

CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE HORTALIZAS ORGÁNICAS COMERCIALIZADAS EN EL TIANGUIS ORGÁNICO CHAPINGO

R. Betanzos-Ortiz¹; R. Schwentesius-Rindermann^{2*}; S. Hernández-Aquino³.

¹Departamento de Fitotecnia, Universidad Autónoma Chapingo. C.P. 56230, Chapingo, Edo. de México.

²CIESTAAM, Universidad Autónoma Chapingo. C.P. 56230, Chapingo, Edo. de México. E-mail: rschwent@prodigy.net.mx Tel.: 5951065902 (*Autor para correspondencia).

³Posgrado en Producción Animal, Departamento de Zootecnia, Universidad Autónoma Chapingo. C.P. 56230, Chapingo, Edo. de México.

RESUMEN

El consumo de hortalizas frescas se considera como parte de una dieta saludable, ya que aportan nutrientes (minerales, fibra y carbohidratos) a la dieta humana. En los últimos años el consumo de alimentos orgánicos aumentó debido a que son productos libres de contaminantes químicos, sin embargo, pueden estar contaminados con organismos biológicos. En el caso de las hortalizas se las han relacionado con Enfermedades Transmitidas por Alimentos, principalmente cuando se consumen crudas y tienen mala calidad microbiana. Por lo que el objetivo de este estudio fue evaluar la calidad microbiológica de hortalizas frescas, comercializadas en el Tianguis Orgánico Chapingo (TOCh). Para esto se determinó el número de coliformes y mesófilos aerobios totales (Unidades Formadoras de Colonias) y la incidencia de *Escherichia coli*, en lechuga, cilantro, espinaca y acelga. Se seleccionaron cuatro productores que venden sus productos en el TOCh; y se tomaron al azar dos muestras de tres tipos de hortalizas por cada productor, durante tres fechas de muestreo. Los conteos se compararon con el límite establecido por la NOM-093-SSA1-1994 para ensaladas verdes, los límites recomendados por De Pablo y Moragas (2017) para hortalizas listas para consumo y los límites de las legislaciones francesa y alemana para hortalizas frescas. Los resultados indican que el productor uno presentó mayor contaminación de mesófilos aerobios, y el productor tres de coliformes totales. La hortaliza más contaminada con mesófilos aerobios fue la espinaca y con coliformes totales el cilantro. Solo un productor tuvo

conteos dentro de los límites establecidos por las tres normas debido a que desinfectó sus hortalizas. La mayoría de las hortalizas se encontraron fuera del límite de las normas para consumo y requieren lavarse y desinfectarse adecuadamente. Los productores uno y dos tuvieron la mayor incidencia de *Escherichia coli* en sus hortalizas y se tuvo mayor incidencia presuntiva en cilantro. Se recomienda a los coordinadores del TOCh organizar cursos de capacitación e informar adecuadamente a los consumidores.

Palabras clave: Unidades Formadoras de Colonias, mesófilos aerobios totales, coliformes totales, *Escherichia coli*.

MICROBIOLOGICAL QUALITY OF ORGANIC VEGETABLES MARKETED IN THE TIANGUIS ORGANICO CHAPINGO

ABSTRACT

The consumption of fresh vegetables is considered part of a healthy diet, as they provide nutrients (minerals, fiber and carbohydrates) to the human diet. In recent years the consumption of organic food increased because they are products free of chemical contaminants, however, may be contaminated with biological organisms. In the case of vegetables, they have been related to Foodborne Diseases, mainly when they are eaten raw and have poor microbial quality. So the objective of this study was to evaluate the microbiological quality of fresh vegetables, commercialized in the Tianguis Orgánico Chapingo (TOCh). For this, the number of total aerobic coliforms and mesophiles (Colony Formation Units) and the incidence of *Escherichia coli* were determined in lettuce, cilantro, spinach and Swiss chard. Four producers that sell their products in the TOCh were selected; and two samples of three types of vegetables were taken at random for each producer, during three sampling dates. The counts were compared with the limit established by NOM-093-SSA1-1994 for green salads, the limits recommended by De Pablo and Moragas (2017) for vegetables ready for consumption and the limits of French and German legislation for fresh vegetables. The results indicate that the producer one presented greater contamination of aerobic mesophiles, and the producer three of total

coliforms. The most contaminated vegetable with aerobic mesophiles was the spinach and with total coliforms the coriander. Only one producer had counts within the limits established by the three standards because he disinfected his vegetables. The majority of the vegetables were found outside the limit of the norms for consumption and require washing and disinfecting properly. Producers one and two had the highest incidence of *Escherichia coli* in their vegetables and had a higher presumptive incidence in coriander. TOCh coordinators are recommended to organize training courses and adequately inform consumers.

Key words: Colony Forming Units, total aerobic mesophiles, total coliforms, *Escherichia coli*.

INTRODUCCION

El cuidado de la salud en los últimos años está tomando mayor importancia pues cada vez más personas se interesan por el origen y la calidad de los alimentos que consumen (Avendaño, 2007). Debido a la contaminación de los alimentos por agroquímicos muchos consumidores eligen productos orgánicos. Sin embargo, estos productos no se excluyen de presentar otro tipo de contaminación de origen físico o biológico, por ello es importante aclarar a los consumidores que el hecho de que los productos sean orgánicos no significa que sean inocuos (Arroyo, 2014).

Las hortalizas se consideran componentes esenciales de una dieta saludable, y su consumo diario podría contribuir a la prevención de enfermedades como las cardiovasculares y algunos tipos de cáncer (OMS, 2015), sin embargo, la ingesta de estos alimentos como de cualquier otro puede constituir un peligro para la salud si los procesos de producción no son los adecuados. A nivel mundial, las Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETA) son un problema para la salud humana. En promedio en el mundo, cada año enferman 600 millones de personas por ingerir alimentos contaminados, de los cuales mueren 420 mil (OMS, 2015). Entre los agentes biológicos de peligro destacan los de naturaleza microbiana. Los estudios epidemiológicos registran una diversidad de hortalizas, identificadas como vehículo de agentes patógenos (parásitos, bacterias o virus) (Fernández et al., 2012).

En el caso del Tianguis Orgánico Chapingo (TOCh) se realizaron anteriormente estudios sobre la calidad microbiológica de hortalizas (cilantro, lechuga y zanahoria) y carne de res y pavo. En la mayoría de los casos se encontró contaminación por *E. coli*, y el número total de coliformes y mesófilos aerobios totales fueron superiores a los establecidos por las Normas Oficiales Mexicanas (Hernández, 2009; Hernández, 2009 y Zambrano, 2011). El presente estudio tuvo como objetivo principal evaluar la calidad microbiológica de hortalizas comercializadas en el TOCh para conocer la cantidad de mesófilos aerobios totales, coliformes totales y la incidencia de *E. coli* en hortalizas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestreo

El estudio se realizó durante septiembre a diciembre de 2017. Se seleccionaron cuatro productores que venden sus productos en el Tianguis Orgánico Chapingo. Se colectaron asépticamente de acuerdo a la NOM-109-SSA1-1994 dos muestras de tres tipos de hortalizas (lechuga, cilantro, espinaca o acelga), de cada establecimiento, en tres fechas de muestreo, en intervalos de 15 días. Las hortalizas se trasladaron al Laboratorio de Microbiología Pecuaria del Departamento de Zootecnia de la Universidad Autónoma Chapingo. De cada hortaliza se obtuvo una submuestra de 20 g, este volumen se empleó para realizar el análisis microbiológico y determinar la cantidad de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) de mesófilos aerobios totales, coliformes totales y la incidencia de *E. coli*.

Análisis Microbiológico

La preparación de las muestras para el análisis microbiológico se realizó de acuerdo a la norma NOM-110-SSA1-1994, bienes y servicios, preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico. Los medios de cultivo utilizados fueron: Agar Métodos Estándar (MCD/LAB) para cuenta de mesófilos aerobios totales y Agar Eosina y Azul de Metileno (EMB) (Merck) para el conteo de coliformes totales e incidencia de *E. coli*.

Las submuestras (20 g) se homogeneizaron con 180 mL de solución salina estéril (0.85%), utilizando una licuadora (osterizer), durante 1.5 minutos. Posteriormente, se realizaron seis diluciones decimales seriadas. Se sembraron por vaciado en placa 200 µL de las

diluciones 1×10^{-2} a la 1×10^{-6} en cajas petri estériles de plástico (60 x 15 mm), por duplicado y se incubaron a 37 °C durante 48 horas.

Conteo de Unidades Formadoras de Colonias

Después de la incubación de 48 h se realizó el conteo en un contador de colonias (Quebec), el criterio de conteo fue de 30 a 300 colonias por caja, además se tomó como referencia las Normas Oficiales Mexicanas: NOM-092-SSA1-1994, (cuenta de bacterias aerobias en placa) y la NOM-113-SSA1-1994, (cuenta de microorganismos coliformes totales en placa).

Para el cálculo total de UFC g^{-1} se utilizó la siguiente fórmula:

$$UFC \text{ g}^{-1} = (UFC \text{ } 10^x) / g$$

Donde:

UFC g^{-1} = Unidades Formadoras de Colonias por gramo

UFC = Unidades Formadoras de Colonias

x = Numero de dilución.

g = Volumen de la muestra sembrada

El diseño experimental fue bloques completamente al azar y los datos se analizaron con el procedimiento GLM de SAS 9.0, se realizó la comparación de medias de Tukey. Los resultados se expresaron en \log_{10} UFC g^{-1} . Las UFC se compararon con el límite establecido por la NOM-093-SSA-1994 para ensaladas verdes ($5.1 \log_{10}$ UFC g^{-1} de mesófilos aerobios), para tener una norma mexicana como referencia en hortalizas; también se comparó con los límites recomendados por De Pablo y Moragas (2017) para mesófilos aerobios ($5 \log_{10}$ UFC g^{-1}) y coliformes totales ($4 \log_{10}$ UFC g^{-1}) en hortalizas para consumo; y por último se comparó con las legislaciones francesa y alemana para hortalizas frescas ($7.7 \log_{10}$ UFC g^{-1} para mesófilos aerobios). En el caso de *E. coli*, se registró la incidencia de la bacteria en cada hortaliza de cada productor.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Conteos de mesófilos aerobios totales

Los conteos de mesófilos aerobios totales (\log_{10} UFC g^{-1}) obtenidos de las hortalizas analizadas, se presentan en el CUADRO 1. La hortaliza del productor uno con mayor cantidad de mesófilos aerobios fue la espinaca. Al contrario, la hortaliza con menor cantidad fue el cilantro. Por otro lado, las hortalizas del productor dos con mayor cantidad de mesófilos aerobios fueron la lechuga y el cilantro. En cuanto al productor tres el cilantro fue el más contaminado y la acelga tuvo un conteo más bajo. Por último, la hortaliza del productor cuatro con mayor cantidad de mesófilos aerobios fue la lechuga, y la que presentó menor cantidad fue la acelga.

CUADRO 1. Bacterias mesófilas aerobias totales presentes en hortalizas de cuatro productores comercializadas en el TOCh

Mesófilos aerobios totales (\log_{10} UFC g^{-1})					
Productor	Hortaliza	Muestreo 1	Muestreo 2	Muestreo 3	Promedio
1	Lechuga	7.7 ^b	7.7 ^a	6.7 ^c	7.5
	Cilantro	7.9 ^a	6.3 ^b	6.8 ^c	7.5
	Espinaca	7.9 ^a	8.0 ^a	7.7 ^b	7.9
2	Lechuga	7.3 ^b	7.6 ^a	6.9 ^c	7.3
	Cilantro	7.5 ^b	7.5 ^a	6.1 ^c	7.3
	Acelga	7.7 ^a	5.7 ^b	5.6 ^b	7.2
3	Acelga	7.4 ^a	6.4 ^a	5.9 ^a	7.0
	Cilantro	8.3 ^a	7.8 ^b	7.5 ^c	8.0
	Espinaca	7.5 ^a	7.6 ^a	7.6 ^a	7.6
4	Lechuga	5.0 ^a	5.0 ^a	4.7 ^b	4.9
	Cilantro	4.4 ^b	3.7 ^c	4.5 ^a	4.3
	Acelga	4.4 ^a	4.3 ^b	3.6 ^c	4.2

*Literales diferentes en la misma fila implican diferencia significativa ($P < 0.05$).

** Color rojo implica que supera el límite recomendado por las legislaciones francesa y alemana.

De acuerdo a los promedios obtenidos por productor, el productor uno tuvo la mayor contaminación de mesófilos aerobios en sus hortalizas.

Todas las hortalizas analizadas de los productores uno, dos y tres, rebasan el límite recomendado por la NOM-093-SSA1-1994 para ensaladas verdes ($5.1 \log_{10}$ UFC g^{-1}) y también el límite recomendado por De Pablo y Moragas (2017) que es de $5.0 \log_{10}$ UFC g^{-1} , sin embargo, en cuanto a la legislación francesa y alemana ($7.7 \log_{10}$ UFC g^{-1}), en el

caso del productor uno, esta fue superada por el cilantro durante el primer muestreo y por la espinaca en el primer y segundo muestreos. En cuanto al productor dos, ninguna hortaliza superó el límite, pero solo la espinaca durante el primer muestreo lo alcanzó. En las hortalizas del productor tres, solo el cilantro en el primer y segundo muestreo superó el límite de estas legislaciones. Por otra parte, ninguna hortaliza del productor cuatro superó el límite establecido por la NOM-093-SSA1-1994 para ensaladas verdes; en cuanto a la recomendación de De Pablo y Moragas (2017) la lechuga en el primer y segundo muestreo llegó al límite establecido, pero no lo superó; además ninguna hortaliza se acercó al límite de la legislación francesa y alemana.

Los conteos de mesófilos aerobios totales en este estudio son altos, sin embargo, son similares a estudios realizados en hortalizas de producción convencional. Tales son los casos, de Dos Santos et al., (2010) y Paula et al., (2003) quienes encontraron conteos que van de los 7.4 a 7.5 \log_{10} UFC g^{-1} en Campinas y Niterói, Brasil, los recuentos más parecidos son los de lechuga y acelga. A su vez, Bolaños (2002) en estudios realizados en el área de Cartago, Costa Rica, obtuvo conteos de mesófilos aerobios totales de 7.0 \log_{10} UFC g^{-1} en lechuga. Por otra parte, los resultados de este estudio contrastan con los obtenidos por Rojas (2017), quien reporta en tres municipios del Estado de México (Tenango del Valle, Toluca de Lerdo y Calimaya), conteos de mesófilos aerobios totales en cultivos convencionales en promedio de hasta 4 unidades logarítmicas menos en lechuga, espinaca y cilantro, probablemente los conteos bajos de mesófilos se deban a las condiciones ambientales (baja temperatura y humedad) de la región, además es importante mencionar que se trata de cultivos convencionales, donde es común el uso de fertilizantes químicos que pueden matar a los microorganismos presentes en las hortalizas (Hernández et al, 2013), y plaguicidas que también se les atribuyen la disminución de microorganismos presentes en los vegetales (Bolaños, 2002).

Johnston et al. (2005) en Estados Unidos reportaron conteos de 4.2 a 6.2 \log_{10} UFC g^{-1} de mesófilos aerobios totales en hortalizas de hoja verde, e indican que cada paso desde la producción hasta el consumo puede afectar la carga microbiana del producto. Por lo que, otros factores de contaminación de las hortalizas del TOCh pueden ser el manejo postcosecha, los contenedores en los que se transportan y la manipulación que se les

da; así como la exposición en el punto de venta, en el caso de los cuatro productores las hortalizas están expuestas sin ningún tipo de empaque y al contacto de los consumidores.

Un problema derivado de la alta carga de bacterias mesófilas que se podría presentar en el TOCh, sería la reducción de la vida útil de las hortalizas. Tal como lo indican Paula et al. (2003), el alto contenido de estos microorganismos puede ocasionar que los alimentos no soporten un prolongado tiempo de vida útil, en esto coincide con Dos Santos et al. (2010) quienes mencionan que las bacterias mesófilas participan activamente en el deterioro de las hortalizas, debido a la presencia de tejidos y al alto grado de humedad que tienen estos productos. Por otra parte, Bolaños (2002) menciona que recuentos altos de mesófilos aerobios se traduce en una corta vida del producto, también atribuye la alta carga bacteriana a factores como la presencia de animales cerca del área de cultivo, a un mal almacenamiento, al lavado de los vegetales con agua contaminada favoreciendo la distribución de los microorganismos por todo el producto, pero relaciona especialmente la alta manipulación del producto con el aumento de la contaminación. De acuerdo con Hernández (2009) las bacterias mesófilas, que están constituidas por la microbiota total del producto pueden indicar una alteración que apenas comienza a manifestarse y no precisamente un peligro potencial para la salud del consumidor. Un punto a considerar es que los primeros tres productores no realizan ninguna desinfección a sus hortalizas, lo que, si realiza el productor cuatro, por lo que de acuerdo a Nascimento et al. (2003); citado por Dos Santos et al. (2010), la desinfección de hortalizas reduce hasta dos unidades logarítmicas el número de microorganismos, por lo que con una desinfección eficiente se puede llegar al límite establecido por la NOM-093-SSA1-1994 para ensaladas verdes y ser adecuadas para el consumo.

Conteos de coliformes totales

En el CUADRO 2 se presentan los resultados de los conteos de coliformes totales obtenidos en hortalizas de los cuatro productores. En promedio, la hortaliza del productor uno más contaminada fue la espinaca y la menos contaminada fue la lechuga. Por otra parte, el productor dos tuvo mayor contaminación en cilantro y menor contaminación en acelga. En cuanto al productor tres, el cilantro tuvo mayor contaminación y la hortaliza

menos contaminada fue la acelga. Finalmente, el productor cuatro presentó mayor contaminación en lechuga.

CUADRO 2. Unidades Formadoras de Colonias de coliformes totales presentes en hortalizas de cuatro productores comercializadas en el TOCh.

Productor	Hortaliza	Coliformes totales (\log_{10} UFC g^{-1})			Promedio
		Muestreo 1	Muestreo 2	Muestreo 3	
1	Lechuga	6.9 ^b	7.5 ^a	6.3 ^c	7.1
	Cilantro	7.7 ^a	6.1 ^b	6.5 ^b	7.2
	Espinaca	7.7 ^b	7.7 ^a	7.4 ^c	7.6
2	Lechuga	6.8 ^b	7.4 ^a	6.5 ^b	7.0
	Cilantro	7.1 ^b	7.3 ^a	5.9 ^c	7.1
	Acelga	6.9 ^a	5.6 ^b	5.4 ^b	6.5
3	Acelga	7.1 ^a	6.2 ^a	5.7 ^a	6.7
	Cilantro	8.2 ^a	7.6 ^b	7.3 ^b	7.9
	Espinaca	7.3 ^a	7.4 ^a	7.3 ^a	7.4
4	Lechuga	4.1 ^a	3.9 ^b	3.8 ^c	4.0
	Cilantro	3.7 ^a	3.3 ^c	3.5 ^b	3.5
	Acelga	3.6 ^a	3.5 ^b	3.4 ^c	3.5

*Literales diferentes en la misma fila implican diferencia significativa ($P < 0.05$).

** Color rojo implica que supera el límite recomendado por De Pablo y Moragas (2017).

Todas las hortalizas de los productores uno, dos y tres, rebasaron el límite de coliformes totales recomendado por De Pablo y Moragas (2017) que es de 4 \log_{10} UFC g^{-1} . En el caso del productor cuatro, solo la lechuga durante el primer muestreo superó el límite recomendado por De Pablo y Moragas (2017), el conteo del resto de las hortalizas se encontró debajo del límite recomendado. En general se obtuvieron conteos más altos de coliformes totales en cilantro del productor tres durante el primer muestreo y el productor tres tuvo el promedio más alto de coliformes totales en sus hortalizas.

Los resultados en este estudio se asemejan a los obtenidos por Dos Santos et al. (2010) en hortalizas para consumo crudo, donde obtuvo conteos similares de coliformes totales en lechuga y en acelga, así mismo se asemejan a los conteos obtenidos por Castro et al, (2006) en ensaladas de lechuga y espinaca listas para el consumo adquiridas en restaurantes de la ciudad de Pachuca, ellos atribuyen el alto contenido de coliformes a tres causas principales: en primer lugar a una exposición abundante de las hortalizas a la contaminación durante la cosecha, recolección, transporte, procesamiento y comercialización; también al empleo de verduras que no fueron lavadas o desinfectadas

correctamente y al crecimiento de microorganismos indicadores a partir de hortalizas contaminadas (contaminación cruzada). En este estudio las hortalizas de los primeros tres productores no están listas para el consumo, por lo que se considera que después de lavarlas y desinfectarlas adecuadamente se puede reducir el grado de contaminación y cumplir con el límite recomendado para consumo humano.

Por otra parte los conteos de coliformes totales obtenidos en este estudio contrastan con los obtenidos por Hernández y Escoto (2016) en estudios realizados en hortalizas orgánicas empacadas en el Salvador donde obtienen conteos en promedio de hasta tres unidades logarítmicas menos que en este caso en lechuga y en espinaca; y también contrastan con los resultados obtenidos por Hernández (2009) en hortalizas comercializadas en el TOCh, quien reporta conteos de coliformes totales de hasta $3.0 \log_{10}$ UFC g^{-1} en cilantro, y en lechuga conteos de hasta $2.7 \log_{10}$ UFC g^{-1} , esto probablemente se debe al manejo que se dio a los cultivos, ya que Hernández (2009) menciona que los productores en dicho estudio aplicaron composta y lombricomposta, y el agua de riego fue de pozo profundo, que de acuerdo a Dos Santos et al (2010) atribuyen la calidad microbiológica de los vegetales frescos a diversos factores como las condiciones de cultivo y los productos utilizados durante esa etapa, así como al tiempo y la temperatura en que el alimento se mantiene después de la cosecha hasta llegar al consumidor y recomienda tener los mayores cuidados en la etapa de producción (abonos y agua de riego de buena calidad), en las buenas prácticas agrícolas, buenas prácticas de higiene y especialmente en relación al manejo poscosecha. Mientras que Castro et al. (2006) mencionan que, si los abonos orgánicos están bien elaborados y el agua es de buena calidad, así como las medidas de higiene son adecuadas en todas las fases de la cadena productiva disminuyen la probabilidad de tener contaminación con coliformes y otros microorganismos.

Rivera et al. (2009), mencionan que el estiércol bovino como fertilizante en hortalizas y también el agua de riego contaminada pueden aumentar la cantidad de coliformes totales. En cuanto al estiércol el tiempo que transcurre desde la aplicación hasta el momento de la cosecha debe ser de 120 días de acuerdo a los lineamientos de la producción orgánica, pero en este estudio de acuerdo a Rodríguez (2017) y al Comité de Certificación Orgánica Participativa (CCOP) (2017), el productor uno y dos aplican compostas que no están bien

elaboradas, y el productor tres aplica estiércol semiprocesado días antes de la siembra lo que de acuerdo a Rivera et al. (2009), puede ser la fuente principal de contaminación con coliformes, por su parte el productor cuatro hace aplicaciones de lombricomposta comercial certificada como orgánica.

Otra fuente de contaminación podría ser el agua de riego, en el momento del estudio los productores no contaban con análisis microbiológicos sobre la calidad del agua. Además, debido a que el agua se transporta en canales ésta se puede contaminar, de acuerdo con Arias (2011) el agua menos contaminada es la de pozo profundo, pero puede llegar a contaminarse por daños en el pozo o por la exposición con animales. Los cuatro productores en este estudio utilizan agua de pozo lo cual es favorable por ser el agua menos contaminada, pero puede llegar a contaminarse por daños en la estructura del pozo o por estar descubierto. De acuerdo al CCOP (2017), el productor cuatro cuenta con sistema de riego por goteo, mientras que el productor tres realiza riego manual con manguera y los productores uno y dos realizan riego por gravedad, este último presenta el inconveniente de que puede dispersar los contaminantes por toda el área de cultivo, en este caso lo más recomendable es establecer un sistema de riego por goteo, como el productor cuatro, que representa un contacto mínimo del agua con el producto (Figuroa y Oyarzún, 2004). Además, si se transporta en canales descubiertos hasta el área de cultivo, puede arrastrar materia orgánica, estiércol o residuos vegetales que posteriormente contaminen el cultivo (Arias, 2011).

Otras fuentes de contaminación se pueden dar durante la cosecha y el traslado, en este estudio los tres primeros productores trasladan las hortalizas en cajas de plástico a excepción del productor cuatro que traslada sus productos en cajas herméticamente cerradas, en este sentido Johnston et al. (2005) reportan aumentos en los conteos de coliformes totales en cilantro durante el proceso de empaque y Méndez (2008) por su parte atribuye el aumento de coliformes totales en hortalizas a la exposición abundante a fuentes de contaminación durante la cosecha como el contacto con el suelo, el transporte que puede ser en contenedores contaminados y la comercialización al estar expuestas al aire libre.

Incidencia de *E. coli*

El CUADRO 3 presenta la incidencia de *E. coli* que se obtuvo en hortalizas de los cuatro productores del TOCh durante tres muestreos. De cada productor se analizaron 18 hortalizas. En el caso del productor uno se identificó *E. coli* en cinco muestras. En cuanto al productor dos, se tuvo incidencia también en cinco muestras de hortalizas. Por otra parte, el productor tres tuvo incidencia de *E. coli* en cuatro muestras. En el caso del productor cuatro no se encontró *E. coli* en ninguna de sus hortalizas. Los productores uno y dos tuvieron la mayor presencia de *E. coli* (5 hortalizas).

CUADRO 3. Incidencia de *E. coli* en hortalizas de cuatro productores del TOCh.

Incidencia de <i>E. coli</i>							
Productor	Hortaliza	Muestreo 1		Muestreo 2		Muestreo 3	
1	Lechuga	-	-	-	-	-	-
	Cilantro	-	+	-	-	+	+
	Espinaca	-	+	-	+	-	-
2	Lechuga	+	+	-	-	-	-
	Cilantro	+	-	-	+	-	-
	Acelga	-	-	+	-	-	-
3	Acelga	+	+	-	-	-	-
	Cilantro	-	+	+	-	-	-
	Espinaca	-	-	-	-	-	-
4	Lechuga	-	-	-	-	-	-
	Cilantro	-	-	-	-	-	-
	Acelga	-	-	-	-	-	-

+ Presencia -Ausencia

En cuanto al tipo de hortaliza, la que presentó mayor contaminación de *E. coli* fue el cilantro, en contraste la que tuvo menor contaminación fue la lechuga, como se muestra en el CUADRO 4. En este estudio sólo se cuantificó la incidencia de *E. coli*, pero no se realizaron pruebas bioquímicas ni genéticas para identificar al serotipo; por lo que no se tiene certeza de que causen daño a la salud.

CUADRO 4. Presencia de *E. coli* en cuatro tipos de hortalizas

Presencia de <i>E. coli</i> (%) por tipo de hortaliza	
Hortaliza	Porcentaje por contaminación total con <i>E. coli</i>
Lechuga	15.2
Cilantro	40.0
Espinaca	22.2
Acelga	22.2

Los tres primeros productores presentan incidencia de *E. coli* en sus hortalizas que, de acuerdo a Rivera et al (2009) esto se atribuye al uso de estiércol y al agua de riego contaminada; así mismo, Cabral et al (2006), atribuyen la presencia de *E. coli* al uso de estiércol, esto en base a los resultados que obtuvo en estudios realizados a hortalizas orgánicas producidas en suelo fertilizado con estiércol, donde encontró *E. coli* en espinacas fertilizadas con abono de bovino y además recomienda que el estiércol utilizado en cultivos orgánicos siempre se maneje con tratamiento previo.

En este estudio se puede atribuir como fuente importante de contaminación al uso de estiércol fresco, y de acuerdo a Rodríguez (2017) y el CCOP (2017) los dos primeros productores utilizan compostas a base de estiércol que no están bien elaboradas y el productor tres aplica estiércol semiprocesado como principal fuente de fertilización, por lo que indicaría que el estiércol es la fuente de la contaminación por *E. coli*, en este sentido la OMS (2018) atribuye los brotes de *E. coli* al consumo de frutas y verduras (col de Bruselas, espinacas, lechugas y ensaladas de col) contaminadas por contacto con heces de animales domésticos o animales salvajes en algún punto durante la cadena de producción o en el manejo poscosecha, por lo que en este estudio se puede considerar que la contaminación con *E. coli* se debe al uso de estiércol sin procesar adecuadamente. Desafortunadamente el uso de abonos orgánicos tiene algunas desventajas y por provenir del intestino de animales les hace albergar una gran cantidad de microorganismos patógenos que de acuerdo con FAO (2013) pueden ser capaces de sobrevivir hasta 70 días en el estiércol; así mismo producir infecciones y enfermedades en el ser humano. El CCOP (2017) indica de acuerdo a las visitas de campo que los productores uno y dos realizan compostas, sin embargo la elaboración no es adecuada, además Rodríguez (2017) menciona que el productor tres almacena el estiércol durante 30 días a la intemperie, como tratamiento, lo cual es insuficiente de acuerdo a los datos proporcionado por (FAO 2013), probablemente el estiércol semiprocesado aun cuente con una cantidad elevada de microorganismos, además el productor tres aplica estiércol pocos días antes de establecer los cultivos, al desconocer que este contiene una gran cantidad y variedad de microorganismos y por tratarse de hortalizas, estas están más expuestas a contaminarse con microorganismos por estar en contacto directo con el suelo (OIRSA, 2011). Es importante dar a conocer a los productores que el estiércol no

se debe aplicar directamente a los cultivos que crecen en el suelo. Si se utiliza se recomienda aplicarse como mínimo 120 días antes de la cosecha, para que se degrade oportunamente y evitar aplicarlo cuando el cultivo ya está establecido, y si es posible incrementar el tiempo (OIRSA, 2011), tomando en cuenta que hortalizas como la lechuga tardan tres meses en ser cosechadas, con esto se reduce el peligro de contaminación microbiológica, además un adecuado proceso de compostaje al estiércol puede evitar peligros, ya que a través del compostaje se eliminan agentes patógenos que no resisten las temperaturas elevadas que llega a tener la composta en su fase termófila, que es cuando la temperatura alcanza niveles mayores a 60 °C durante 5 a 8 días, lo que mata a las bacterias de origen fecal como *E. coli* y *Salmonella spp.* (FAO 2013). Otro punto que considerar es el agua, Castro et al (2015) en estudios realizados en espinaca en España mencionan que el agua es un factor que influye en la contaminación de hortalizas con *E. coli*, la cual puede sobrevivir por varios meses en agua.

En este estudio las hortalizas del productor cuatro en comparación con los otros productores, presentaron conteos menores de bacterias mesófilas aerobias y coliformes totales en cada una de las hortalizas analizadas y fue el único de los cuatro productores que tuvo recuentos dentro de los límites recomendados, así mismo fue el único productor que no tuvo incidencia de *E. coli* en sus hortalizas, lo cual indica que tiene un mejor manejo en sus productos, es importante mencionar que el productor cuatro desinfecta sus hortalizas antes de comercializarlas, esto explica la diferencia en los conteos de microorganismos en comparación con los otros productores que no realizan este proceso.

Tanto la producción como la cosecha, el almacenamiento y la distribución de hortalizas frescas debe estar regulada por la implementación de Buenas Prácticas Agrícolas, para reducir al máximo los problemas de contaminación por microorganismos de los productos y los problemas de salud de los consumidores.

CONCLUSIONES

La calidad microbiológica de la mayoría de las hortalizas es aceptable de acuerdo a los límites establecidos por las legislaciones francesa y alemana, pero inaceptable para consumo humano ya que requieren un adecuado proceso de lavado y desinfectado para llegar a los límites establecidos para consumo.

En México se cuenta con la NOM-093-SSA1-1994 que establece límites de mesófilos aerobios en ensaladas verdes, sin embargo, se requiere otra norma que especifique la cantidad de mesófilos aerobios y coliformes totales en hortalizas frescas.

El uso de insumos de mala calidad microbiológica, como abonos o agua contaminada, favorece el aumento de la carga microbiana y la incidencia de *E. coli*.

El lavado y desinfectado, realizado por uno de los productores, demostró ser un método efectivo para reducir la carga microbiana de las hortalizas frescas, sin embargo, es preferible que el consumidor realice esta actividad antes de consumirlas.

Las hortalizas de los productores uno, dos y tres pueden representar un peligro para la salud del consumidor siempre y cuando no se tomen las medidas higiénicas adecuadas previo al consumo.

AGRADECIMIENTOS

Al Centro de Investigaciones Interdisciplinarias para el Desarrollo Rural Integral (CIIDRI) por el financiamiento en la realización de este estudio y a la Coordinación de Tianguis Orgánico Chapingo por permitir la realización de este trabajo.

LITERATURA CITADA

Arias, R. E. 2011. Enterobacteriaceae, *Escherichia coli* y *Salmonella spp.*, como parámetros en la verificación de las prácticas sanitarias agrícolas durante el manejo poscosecha de hortalizas en empresas exportadoras. Tesis profesional. Universidad Autónoma de Querétaro. México. 128 p.

Arroyo, C. A.; B. Avendaño R.; R. Schwentesius R. 2014. Adopción de estándares de inocuidad alimentaria en la producción de frutas y hortalizas orgánicas de México: un enfoque de redes. Tesis profesional. Universidad Autónoma de Baja California. México. 169 p.

Avendaño, R. B.; R. Schwentesius R.; S. Lugo M. 2007. La inocuidad alimentaria en la exportación de hortalizas mexicanas a Estados Unidos. Comercio Exterior. 57(1): 6-18. México.

Bolaños, A. S.; Barrantes J. K. 2002. Recuento microbiológico y presencia de enteropatógenos en vegetales cultivados y comercializados en el Área Metropolitana. Tesis profesional. Universidad de Costa Rica. Costa Rica 51 p.

Cabral, M. D.; C. Marques M.; I. Díaz C.; N. Fontoura S.; M. Dantas P.; A. Bisol S. 2006. Microbiological quality of organic vegetables produced in soil treated with different types of manure and mineral fertilizer. *Brazilian Journal of Microbiology*. (37):538-544.

Castro R. J.; M. Rojas O.; Y. Noguera U.; E. Santos L.; A. Zúñiga E.; C. Gómez A. 2006. Calidad sanitaria de ensaladas de verduras crudas, listas para su consumo. *Industria Alimentaria*. 9-21.

Castro I. I.; M. Gil; J. Tudela; R. Ivanek; A. Allende. 2015. Assessment of microbial risk factors and impact of meteorological conditions during production of baby spinach in the Southeast of Spain. *Food Microbiol. Aug.* (49): 173-81. Recuperado en mayo de 2018, disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25846928>

De Pablo, B. M.; M. Moragas E. 2017. Recopilación normas microbiológicas y parámetros físico-químicos. Bilbao. España. 54 p.

Dos Santos, T. B; N. Da Silva; V. Junqueira.; J. Peeira. 2010. Microorganismos indicadores em frutas e hortaliças mínimamente processadas. *Brazilian Journal of Food Technology*.13 (2): 141-146, Campinas, Brasil.

FAO. 2013. Agricultura Orgánica, Ambiente y Seguridad Alimentaria. Recuperado en abril de 2018, disponible en: <http://www.fao.org/docrep/005/y4137s/y4137s03.htm>

Fernández, E. E.; Peña C. J. 2012. Riesgos microbianos en la producción de alimentos frescos en áreas urbanas y periurbanas de América Latina. Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional. Cinvestav. México. 336 p.

Figuroa, A.; Oyarzun M. 2004. Buenas Prácticas Agrícolas: Potencial de diferenciación en países de América Latina. Proyecto Regional para la Formación en Economía y Políticas Agrarias y de Desarrollo Rural en América Latina (FODEPAL). 30 p.

Hernández, A. S. 2009. Sanidad microbiológica de dos tipos de carne orgánica (pavo y res), Tianguis Orgánico Chapingo. Tesis profesional. Universidad Autónoma Chapingo. México. 111 p.

Hernández, P. M. 2009. Bacterias coliformes y *Escherichia coli* O157 en hortalizas frescas comercializadas en el Tianguis Orgánico Chapingo. Tesis profesional. Universidad Autónoma Chapingo. México. 84 p.

Hernández, F. L.; J. A. Muníve H.; E. Sandoval C.; D. Martínez C.; M. C. Villegas H. 2013. Efecto de las prácticas agrícolas sobre las poblaciones bacterianas del suelo en sistemas de cultivo en Chihuahua, México. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas. 4 (3): 353-365. México.

Hernández, M. S.; Escoto U. W. 2016. Evaluación microbiológica de hortalizas orgánicas empacadas por la planta procesadora Acopo de R.L. Los Planes, La Palma, Chalatenango. Tesis profesional. Universidad de el Salvador. El Salvador. 171 p.

Johnston, L. M.; L.A. Jaykus; D. Moll; M.C. Martinez; J. Anciso; B. Mora; C. L. Moe. 2005. A field study of the microbiological quality of fresh produce of domestic and Mexican origin. J Food Prot. National Center for Biotechnology Information. 68(9):1840-1847. Estados Unidos de América.

Recuperado el 13 de mayo de 2018, disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17045687>

Legnani, P. P.; Leoni E. 2004. Effect of processing and storage conditions on the microbiological quality of minimally processed vegetables. International Journal of Food Science and Technology, Oxford, 39 (10): 1061-1068.

Méndez, R. E. 2008. Correlación entre la presencia de microorganismos indicadores de higiene y grupos patógenos de *E. coli* determinados por PCR en ensaladas de verduras crudas. Tesis profesional. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. México. 83 p.

Nascimento, M. S.; Silva N.; Catanozi, M. P. L. M.; Silva, K. C. 2003^a. Avaliação microbiológica de frutas e hortaliças frescas, comercializadas no município de Campinas, São Paulo. Revista Higiene Alimentar. 17 (114-115) 73-76. Brasil.

NOM-092-SSA1-1994. Norma oficial mexicana, bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa. Recuperado en septiembre de 2017, disponible en: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/092ssa14.html>

NOM-093-SSA1-1994. Norma oficial mexicana, bienes y servicios. Prácticas de higiene y sanidad en la preparación de alimentos que se ofrecen en establecimientos fijos. Recuperado en septiembre de 2017, disponible en: <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/7502/nom-093-ssa1-1994.pdf>

NOM-109-SSA1-1994. Proyecto de Norma Oficial Mexicana, bienes y servicios. Procedimientos para la toma, manejo y transporte de muestras de alimentos para su análisis microbiológico. Recuperado en septiembre de 2017, disponible en: <http://legismex.mty.itesm.mx/normas/ssa1/ssa1109p.pdf>

NOM-110-SSA1-1994. Norma oficial mexicana, bienes y servicios, preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico. Recuperado en septiembre de 2017, disponible en: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/110ssa14.html>

NOM-113-SSA1-1994, Norma oficial mexicana, bienes y servicios. Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa. Recuperado en septiembre de 2017, disponible en: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/113ssa14.html>

OMS. 2015. Informe de la OMS señala que los niños menores de 5 años representan casi un tercio de las muertes por enfermedades de transmisión alimentaria. Recuperado en junio de 2018, disponible en: <http://www.who.int/es/news-room/detail/03-12-2015-who-s-first-ever-global-estimates-of-foodborne-diseases-find-children-under-5-account-for-almost-one-third-of-deaths>

OMS. 2018. *E. coli*. Nota descriptiva. Recuperado en enero de 2018, disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs125/es/>

Paula, P.; P. Simone S.; J. Olivera T.; C. Antunes U. y S. Farage. 2003. Contaminação microbiológica e parasitológica em alfaces (*Lactuca sativa*) de restaurantes self-service, de Niterói, RJ. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 36 (4): 535-537. Brasil.

Rivera, J. M.; C. Rodríguez U.; J. López O. 2009. Contaminación fecal en hortalizas que se expenden en mercados de la ciudad de Cajamarca, Perú. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica*. 26 (1): 45-48. Lima, Perú.

Rodríguez, S. R. 2017. La certificación participativa del Tianguis Orgánico Chapingo, Texcoco; Edo. de México: análisis y propuestas para su mejoramiento. Tesis profesional. Universidad Autónoma Chapingo. México. 169 p.

Rojas, P. I. 2017. Calidad microbiológica en tres hortalizas producidas en el Estado de México. Tesis profesional. Universidad Autónoma del Estado de México. Toluca, México.

Zambrano, Z. S. 2011. Calidad microbiológica de carne orgánica de pavo y res empacada al vacío, comercializada en el Tianguis Orgánico Chapingo. Tesis profesional. Universidad Autónoma Chapingo. México. 80 p.