyen en la mesa de trabajo de manera que la inoculación; la adición de medio de cultivo y la homogenización, se realicen cómoda y libremente. Las cajas son marcadas en sus tapas con los datos pertinentes previamente a su inoculación y por duplicado. Una vez inoculadas las diluciones de las muestras preparadas en las cajas Petri, se agregan de 12 a 15 mL del medio preparado, se mezcla mediante 6 movimientos de derecha a izquierda, 6 en el sentido de las manecillas del reloj, y 6 en sentido contrario, sobre una superficie lisa y horizontal hasta lograr la incorporación del inóculo en el medio; cuidando de que el medio no moje la cubierta de las cajas. Una vez realizado esto, se deja solidificar. Es importante incluir una caja sin inóculo como testigo de esterilidad. El tiempo transcurrido desde el momento en que la muestra se incorpora al diluyente hasta que finalmente se adiciona el medio de cultivo a las cajas, no debe exceder de 20 minutos. Transcurrido éste, las cajas son incubadas en posición invertida (la tapa hacia abajo) por el tiempo y la temperatura que se requiera, ($35 \pm 2^{\circ}\text{C}$, 48 ± 2 h). Transcurrido este tiempo son

contadas todas las colonias desarrolladas en las placas seleccionadas (excepto las de mohos y levaduras), incluyendo las colonias puntiformes, haciendo uso del microscopio para resolver los casos en los que no se pueden distinguir las colonias de las partículas pequeñas del alimento.

Expresión de resultados

Después de la incubación, se seleccionan las placas que se encuentren en el intervalo de 25 a 250 colonias, usando el contador de colonias. Las placas de al menos una de las tres diluciones deberán encontrarse en el intervalo de 25 a 250 colonias. Se calcula la cuenta promedio por gramo de dicha dilución y se reporta (contar el número de colonias presentes en dicha dilución, y multiplicar por el factor de dilución). Cuando dos diluciones se encuentren en el intervalo apropiado, determinar la cuenta promedio dada por cada dilución antes de promediar la cuenta de las dos diluciones para obtener la cuenta en placa por gramo. Una vez contabilizadas las colonias en las placas seleccionadas, se multiplican por el inverso de la dilución hasta obtener el número de UFC por gramo de la muestra. La cifra obtenida en la cuenta es redondeada de manera que sólo aparezcan dos dígitos significativos al inicio de esta cifra.

Informe de la prueba

Reportar como: Unidades formadoras de colonias por gramo, UFC/g de bacterias mesofílicas aerobias en placa en agar para cuenta estándar, incubadas a $35 \pm 2^\circ\text{C}$, 48 ± 2 horas (NOM-092-SSA1-1994).

3.2.5.3 Determinación de microorganismos coliformes fecales por la técnica del “Número Más Probable” (NMP)

Fundamento

El método se basa en que las bacterias coliformes degradan la lactosa incubadas a $35 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 24 a 48 horas, resultando una producción de ácidos y de gas el cual se manifiesta en las campanas de “fermentación” (biorreacción).

Procedimiento

Prueba presuntiva para las hortalizas (lechuga cilantro y espinaca)

Se toman tres tubos con medio de lauril sulfato triptosa de doble concentración, empleando una pipeta estéril. Se transfieren a cada tubo 10 mL de la dilución primaria inicial. Posteriormente, se toman tres tubos de concentración sencilla del medio selectivo de enriquecimiento y empleando otra pipeta estéril, se transfiere en cada uno de estos tubos 1 mL de la dilución primaria inicial. Para las diluciones subsecuentes, continuar como se indica en el párrafo anterior, usando una pipeta diferente para cada dilución. Mezclar suavemente el inóculo con el medio. Los tubos son incubados a $35 \pm 0.5^\circ\text{C}$ por 24 ± 2 horas, observando la producción de gas; en caso contrario, se prolonga la incubación hasta 48 ± 2 horas más.

Prueba confirmativa

De cada tubo que muestre formación de gas, se toma una “asada” y se siembra en un número igual de tubos con medio de confirmación (caldo EC). Los tubos de caldo EC se incuban a $44.5 \pm 2^\circ\text{C}$ observando la formación de gas en un tiempo de 24 ± 2 horas. Si no se observa en este tiempo, se prolonga la incubación por 48 ± 2 horas más. Los

tubos de caldo EC que presenten formación de gas, son considerados como organismos coliformes de origen fecal.

Expresión de resultados

La serie de tubos de la prueba confirmativa que presente formación de gas es analizada después del periodo de incubación requerido buscando en tablas de información estadística (tablas del NMP) la cantidad de microorganismos que corresponda al número de tubos positivos de cada dilución.

Ejemplos: Cuando sólo una dilución muestra tres tubos positivos, se elige ésta y las diluciones de mayor denominación. Cuando más de una dilución muestra tres tubos positivos y la última da menos de tres, se elige esta última y las dos diluciones anteriores más bajas. Cuando en ninguna dilución haya tres tubos positivos y éstos se encuentran en más de tres diluciones, se seleccionan las dos diluciones positivas mayores y la siguiente. Cuando los tubos positivos sólo se encuentran en la muestra sin diluir (10 mL o 1 g) y en la primera dilución (1 mL o 10^{-1} g), se seleccionan las tres primeras diluciones para el cálculo del número más probable.

En cada caso de los anteriores se obtiene un número de tres cifras, y en la columna que indica el número de tubos positivos se busca el índice del NMP.

Informe de la prueba

Informar el "Número más probable (NMP) de coliformes fecales por gramo de muestra" (NOM-112-SSA1-1994).

3.2.5.4 Determinación del microorganismo patógeno propuesto: *Salmonella*

Fundamento

La presente técnica para la detección de *Salmonella* en alimentos, describe un esquema general que consiste de 5 pasos básicos:

Preenriquecimiento.- Es el paso donde la muestra es enriquecida en un medio nutritivo no selectivo, que permite restaurar las células de *Salmonella* potencialmente dañadas a una condición fisiológicamente estable.

Enriquecimiento selectivo.- Es empleado con el propósito de incrementar las poblaciones de *Salmonella* e inhibir otros organismos presentes en la muestra.

Selección en medios sólidos.-En este paso se utilizan medios selectivos que restringen el crecimiento de otros géneros diferentes a *Salmonella* y permite el reconocimiento visual de las colonias sospechosas.

Identificación bioquímica.- Este paso permite la identificación générica de los cultivos de *Salmonella* y la eliminación de cultivos sospechosos falsos.

Serotipificación.- Esta es una técnica serológica que permite la identificación específica de un cultivo.

Procedimiento

1.-Se pesan asépticamente 25 g de la muestra en un vaso estéril de licuadora. Se adicionan 225 mL del medio de preenriquecimiento estéril (caldo lactosado) y se licua durante un minuto. Se transfiere asépticamente la mezcla homogeneizada a un recipiente estéril de boca ancha con tapón y se deja reposar durante 60 s a temperatura ambiente. Se mezcla bien y se cubre el recipiente para ser incubado por 24 ± 2 h a una temperatura de $35 \pm 2^\circ\text{C}$. Una vez transcurrido este tiempo, se transfiere

respectivamente 1 mL de la mezcla a un tubo que contenga 10 mL de caldo tetrionato y a otro con 10 mL de caldo selenito-cistina; posteriormente, se incuba nuevamente de 18 a 24 h a una temperatura de $43 \pm 1^\circ\text{C}$.

2.- Mezclar el tubo con caldo selenito cistina y estriar en agar XLD, VB, HE, SB y Agar SS. El caldo tetrionato es sometido al mismo procedimiento que el llevado acabo en el caldo selenito cistina. Las placas son incubadas durante 24 ± 2 horas a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ y son examinadas para investigar la presencia de colonias típicas de *Salmonella*.

Identificación bioquímica

Para la identificación bioquímica se seleccionan al menos dos colonias típicas de cada medio selectivo, que se encuentren bien aisladas. Se toca levemente el centro de cada colonia y se inoculan dos tubos, el primero de ellos, es inoculado con agar triple azúcar hierro (TSI) y el segundo con agar hierro lisina (LIA). La siembra se realiza por estría en superficie inclinada y por punción en el fondo. Las muestras son incubadas por 24 ± 2 h a $35 \pm 2^\circ\text{C}$. Los cultivos que muestren las reacciones características de *Salmonella* son seleccionados en los medios TSI y LIA para las pruebas bioquímicas adicionales de los medios selectivos. Para la prueba de la ureasa, se toma una "asada", previamente esterilizada, del cultivo presumiblemente positivo de cada tubo de medio TSI y se inoculan los tubos de caldo urea. Se utiliza un control de medio para comparar el vire púrpura de las reacciones positivas con el color del medio original. Las muestras se incuban a 24 ± 2 h a una temperatura de 35°C . Los cultivos positivos provenientes de los caldos TSI y LIA son puestos en los medios SIM, agar citrato de Simmons, caldo manitol y caldo RM-VP, tomando las siguientes consideraciones:

- Para el agar citrato de Simmons, se inocula el tubo por estría y se incuba durante 96 ± 2 h a $35 \pm 2^\circ\text{C}$.
- Para el medio SIM, se inocula por punción y se incuba durante 24 h a $35 \pm 2^\circ\text{C}$.
- Para el caldo RM-VP se inocula un tubo con el medio y se incuba durante 48 ± 2 h a $35 \pm 2^\circ\text{C}$, y para la prueba VP se inocula y se incuba durante 96 h para la prueba
- Para el caldo malonato se inocula un tubo conteniendo el medio y se incuba a 40 ± 2 h a $35 \pm 2^\circ\text{C}$.
- Para el caldo manitol se inocula un tubo con el medio y se incuba durante 24 ± 2 h a $35 \pm 2^\circ\text{C}$.

Identificación serológica

a) Ensayo de los antígenos somáticos de *Salmonella* (Antisuero polivalente O)

Para esta prueba se colocan con la ayuda de una asa bacteriológica, dos gotas separadas de solución salina estéril sobre un portaobjetos o en dos secciones de una placa para aglutinación. Se suspenden en cada una de las gotas, una porción del cultivo desarrollado en TSI o en las pruebas bioquímicas realizadas. Se agrega a una de ellas, una gota del antisuero polivalente somático (O) y se mezcla con el canto del asa o empleando aplicadores de madera. La agitación se realiza inclinando la lámina hacia atrás y hacia adelante durante aproximadamente 1 min. La muestra es observada teniendo una buena iluminación sobre un fondo oscuro. La prueba se considera como positiva al observar cualquier grado de aglutinación. Una prueba adicional puede llevarse a cabo con el subgrupo, empleando antisueros para los diferentes subgrupos (los grupos B, C, D y E, suelen ser los más frecuentes) (NOM-114-SSA1-1994).

Expresión de resultados

En las Tablas 5 y 6 se muestran las colonias típicas en medios selectivos y las reacciones bioquímicas y serológicas de *Salmonella spp.*, respectivamente.

Tabla 5. Colonias típicas de *Salmonella spp.* en medios selectivos (NOM-114-SSA1-1994)

MEDIO SELECTIVO	Color antes de la inoculación	Características coloniales de <i>Salmonella sPp.</i>
Agar Verde Brillante (VB)	Oscuro color marrón	Rosas o rojas pueden ser transparentes, rodeadas de medio enrojecido
Agar Sulfito Bismuto (SB)	Opaco verde pálido	Café, grises o negras, con o sin brillo metálico. Algunas veces presencia de halo café o negro
Agar Xilosa Lisina Desoxicolato (XLD)	Claro, color rojo brillante	Rosas o rojas pueden ser transparentes, con o sin centro negro
Agar para <i>Salmonella</i> y <i>Shigella</i> (SS)	Claro, color rosa	Translúcidas ocasionalmente opacas. Algunas con centro negro
Agar entérico Hektoen (HE)	Oscuro, color verde	Verdes o azul verdes con o sin centro negro

Informe de resultados

El informe de resultados se reporta considerando la presencia o ausencia de *Salmonella* en 25 g de muestra (NOM-114-SSA1-1994).

Tabla 6. Reacciones químicas y serológicas de *Salmonella* (NOM-114-SSA1-1994)

Prueba o sustrato	Positivo	Negativo	<i>Salmonella</i>
Glucosa (TSI) o KIA) Lactosa	Fondo amarillo pendiente roja	Rojo	+
Lisina descarboxilasa (LIA)	Púrpura	Amarillo	+
Ureasa	Rojo púrpura	No hay cambio de color	-
H ₂ S TSI y LIA	Negro	No negro	+
Caldo de lisina descarboxilasa	Púrpura	Amarillo	+
Caldo dulcitol rojo de fenol	Amarillo o gas	No hay cambio de color ni gas	+
Caldo manolato	Azul	No hay cambio de color	-
Prueba de indol	Superficie color violeta	Superficie color amarillo	-
Prueba del antígeno flagelar	Aglutinación	No hay aglutinación	+
Caldo sacarosa rojo de fenol	Amarillo o gas	No hay cambio de color ni gas	-
Prueba Vogues Proskawer	De rosa a rojo	No hay cambio de color	-
Prueba rojo de metilo	Rojo difuso	Amarillo difuso	+
Citrato de Simmons	Crecimiento color azul	No hay crecimiento no hay cambio de color	Variable

3.2.6 Recolección y obtención de las muestras de agua

Como un factor de riesgo en la problemática de la presente investigación, se procedió a determinar la calidad microbiológica del agua (tanto la procedente de la planta de tratamiento de aguas de San Luis Tlaxialtemalco, ubicada en la Delegación Xochimilco, como la del cárcamo principal ubicado en San Gregorio Atlapulco, Xochimilco y uno de los canales de riego aledaño a las chinampas) en apego a las Normas correspondientes para aguas residuales (Norma Oficial Mexicana NOM-003-ECOL-1997 y las Normas Mexicanas NMX-AA-003 y NMX-AA-042). La recolección de agua se realizó por la mañana, en el mes de enero, del año 2002.

3.2.7 Muestreo en la planta de tratamiento de San Luis Tlaxialtemalco

La planta de tratamiento de aguas de San Luis Tlaxialtemalco, se encuentra ubicada en el pueblo, el cual lleva su nombre, dentro de la Delegación Xochimilco. Se encuentra aproximadamente a 10 minutos de San Gregorio Atlapulco, lugar donde se encuentran las chinampas. Esta planta se construyó durante el Plan de Rescate Ecológico de Xochimilco, y aplica un tratamiento "terciario" a las aguas que recibe (DGCOH,1989). El muestreo del agua en la planta de tratamiento se realizó por la mañana, siguiendo las indicaciones citadas en la Norma Mexicana NMX-AA-003, introduciéndose en frascos color ámbar previamente lavados y esterilizados, para que una vez tomada la muestra fueran puestos en hieleras para mantener su temperatura a 4°C, para que, finalmente, se trasladaran al laboratorio del Programa de Ingeniería Química Ambiental y de Química Ambiental (PIQAYQA) de la Facultad de Química de la UNAM, donde se les realizó, inmediatamente, el análisis microbiológico en apego a la NOM-003-ECOL-1997.

3.2.8 Muestreo realizado en el cárcamo de San Gregorio Atlapulco

El cárcamo principal de San Gregorio Atlapulco, es el lugar donde llega el agua proveniente de la planta de tratamiento de San Luis Tlaxialtemalco. De este lugar se distribuye por los múltiples canales de riego en la zona de cultivo de la misma área. Los canales cercanos a este cárcamo fueron construidos en la misma época que fueron hechas las chinampas. Con el crecimiento de la población y, a su vez, la zona de cultivo, se tuvieron que adicionar más canales de riego, que provocaron el estancamiento de agua, impidiendo su fluidez y contribuyendo a la acumulación de basura y materia orgánica, favoreciéndose la proliferación de microorganismos. El muestreo se realizó el mismo día que se recolectó el agua en la planta de tratamiento y

se emplearon los parámetros establecidos en la Norma Mexicana NMX-AA-003 . Esta técnica se puede apreciar en el Anexo 1.

3.2.9 Muestreo realizado en uno de los canales de riego

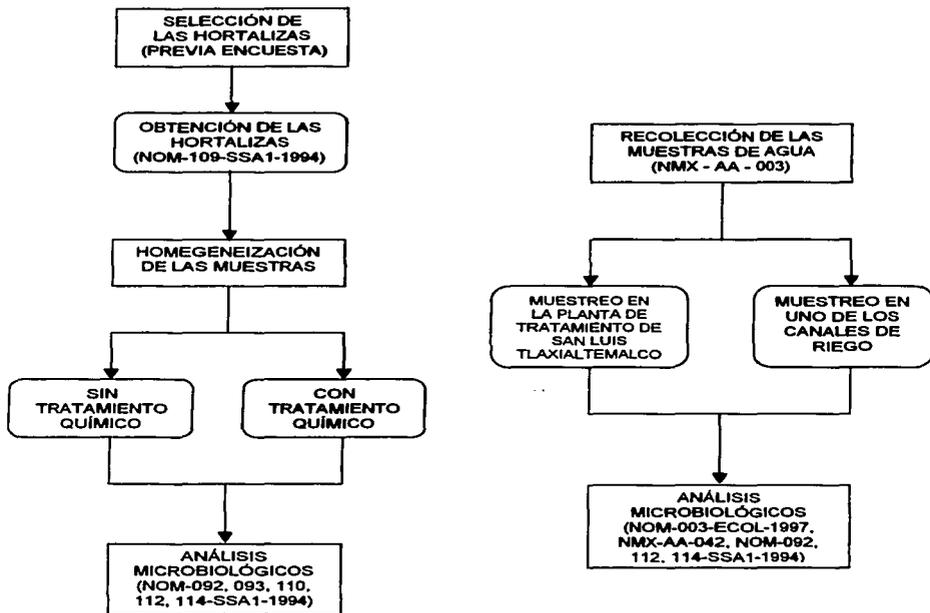
El canal de riego de donde fue adquirida la muestra, se encuentra ubicada en la zona chinampera de San Gregorio Atlapulco, en la delegación Xochimilco. Dicha agua es empleada para regar las diferentes hortalizas que son cultivadas en las chinampas, de las cuales, se obtuvieron las hortalizas que se emplearon en el desarrollo de esta investigación. Dicho muestreo se efectuó el mismo día que se recolectó el agua en los puntos antes mencionados

3.2.10 Análisis microbiológicos

Una vez obtenidas las muestras de agua, se trasladaron al PIQAyQA, en donde se procedió al análisis microbiológico según lo establecido en la norma NOM-003-ECOL-1997, donde se establece la cuantificación de microorganismos coliformes fecales (Anexo 2). Dado que a las muestras de hortalizas se les determinó adicionalmente la cantidad de microorganismos mesófilos aerobios y se propuso la determinación de un microorganismo patógeno, como lo es *Salmonella*, también se decidió realizar estas determinaciones a las dos muestras de agua, con la finalidad de poder realizar una comparación entre ambas.

A continuación, en el Diagrama 1, se mencionan los pasos a seguir en el análisis de muestras tanto de las hortalizas seleccionadas como de las muestras de agua.

1. Diagrama general de la investigación



4.0 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En las Figuras 3 y 4 se presentan los resultados de la encuesta realizada. Las hortalizas seleccionadas como de mayor consumo en fresco (sin aplicar ningún tratamiento térmico) fueron la lechuga (*Lactuca sativa*), el cilantro (*Eryngium foetidum*) y la espinaca (*Spinaca oleracea*), por parte de la población (30%, 28% y 20%, respectivamente), seguidas de las acelgas (*Beta vulgaris*) y el perejil (*Petroselinum crispum*) (12.5% y 9.5%, respectivamente). De la misma manera, en la Figura 4 se aprecia el método de limpieza y/o desinfección empleado mayoritariamente por los habitantes de dicha zona, que es el agua con el desinfectante comercial "Mycrodin" (un 30% de la población) cuyo principio activo se encuentra basado en la adición de plata coloidal a la solución, seguido del agua "de la llave" (por un 28% de la población) y, finalmente, agua con hipoclorito de sodio (un 25% de la población). Los otros métodos de desinfección empleados por la población y que abarcan el 17% restante, no fueron tomados en cuenta para esta investigación por cuestiones prácticas.

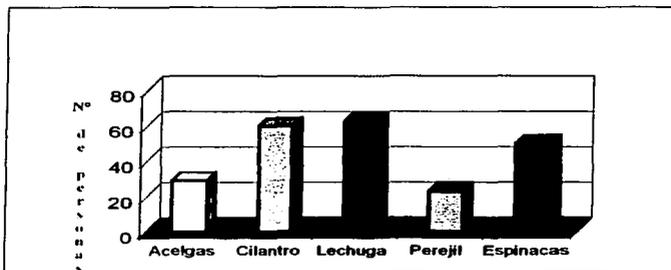


Figura 3. Hortalizas de mayor consumo en la zona de Xochimilco

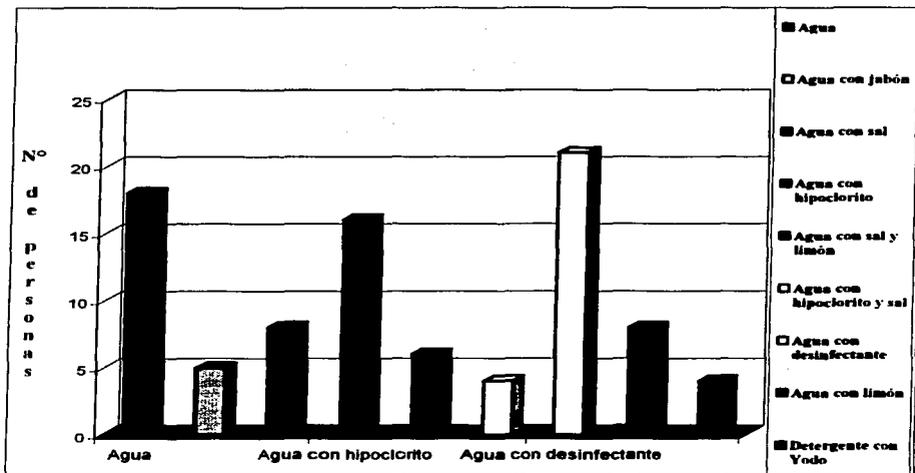


Figura 4. Método de limpieza y desinfección comúnmente utilizado por habitantes de Xochimilco

4.1 Hortalizas

4.1.1 Microorganismos mesófilos aerobios

Al determinarse la cuenta de microorganismos *mesófilos aerobios* por el método de cuenta en placa en la lechuga, el cilantro y la espinaca, sin emplear ningún tipo de tratamiento químico, se observó que los valores excedieron a los permisibles por la NOM-093 SSA1-1994, (150,000 UFC/g) encontrándose los valores de 200,000, 175,000 y 2,600,000 UFC/g para cada hortaliza respectivamente. Por otro lado, al aplicar el desinfectante en cuestión, se observó una reducción de la cuenta microbiana

en las tres muestras de la siguiente forma: Para la lechuga, la cual tuvo un inicio de 200,000 UFC/g de muestra, al aplicarse el tratamiento con plata coloidal, la reducción que se tuvo fue de 96,500 UFC/g de muestra, equivalente a un del 52% de efectividad. Para la muestra de cilantro se observó una reducción del 28.6%, ya que al inicio se cuantificaron 175,000 UFC/g de muestra, para tener tras su lavado con el desinfectante en cuestión la cantidad de 125,000 UFC/g de muestra y, por último, para el caso de la espinaca, se observó una reducción del 66.5%, de donde de las 2,600,000 UFC/g de muestra reportadas inicialmente, se obtuvo un valor final de 870,000 UFC/g de muestra, al aplicar la plata coloidal. Resumiendo los resultados anteriores, se observa que las reducciones de las cuentas microbianas para la lechuga y el cilantro, al aplicarse el tratamiento químico quedan dentro del parámetro que dicta la NOM-093 SSA1-1994. Con respecto a las espinacas, la reducción presentada fue mayor (66.5 %), pero no la suficiente como para encontrarse dentro del límite máximo permisible, ya que de las 2,600,000 UFC /g. quedaron reducidas a 870,000 UFC /g de muestra, más de cinco veces el valor de la norma.

4.1.2 Coliformes fecales

Los resultados que se obtuvieron empleando la técnica del "Número Más Probable" (NMP) para las tres hortalizas indica que, de las tres muestras sin tratamiento químico, únicamente la cuenta microbiana encontrada en la lechuga se encontró dentro de lo especificado por la NOM-093 SSA1-1994, 100 NMP/g de muestra por vegetal, es decir, el valor obtenido fue de 75 NMP /g de muestra, mientras que para cilantro y espinaca se rebasaron los límites máximos permisibles (cilantro: 150 NMP/g de muestra y espinaca 460 NMP/g de muestra). Al aplicarles el tratamiento químico a los tres

vegetales, se observó que los microorganismos presentes en la lechuga se redujeron aún más (99.4 %), quedando su valor en 0.43 NMP/g. Por otro lado, se puede apreciar que los microorganismos encontrados en el cilantro disminuyeron considerablemente (98.6%) hasta encontrarse dentro de los valores citados en la Norma (de 150 a 2.10 NMP/g). La reducción de la espinaca, fue del 47.8%, rebasó por mucho el límite máximo permisible en la Norma, con un valor de 240 NMP/g. De acuerdo con los resultados obtenidos se asimila que para la lechuga, sin lavar y sometida al tratamiento químico, los valores obtenidos se encontraron dentro del intervalo especificado por la Norma, mientras que para el caso del cilantro, únicamente la muestra lavada y desinfectada se encontró dentro del valor máximo permisible por la Norma Oficial Mexicana. Para la muestra de espinaca, tanto con y sin tratamiento químico, rebasaron considerablemente el valor máximo permisible.

4.1.3 Salmonella

Con respecto al microorganismo propuesto (*Salmonella*), se observó que en las tres muestras (con y sin tratamiento), su concentración permaneció constante en todas las muestras. Además de las pruebas bioquímicas correspondientes para caracterizar a dicho microorganismo, se realizaron pruebas serológicas, con las que se encontró a la especie *typhi*, el cual es el microorganismo causante de la fiebre tifoidea en el hombre. Por otro lado, se observó que el agente descontaminante en cuestión, cuyo principio activo se basa en la plata coloidal, sólo presentó efecto en los microorganismo indicadores, mas no en los potencialmente patógenos como *Salmonella*.

De acuerdo con los resultados obtenidos en las tres hortalizas, se aprecia que las espinacas cuentan con una alta carga microbiana, la cual rebasa considerablemente lo

citado en la NOM-093 SSA1-1994. Dicho comportamiento se debe en parte a que la espinaca es una hortaliza de hoja ancha con respecto al cilantro y a la lechuga y, debido a que el riego de estos vegetales es por aspersión, es más probable que los microorganismos sean depositados en sus hojas. Esto significa que, dependiendo del tamaño de las hojas y de lo expuestas que se encuentren en el medio circundante, será el número de microorganismos presentes en ellas; sin embargo, es de pensarse que la lechuga posea más carga microbiana que las otras hortalizas pero, como la lechuga se encuentra cubierta por sus mismas hojas, imposibilita la penetración de los microorganismos a las partes más profundas.

En la **Tabla 7** se aprecia un resumen de las cuentas microbianas obtenidas de las muestras de las tres hortalizas (con y sin tratamiento).

Tabla 7. Resultados de las determinaciones microbiológicas de las hortalizas *

Microorganismos	LECHUGA		CILANTRO		ESPINACA	
	<i>Sin Tratamiento*</i>	<i>Con Tratamiento*</i>	<i>Sin Tratamiento*</i>	<i>Con Tratamiento*</i>	<i>Sin Tratamiento*</i>	<i>Con Tratamiento*</i>
Mesófilos aerobios (UFC/g)	200,000	96,500	175,000	125,000	2,600,000	870,000
Coliformes Fecales (NMP/g)	75	0.43	150	2.10	460	240
Salmonella	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente

Microorganismos máximos permisibles según la NOM - 093 SSA1 - 1994:

Mesófilos aerobios: 150,000 UFC/g; Coliformes fecales: 100 NMP/g

*Los resultados son el promedio de tres determinaciones

4.2 Agua

El agua analizada fue tomada en tres puntos. Uno de ellos fue uno de los depósitos de la planta de tratamiento de San Luis Tlaxialtemalco, el otro punto fue del cárcamo principal ubicado en el poblado de San Gregorio Atlapulco y, finalmente, el tercero fue de uno de los canales de riego. El estudio microbiológico se realizó en apego a la Norma Oficial Mexicana NOM-003-ECOL-1997, en donde únicamente se consideran los microorganismos coliformes fecales. Cabe mencionar que se tomaron tres muestras de cada punto. En cuanto a los análisis microbiológicos se refiere, debido a que a las hortalizas se les determinó la cuenta de microorganismos mesófilos aerobios y se propuso la determinación de un microorganismo patógeno adicional (*Salmonella*) también se les realizaron las mismas determinaciones al agua procedente de los tres puntos ya mencionados.

4.2.1 Agua procedente de la planta de tratamiento

El agua analizada de la planta de tratamiento de aguas de San Luis Tlaxialtemalco, resultó encontrarse libre de microorganismos mesófilos aerobios, coliformes fecales y *Salmonella*. Estos resultados fueron similares a los encontrados por Rodríguez (1998), cuyo trabajo consistió en hacer análisis bacteriológicos de las aguas residuales de las plantas de tratamiento que vierten sus efluentes en la Delegación Xochimilco (la de San Luis Tlaxialtemalco y Cerro de la Estrella). Por lo anterior, se puede apreciar que el agua proveniente de la planta de tratamiento de San Luis Tlaxialtemalco es apta en lo que a microorganismos se refiere para el riego de hortalizas, siempre y cuando se utilice directamente de la planta al lugar de siembra y sin pasar por drenajes alternos en donde puede contaminarse.

4.2.2 Agua procedente del cárcamo principal

Al concluir con los análisis microbiológicos correspondientes (determinación de microorganismos mesófilos aerobios, coliformes fecales y *Salmonella*) se encontró que la cantidad de microorganismos presentes en el cárcamo excedían los límites máximos permisibles citados por la Norma Oficial NOM-003-ECOL-1997 (240 NMP/100 mL, para coliformes fecales), encontrándose las siguientes cantidades de microorganismos: 2,100,000 UFC/g de mesófilos aerobios, 1,100 NMP/100 mL de coliformes fecales y se encontró el microorganismo propuesto, *Salmonella*.

4.2.3 Agua procedente de uno de los canales de riego

Al realizar los análisis microbiológicos pertinentes se encontró que, de igual manera, la cantidad de microorganismos presentes en el agua del canal sobrepasaba altamente los valores recomendados en la Norma Oficial NOM-003-ECOL-1997 (240 NMP/100 mL para coliformes fecales), encontrándose las siguientes cuentas microbianas: 2,450,000 UFC/g de mesófilos aerobios, 1,100 NMP/100 mL de coliformes fecales y, además, se encontró *Salmonella* en las muestras.

Por lo observado, es posible comentar que el agua analizada de la planta de San Luis Tlaxiatalmalco, recibe un tratamiento eficiente en lo que a microorganismos se refiere, para el riego de vegetales en general. El principal problema es que al salir de la planta y durante su recorrido hacia el cárcamo principal del poblado de San Gregorio hay problemas en la infraestructura del transporte de agua y también en el mismo cárcamo, que hacen que el agua se contamine por factores externos, tales como basura, abono de animales (ovino o bovino) y empotraje de drenajes clandestinos, entre otros, provocando con esto la contaminación del agua que es transportada hacia los canales

de la zona chinampera del mismo poblado. Adicionalmente a esta problemática, la mayoría de los habitantes de esa zona no cuentan con un sistema de alcantarillado apropiado, lo que ocasiona que estos drenajes sean vertidos hacia los canales de riego, contaminando el agua previamente tratada y, a su vez, las áreas de cultivo.

En la **Tabla 8** se aprecian los promedios de las cuentas de microorganismos obtenidas de las tres muestras de agua, provenientes de la planta de tratamiento de agua de San Luis Tlaxialtemalco las tres del cárcamo y las obtenidas en uno de los canales de riego.

Tabla 8. Resultados de las determinaciones microbiológicas de agua *

Microorganismos	Agua de la planta de tratamiento de San Luis Tlaxialtemalco	Agua del cárcamo de San Gregorio Atlapulco	Agua del canal de riego
<i>Mesófilos Aerobios (UFC/g)</i>	0.0	2,100,000	2,450,000
<i>Coliformes Fecales (NMP/100mL)</i>	0.0	1100	1100
<i>Salmonella</i>	Ausente	Presente	Presente

Microorganismos máximos permisibles según la (NOM – 003 ECOL – 1997):
 Coliformes fecales: 240 NMP/100 mL

*Los resultados son el promedio de tres determinaciones

Una vez analizadas, tanto las muestras de hortalizas como las de agua, se puede decir que las hortalizas que se cultivan en la zona lacustre de Xochimilco exceden los límites establecidos por la normatividad en lo que respecta a los microorganismos indicadores. Adicionalmente, se encontraron microorganismos causantes de la fiebre tifoidea por lo que el origen principal de esta contaminación procede de aguas residuales vertidas a los canales de Xochimilco ya sea por los propios habitantes que no cuentan con medidas sanitarias adecuadas para su disposición o por instalaciones sanitarias de

industrias aledañas al área. Debido a que Xochimilco es una fuente importante de comercialización de hortalizas para los habitantes de la Ciudad de México y, en particular, de la zona sur del Distrito Federal, los resultados obtenidos en esta investigación son preocupantes. Esto plantea la necesidad de orientar a los consumidores hacia el uso de sustancias más efectivas para desinfectar los alimentos que tienen su consumo en fresco y, concomitantemente, buscar soluciones que permitan disminuir la carga de contaminantes que reciben los canales de Xochimilco. Una de estas propuestas es la de realizar campañas masivas de concientización a la población sobre esta problemática, así como brindar apoyo a las comunidades marginadas para la instalación de sistemas de tratamiento "in situ" para los habitantes de la zona "chinampera" para que, de esta manera, no viertan los residuos líquidos de sus casas-habitación a los canales.

5.0 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

A continuación se presentan las conclusiones derivadas de esta investigación y se dan algunas recomendaciones para continuarla:

- ❖ El agua de la planta de tratamiento de aguas de San Luis Tlaxialtemalco, ubicada en la delegación Xochimilco, D. F., presentó una excelente calidad microbiológica, lo cual la hace apta para el riego de vegetales; sin embargo, durante su recorrido al depósito principal (cárcamo), en el poblado de San Gregorio Atlapulco y en el mismo depósito, sufre contaminación por entronques de drenaje doméstico, abonos naturales, basura y animales muertos, entre otros.
- ❖ La calidad microbiológica tanto del agua del cárcamo, como de los canales de riego no es satisfactoria, ya que se observó alta carga microbiana y la presencia de *Salmonella typhi*.
- ❖ El riego de las "chinampas" se lleva a cabo comúnmente por aspersión con agua de los canales, por lo que los microorganismos se depositan en hortalizas de hojas anchas, incrementándose, como consecuencia, la carga microbiana, haciéndolas no aptas para el consumo humano sin una buena "desinfección" o "descontaminación".
- ❖ De acuerdo con la NOM-093-SSA1-1994, las hortalizas en estudio no cumplieron con los requisitos de calidad microbiológica, ya que presentaron cuentas microbianas superiores al límite establecido y microorganismos patógenos (*Salmonella sp.*).

- ❖ El agente desinfectante comúnmente empleado por los consumidores y "chinamperos" resultó ser el Mycrodin[®], un producto basado en plata coloidal, el cual presentó efectos ligeramente positivos en lo que se refiere a la reducción de los microorganismos indicadores. Sin embargo, no pudo eliminar al microorganismo patógeno estudiado. Con base en los resultados, se sugiere que las autoridades sanitarias verifiquen la bondad de estas sustancias no solamente para los organismos "normativos" sino para los que pueden y, de hecho, causan problemas de salud pública, como lo es la fiebre tifoidea (*Salmonella typhi*).

- ❖ Se sugiere dar continuidad a esta investigación identificando otros posibles microorganismos patógenos, así como metales y algún tipo de compuestos orgánicos dañinos para el hombre potencialmente presentes en esta área y que no sean eliminados en las plantas de tratamiento, ya que ninguna de las dos poseen tratamientos fisicoquímicos terciarios.

- ❖ Para el caso de los microorganismos, es recomendable emplear otros agentes "descontaminantes" con un mayor poder germicida, como por ejemplo el cloro, aunque debe verificarse que no cause daños a la salud por la formación de compuestos clorados.

- ❖ Se sugiere, a los propietarios de las "chinampas", el uso de métodos alternos para el abono de sus tierras y el riego, ya que, el abono de las tierras con estiércol de animales muchas veces enfermos, incrementa la presencia de microorganismos

- ❖ Por último, es conveniente incentivar en la población el uso de jabones en vez de detergentes para reducir la carga contaminante de sustancias recalcitrantes al tratamiento biológico en las aguas residuales que generan y educar a toda la población a disponer adecuadamente de sus residuos sólidos promoviendo la separación de esos materiales (papel y cartón, plástico, vidrio, metal y basura biodegradable, que puede combinarse con sus residuos agrícolas para hacer composta que sirva de nutrimento de las propias chinampas), llevando cada tipo de residuo a un depósito común de donde puede ser comercializada por ellos mismos en vez de arrojarlas a los canales o a los suelos aledaños.
- ❖ Plantear la instalación de sistemas ad hoc de tratamiento de las aguas residuales generadas en las casas habitación aledañas a los canales para evitar la introducción de un exceso de materia orgánica que los perjudique aún más y que introduzca organismos patógenos a las aguas usadas para el riego de hortalizas.

BIBLIOGRAFÍA

- Acevedo, M. 1998. Desinfectantes comerciales. Un estudio comparativo de su aplicación en hortalizas. Tesis de Licenciatura. Facultad de Química, UNAM. México, D.F. México.
- Anónimo. 2002. Tomado de las redes internacionales: <http://www.altavista.com>
- Anónimo. 2003. Tomado de las redes internacionales: <http://www.altavista.com>
- Banwart, G. 1990. Microbiología Básica de los Alimentos. Ballaterra, España. Pp. 260-277.
- Bayardo, B. 1982. Análisis bacteriológicos y bacteriología determinativa. Limusa, México, D. F. México. Pp. 43- 61.
- Becerril, M. 1993. Chinampas de San Gregorio Atlapulco. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, UNAM. México, D. F. México.
- Beerens, H. 1998. Bifidobacteria as indicators of fecal contamination in meat and meat products: Detection, determination of origin, and comparison with *Escherichia coli*. Intl. J. Food Microbiol. 40: 203-207.
- Biagi, F. 1982. Enfermedades parasitarias. La Prensa Médica Mexicana. México, D. F. México. Pp. 64-70.
- Burgeois, C. M. 1994. Microbiología Alimentaria. Editorial Acribia, Zaragoza, España. Pp. 56-65.
- Cabanillas, 2002. Tomado de las redes internacionales: http://www.amc.unam.mx/Agencia_de_Noticias/agencia.html y <http://www.amc.unam.mx>
- Castañeda, J. 2000. Tratamiento de aguas residuales en México, legislación y problemática. Tesis de Licenciatura. Facultad de Derecho, UNAM. México, D. F. México.

- Coutiño, M. 1981. Evaluación bacteriana en vegetales, irrigados con agua negra en la zona de San Gregorio, Xochimilco. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, UNAM. México, D. F. México.
- Davis, B. D.; Dulbecco, R; Eisen, H. N.; Ginsberg, H. S; Wood, W. 1980. Microbiology. Editorial Harper, Washington, D. C., Estados Unidos de América. Pp. 647-659.
- DGC0H, 1989. Planta de tratamiento de aguas residuales San Luis Tlaxialtemalco. Folleto informativo, editado por la Secretaría de Obras y Servicios del Distrito Federal. México, D. F. México.
- Durán-de-Bazúa, C. 1992. Conferencia especial. "Water use in developing countries, the situation in Mexico". Universidad BOKU. Septiembre 26. Viena, Austria.
- Fraizer, W. C.; Westhoff, D. C. 1990. Microbiología de los alimentos. Editorial Acribia, Zaragoza, España. Pp. 44-73, 190-197.
- González, D. 1987. Sistema de tratamiento a utilizar en la ampliación de la planta de tratamiento de aguas residuales (Cerro de la Estrella) en Iztapalapa, Distrito Federal. Tesis de Licenciatura. Escuela Nacional de Estudios Profesionales Acatlán, UNAM. Estado de México, México.
- Gosselin, H. 1985. Clinical toxicology of commercial products. The Williams and Wilkins Corporation, Baltimore, Estados Unidos de América. Pp. 174-176, 251.
- Guerrero, G. 2002. Sensibilidad antimicrobiana de *Salmonella* y *Shigella* a la fosfomicina y su espectro de comparación contra sulfametoxazol y cloranfenicol. Tesis de Licenciatura. Escuela de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Guadalajara. Guadalajara, Jalisco, México.

- Herrera, L. 1997. Estudio de las aguas del canal de Xochimilco, para utilizarlas en una red de riego. Tesis de Licenciatura. Escuela Nacional de Estudios Profesionales Acatlán, UNAM. Estado de México, México.
- Jiménez, M. 1994. Eficiencia de desinfectantes comerciales recomendados para la desinfección de frutas y verduras. Tesis de Licenciatura. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM. Estado de México, México.
- Krarup, K. 1997. Tomado de las redes internacionales: <http://www.puc.cl/sw-edu/hortalizas/htm>.
- Lennette, E. 1982. Microbiología clínica. Editorial Médica Panamericana, México, D.F. México. Pp. 131-143.
- Mondragón, J. 2001. Análisis microbiológico en el tratamiento de aguas residuales por lodos activados. Tesis de Licenciatura. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM. Estado de México, México.
- Muller, G. 1991. Microbiología de los Alimentos Vegetales. Editorial Acribia, Zaragoza, España. Pp. 59-61.
- Norma Mexicana NMX-AA-003, Aguas residuales-Muestreo. México, D. F. México.
- Norma Mexicana NMX-AA-042, Aguas-Determinación del número más probable de coliformes totales y fecales.- Método de tubos múltiples de "fermentación". México, D. F. México.
- Norma Oficial Mexicana NOM-001-ECOL-1996, Que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales. México, D. F. México.

- Norma Oficial Mexicana NOM-002-ECOL-1996, Que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales, a los sistemas de alcantarillado. México, D. F. México.
- Norma Oficial Mexicana NOM-003-ECOL-1997, Que establece los límites máximos permisibles en las aguas tratadas que se reúsen en servicios al público. México, D. F. México.
- Norma Oficial Mexicana NOM-092-SSA1-1994, Bienes y Servicios. Método para cuenta de bacterias aerobias en placa. México, D. F. México.
- Norma Oficial Mexicana NOM-093-SSA1-1994, Bienes y Servicios. Prácticas de higiene y sanidad en la preparación de alimentos que se ofrecen en establecimientos fijos. México, D. F. México.
- Norma Oficial Mexicana NOM-109-SSA1-1994, Bienes y Servicios. Procedimientos para la toma, manejo y transporte de muestras de alimentos para su análisis microbiológico. México, D. F. México.
- Norma Oficial Mexicana NOM-110-SSA1-1994, Bienes y Servicios. Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico. México, D. F. México.
- Norma Oficial Mexicana NOM-112-SSA1-1994, Bienes y Servicios. Determinación de bacterias coliformes. Técnica del número más probable. México, D. F. México.
- Norma Oficial Mexicana NOM-114-SSA1-1994, Bienes y Servicios. Método para la determinación de Salmonella en alimentos. México, D. F. México.
- Olvera, M. 1991. *Salmonella* : Aislamiento y tipificación a partir de lodos primarios y secundarios de la planta de tratamiento de aguas residuales de Chapultepec. Tesis de Licenciatura. Facultad de Química, UNAM. México, D. F. México.

UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE MÉXICO
BIBLIOTECA

- Pelczar, M. 1990. Microbiología. Editorial Mc Graw-Hill, México, D. F. México. Pp. 613-68.
- Real Academia Española. 1996. Diccionario de la lengua española. Tomo I (a-g). Editorial Espasa Calpe S.A., Madrid, España. P. 1078.
- Remes, A. 1995. Los sanitizantes y su reactividad en la eliminación de microorganismos específicos en suspensión o en superficies. Lácteos y Cárnicos.10 (6): 12-15.
- Rodríguez, P. 1998. Análisis bacteriológico de aguas residuales en las plantas de tratamiento de la Delegación de Xochimilco. Tesis de Licenciatura. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM. Estado de México, México.
- Rusell, A. 1982. Principles and practice of disinfection, preservation and sterilization. Blackwell Scientific Publications. Menlo Park, California, Estados Unidos de América. Pp. 3-6, 59-61, 107-128, 134-137
- Sandhya, S.; Uma, T.S.; Subbarao, K. 1998. Dip slide technique for rapid qualitative estimation of fecal coliforms in water and wastewater. Elsevier Science. PII:S0043-1354. 00271-1. Chennai, India. Pp. 989-994.
- Santaella, C. 2002. Comparación de dos métodos: NMP y A-1 para coliformes fecales para evaluar la calidad sanitaria de las paletas heladas de agua. Tesis de Licenciatura. Escuela de Química, Universidad La Salle. México, D. F. México.
- Soriano, J. M.; Rico, H.; Molto, J.C.; Mañes, J. 2000. Assessment of the microbiological quality and wash treatments of lettuce served in University restaurants. Int. J. Food Microbiol. 58 (1): 123-128.
- Taylor, S. 1990. Foddborne diseases. Ed. Dean O. Cliver. Food Research Institute, Winsconsin, Estados Unidos de América. Pp. 79-91

- Tortora, G. 1995. **Microbiology**. The Benjamín/Cummings Publishing Company Inc., Redwood City, California, Estados Unidos de América. Pp. 274-278; 668-674.
- Zinsser, H. 1990. **Microbiología de Zinsser**. Editorial Médica Panamericana, Buenos Aires, Argentina. Pp. 281-298.

ANEXOS

ANEXO 1

Muestreo de agua

Fundamento

Establecer los lineamientos generales y recomendaciones para muestrear las descargas de aguas residuales, con la finalidad de determinar sus características físicas y químicas, debiéndose observar las modalidades indicadas en las normas de métodos de prueba correspondientes.

Materiales y reactivos

- Recipientes de vidrio color ámbar para el transporte y conservación de las muestras
Los recipientes para las muestras deben ser de materiales inertes al contenido de las aguas residuales.
- Hielera
- Material común de laboratorio (Guantes, "Goggles", marcadores, cinta adhesiva, etc.)

Procedimiento

Cualquiera que sea el método de muestreo específico que se aplique a cada caso, deberá cumplir los siguientes requisitos.

- Las muestras deberán ser representativas de las condiciones que existan en el punto y hora de muestreo y tener el volumen suficiente para efectuar en él las determinaciones correspondientes.

- Las muestras deben representar lo mejor posible las características del efluente total que se descarga por el conducto que se muestrea.

Muestreo en tomas:

- Se recomienda, se instalen tomas en conductos a presión o en conductos que permitan el fácil acceso para muestrear a cielo abierto con el objeto de caracterizar debidamente las aguas residuales.
- Las tomas deberán tener un diámetro adecuado para muestrear correctamente las aguas residuales en función de los materiales que puedan contener, deben ser de la menor longitud posible, y procurar situarlas de tal manera que las muestras sean representativas de la descarga.
- Se deja fluir un volumen aproximadamente igual a 10 veces el volumen de la muestra y a continuación se llena el recipiente de muestreo.

Muestreo en descargas libres:

Cuando las aguas residuales fluyan libremente en forma de chorro, debe emplearse el siguiente procedimiento:

- El recipiente muestreador se debe enjuagar repetidas veces antes de efectuar el muestreo.
- Se introduce el recipiente muestreador en la descarga o de ser posible, se toma directamente la muestra en su recipiente.
- La muestra se transfiere del recipiente muestreador al recipiente para la muestra cuidando de que ésta siga siendo representativa.

Muestreo en canales y colectores:

- Se recomienda tomar las muestras en el centro del canal o colector de preferencia en lugares donde el flujo sea turbulento a fin de asegurar un buen mezclado.
- Si se va a evaluar contenido de grasas y aceites se deben tomar porciones, a diferentes profundidades, cuando no haya mucha turbulencia para asegurar una mayor representatividad.
- El recipiente muestreador se debe enjuagar repetidas veces con el agua por muestrear antes de efectuar el muestreo.
- El recipiente muestreador, atado con una cuerda y sostenido con la mano de preferencia enguantada, se introduce en el agua residual completamente y se extrae la muestra.
- Si la muestra se transfiere de recipiente, se debe cuidar que ésta siga siendo representativa.

Cierre de los recipientes de muestreo:

- Las tapas o cierres de los recipientes deben fijarse de tal forma que se evite el derrame de la muestra.

Preservación de las muestras:

- Sólo se permite agregar a las muestras los preservativos indicados en las Normas de Métodos de Prueba.
- Preservar la muestra durante el transporte por medio de un baño de hielo y conservar las muestras en refrigeración a una temperatura de 4°C.

- Se recomienda que el intervalo de tiempo entre la extracción de la muestra y su análisis sea el menor posible y que no exceda de tres días. (Norma Mexicana NMX-AA-003)

Nota: Es muy importante tomar las debidas precauciones de seguridad y de higiene en el muestreo en función del tipo de aguas residuales que se estén muestreando.

ANEXO 2

Determinación de microorganismos coliformes fecales por la técnica del "Número Más Probable" (NMP)

Fundamento

Establecer un método para la detección y enumeración en agua de organismos coliformes totales, organismos coliformes fecales (termotolerantes) y *Escherichia coli* presuntiva (*E. coli*), mediante el cultivo en un medio líquido en tubos múltiples y el cálculo de sus números más probables (NMP) en la muestra. Este método es aplicable para todo tipo de agua, incluyendo aquellos que contienen una cantidad apreciable de materia en suspensión. En la práctica, la detección de *E. coli* presuntiva, da usualmente una indicación satisfactoria de contaminación fecal. El método se basa en que las bacterias coliformes, degradan la lactosa incubadas a $35 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 24 a 48 horas, resultando una producción de ácidos y gas, el cual se manifiesta en las campanas de "fermentación"

Materiales y reactivos

- Incubadora
- Autoclave
- Balanza granataria con sensibilidad de 0.1 g
- Pipetas para distribuir 10 y 1 mL, con tapón de algodón.
- Tubos de ensaye de cristal refractario de 15 mm x 150 mm, con tapón
- Frascos muestreadores, de vidrio resistente o cristal refractario, con tapón
- Matraces Erlenmeyer de vidrio de 250 mL

- Campanas de "fermentación" (tubos de Durham)
- Gradillas.
- Asa de platino o "nicromel" de aproximadamente 3 mm de diámetro
- Caldo lauril sulfato triptosa
- Caldo EC

Procedimiento

Prueba presuntiva

- Mezclar perfectamente la muestra agitándola vigorosamente para lograr una distribución uniforme de los microorganismos y, dependiendo de la naturaleza del agua y el contenido bacteriano esperado, hacer todas las diluciones necesarias en esta etapa.
- Utilizar series que constan de por lo menos tres diluciones: 10.0 cm³, 1.0 cm³ y 0.1 cm³. Por cada dilución debe haber 3 ó 5 tubos.
- Para diluciones a 10 veces, poner 90 ó 9 cm³ del diluyente en matraces o tubos de dilución esterilizados
- Hacer una o más diluciones a 10 veces transfiriendo un volumen de la muestra de agua a 9 volúmenes de diluyente. Repetir estos pasos cuantas veces sea necesario.
- Tomar tres tubos con medio de lauril sulfato triptosa. Usar una pipeta estéril para transferir a cada tubo 10 mL de la dilución primaria inicial
- Tomar tres tubos de concentración sencilla del medio selectivo de enriquecimiento. Usar una pipeta estéril para transferir a cada uno de estos tubos 1 mL de la dilución primaria inicial

- Para las diluciones subsecuentes, continuar como se indica en el párrafo anterior, usando una pipeta diferente para cada dilución. Mezclar suavemente el inóculo con el medio.
- Incubar los tubos a $35 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ por 24 ± 2 horas y observar si hay formación de gas, en caso contrario prolongar la incubación hasta 48 ± 2 horas.

Prueba confirmativa

- De cada tubo que muestre formación de gas, tomar una "asada" y sembrar en un número igual de tubos con medio de confirmación (caldo E C), incubar los tubos de caldo EC a $44.5 \pm 2^{\circ}\text{C}$ observar la formación de gas en 24 ± 2 horas, si no se observa en este tiempo, prolongar la incubación por 48 ± 2 horas
- Se presume que los tubos de caldo E C que presenten gas son organismos coliformes de origen fecal.

Expresión de resultados

- Tomar la serie de tubos de la prueba confirmativa que presenten formación de gas después del periodo de incubación requerido y buscar en tablas de NMP la cantidad de microorganismos que corresponda al número de tubos positivos de cada dilución.
- Ejemplos: Cuando sólo una dilución muestra tres tubos positivos, elegir ésta y las diluciones mayores posteriores.
- Cuando más de una dilución muestra tres tubos positivos y la última da menos de tres, elegir esta última y las dos diluciones anteriores más bajas.
- Cuando en ninguna dilución hay tres tubos positivos y éstos se encuentran en más de tres diluciones, seleccionar las dos diluciones mayores positivas y la siguiente.

- Cuando los tubos positivos sólo se encuentran en la muestra sin diluir (10 mL o 1 g) y en la primera dilución (1 mL o 10^{-1} g), seleccionar las tres primeras diluciones para el cálculo del número más probable.
- En cada caso se obtiene un número de tres cifras, en la columna que indica el número de tubos positivos se busca el índice del NMP.

Informe de la prueba

Informar "Número más probable (NMP) de coliformes fecales por gramo de muestra" (Norma Mexicana NMX-AA-042) y (NOM-112-SSA1-1994).

NOTA: Para las determinaciones de microorganismos mesófilos aerobios y Salmonella se utilizó la misma metodología empleada para hortalizas. Referirse a los puntos 3.2.5.2 y 3.2.5.4 respectivamente.