

**UNIVERSIDAD NACIONAL  
TORIBIO RODRÍGUEZ DE MENDOZA DE AMAZONAS**

**FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS AGRARIAS  
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL**



Calidad microbiológica de vegetales que se expenden en los mercados de  
Chachapoyas, Perú, 2022

**Autor:** Dra. Flor Teresa García Huamán

**CHACHAPOYAS - 2022**

## **DEDICATORIA**

*A TODOS LOS COMPROMETIDOS CON LA  
INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA Y LA CONSERVACIÓN DE  
LOS ALIMENTOS*

## **AGRADECIMIENTO**

A las autoridades de la Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas por permitirnos el uso del laboratorio de Tecnología Agroindustrial.

A mis amigos, colegas y compañeros de trabajo, de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas, por las acertadas sugerencias en el desarrollo de la presente investigación.

## ÍNDICE

|  |     |
|--|-----|
| DEDICATORIA  | ii  |
| AGRADECIMIENTO   | iii |
| ÍNDICE   | iv  |
| RESUMEN  | v   |
| ABSTRACT   | vi  |
| I. INTRODUCCIÓN  | 1   |
| II. MATERIAL Y MÉTODO  | 6   |
| 2.1 Diseño de la investigación.  | 6   |
| 2.2 Muestra biológica.   | 6   |
| 2.3 Métodos técnicas e instrumentos de recolección de datos y procedimiento. | 6   |
| 2.3.1 Numero de tratamientos y unidades experimentales                       | 6   |
| 2.3.2 Determinación y recuento de coliformes totales                         | 6   |
| 2.3.3 Determinación y recuento de coliformes fecales                         | 7   |
| 2.3.4 Recuento de bacterias aerobias mesófilas viables                       | 7   |
| 2.3.5 Recuento e identificación de <i>Escherichia coli</i> .                 | 7   |
| 2.3.6. Aislamiento e identificación de <i>Salmonela sp.</i>                  | 9   |
| III. RESULTADOS  | 10  |
| IV. DISCUSIÓN  | 12  |
| V. CONCLUSIONES  | 15  |
| VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS   | 16  |
| <br>   |     |
| <b>ANEXO:</b> Fotos  | 18  |

## Calidad microbiológica de vegetales que se expenden en los mercados de Chachapoyas, Perú, 2022

### RESUMEN

El presente trabajo tuvo como objetivo determinar la calidad microbiológica de vegetales frescos que se expenden en mercados de Ciudad de Chachapoyas, región Amazonas, Perú, a través de la determinación de indicadores entéricos como coliformes totales, coliformes fecales *Escherichia coli* y *Salmonella* sp. Los vegetales seleccionados fueron: Lechuga, culantro, perejil, espinaca, mix de ensalada. Las muestras fueron adquiridas del Mercado Modelo y Mercado Yance, en la Ciudad de Chachapoyas, Región Amazonas, Perú. Se encontró que el recuento de coliformes totales de las muestras de vegetales en promedio es mayor a 1,100 NMP/g., el recuento de coliformes fecales en promedio es igual o mayor a 1,100 NMP/g., el recuento de bacterias aerobias mesófilas viables en la lechuga fue  $26.5 \times 10^2$  ufc/g, en el culantro es  $23.5 \times 10^2$  ufc/g, en el perejil es  $24.5 \times 10^2$  ufc/g, en la espinaca  $16.5 \times 10^2$  ufc/g, el mix de ensalada  $23.5 \times 10^2$  ufc/g., el recuento de *Escherichia coli* en la lechuga es 40 NMP/g, en el culantro es 15 NMP/g, en el perejil es 23 NMP/g, en la espinaca 9 NMP/g, el mix de ensalada 90 NMP/g. No se detectó *Salmonella* sp. en las muestras estudiadas. Se concluye que la calidad microbiológica de los vegetales estudiados (lechuga, culantro, perejil, espinaca, mix de ensaladas), no es aceptable para coliformes totales, coliformes fecales, mientras que, para aerobios mesófilos viables, *Escherichia coli* y para *Salmonella* sp. es aceptable

Palabras clave: Calidad microbiológica, vegetales, coliformes

**Microbiological quality of vegetables that are sold in the markets of Chachapoyas,  
Peru, 2022**

**ABSTRACT**

The objective of this work was to determine the microbiological quality of fresh vegetables that are sold in markets in the City of Chachapoyas, Amazonas region, Peru, through the determination of enteric indicators such as total coliforms, Escherichia coli fecal coliforms and Salmonella sp. The selected vegetables were: Lettuce, coriander, parsley, spinach, salad mix. The samples were acquired from the Mercado Modelo and Mercado Yance, in the City of Chachapoyas, Amazonas Region, Peru. It was found that the total coliform count of the vegetable samples on average is greater than 1,100 NMP/g., the fecal coliform count on average is equal to or greater than 1,100 NMP/g., the count of viable mesophilic aerobic bacteria in the lettuce was  $26.5 \times 10^2$  ufc/g, in the coriander it is  $23.5 \times 10^2$  ufc/g, in the parsley it is  $24.5 \times 10^2$  ufc/g, in the spinach  $16.5 \times 10^2$  ufc/g, the salad mix  $23.5 \times 10^2$  ufc/g., the Escherichia coli count in lettuce is 40 NMP/g, in cilantro it is 15 NMP/g, in parsley it is 23 NMP/g, in spinach 9 NMP/g, in salad mix 90 NMP/g. Salmonella sp. was not detected. in the samples studied. It is concluded that the microbiological quality of the vegetables studied (lettuce, coriander, parsley, spinach, salad mix) is not acceptable for total coliforms, fecal coliforms, while for viable mesophilic aerobic, Escherichia coli and Salmonella sp. It is acceptable.

Keywords: Microbiological quality, vegetables, coliforms

## I.-INTRODUCCIÓN

Actualmente se ha detectado un mayor número de enfermedades transmitidas por frutas y hortalizas. Comprender la complejidad del problema de la contaminación microbiana de los vegetales y tener conciencia de su importancia es el primer paso para lograr una alta calidad en los productos hortícolas. El reciente desarrollo de técnicas bioquímicas, inmunológicas y genéticas más sensibles y eficaces para el aislamiento e identificación de microorganismos, ha jugado un papel importante en la identificación y cuantificación de microorganismos responsables de contaminación y toxiinfecciones alimentarias (TIA), (García y Grande, 2019).

El consumo de vegetales crudos, ensaladas de repollo y champiñones salados ha sido asociado a numerosos casos de brotes de enfermedades por microorganismos patógenos como *Listeria monocytogenes*, *Clostridium botulinum*, y *Vibrio cholerae* (Doyle y col, 1997). *Escherichia coli* también ha sido relacionada a brotes de infecciones por el consumo de vegetales y ensaladas (Adams y Moss, 1997).

Castro, et al. (2006), evaluaron ensaladas compuestas por diferentes verduras crudas (espinaca, lechugas, mix de verduras), compradas en restaurantes de la ciudad de Pachuca, Hidalgo, México, se realizó la cuantificación de organismos coliformes, coliformes fecales y *Escherichia coli*. Un total de 170 ensaladas de verduras crudas fueron analizadas. En general, la mayoría de las muestras presentaron niveles de microorganismos muy por arriba de los límites permitidos por la legislación sanitaria de México (NOM-093-SSA1-1994). Del restaurante HA A1, se analizaron 40 muestras de dos tipos de ensaladas crudas (20 de espinacas y 20 mixtas). Todas las ensaladas mostraron niveles elevados de organismos coliformes (>103UFC/g), y sólo 4 de las 40 ensaladas estuvieron libres de coliformes fecales. *E. coli* se aisló en el 75 % de las ensaladas.

En el período 1995-1999, Salmonella fue el segundo agente causal más importante (35,3%) de brotes de enfermedad transmitida por alimentos (ETA) en América Latina y el Caribe. Durante el período 1993-2002 ocurrieron en Argentina 60 brotes de salmonelosis que produjeron 889 enfermos y 4 muertos. El 6,7 % de los brotes fue causado por Salmonella serovariedad Enteritidis, el 1,7% por *S. arizonae* y en el 90% de

los casos no se pudo identificar la serovariedad correspondiente (Ministerio de Salud, 2011).

El género *Salmonella* pertenece a la familia Enterobacteriaceae. Son bacilos gram negativos, de 0,7-1,5 x 2-5  $\mu\text{m}$ , anaerobios facultativos, no formadores de esporas, generalmente móviles por flagelos peritricos (excepto *S. gallinarum*). Fermentan glucosa, maltosa y manitol, pero no fermentan lactosa ni sacarosa. Son generalmente catalasa positiva, oxidasa negativa y reducen nitratos a nitritos. Son viables en diferentes condiciones ambientales, sobreviven a la refrigeración y congelación y mueren por calentamiento (mayor a los 70 °C). (Ministerio de Salud, 2011)

Ginestre, et. al. (2009), analizaron la calidad microbiológica de 300 vegetales (100 lechugas, 100 cilantros y 100 perejiles) en dos mercados de la ciudad de Maracaibo, Venezuela. Se determinaron coliformes totales (CT), coliformes fecales (CF) y *Escherichia coli* por la técnica del número más probable. Los CT oscilaron entre  $10^3$ - $10^9$  NMP/gr en más del 80% de las lechugas adquiridas en ambos mercados; mientras que los CF se ubicaron entre  $10^1$ - $10^7$  NMP/gr en 90% de las muestras del mercado 2. Para 96% de los cilantros los CT estuvieron entre  $10^4$ - $10^9$  NMP/gr. Los CF se ubicaron entre  $10^4$ - $10^9$  NMP/gr en 88% y 84% de las muestras del mercado 1 y 2. Los CT oscilaron entre  $10^4$ - $10^9$  NMP/gr en 90% o más de los perejiles. Se obtuvieron valores de CF entre  $10^3$ - $10^9$  NMP/gr en 82% y 60% de los especímenes recolectados en el mercado 1 y 2, respectivamente. 52% de las muestras de perejil adquiridas en el mercado 1 presentaron recuentos elevados para *E. coli* ( $10^4$ - $10^7$ NMP/gr). Según los criterios microbiológicos para *E. coli*, 84,7% de los vegetales fueron satisfactorios y 15,3% insatisfactorios. Debido a la variabilidad de los niveles de coliformes y *E. coli* en los vegetales frescos.

Rassi y Rollan (2018), evaluaron de la calidad microbiológica, de ensaladas de verduras de hoja cruda, procesadas y envasadas, de venta directa en diferentes comercios del barrio Nueva Córdoba, de la Ciudad de Córdoba, Argentina, analizando los parámetros higiénicos y de calidad a través de la determinación de cepas *Escherichia coli* como marcador microbiológico. se analizaron un total de 40 muestras de ensaladas de achicoria, cortadas y envasadas, tomadas al azar en diferentes verdulerías, mercados y supermercados de la zona elegida. El análisis de cada una de las muestras de ensalada, se realizó mediante las técnicas descriptas en las normas ISO /TS 16649-3:2005. Los



resultados obtenidos, evidenciaron que un 65% de las muestras analizadas, estaban contaminadas con cepas de la bacteria *Escherichia coli*, las concentraciones halladas variaron desde 0,74 NMP/g a >110 NMP/g las cuales se encuentran por encima de los límites establecidos por el Código Alimentario Argentino (CAA) para esta clase de productos.

García y Grande (2019), en la Universidad de Jaén, España, realizaron análisis microbiológico de 10 alimentos vegetales (fresa, perejil, espinacas, col rizada, brotes tiernos procedentes de una bolsa de ensalada, pimiento verde, calabacín, puerro, berenjena y zanahoria), para determinar su carga microbiana y realizar un análisis morfológico a nivel macroscópico de las colonias. Las muestras que presentaron mayor variabilidad microbiológica, fueron el calabacín y el puerro, ya que se obtuvieron unidades formadoras de colonia (UFC) en todos los medios utilizados en el estudio. El alimento que presentó una menor variabilidad microbiológica, fue el pimiento verde. La hortaliza de la cual se obtuvo mayor carga microbiana fue la zanahoria. El pimiento, la fresa y la col rizada, fueron las muestras con menos carga microbiana.

Ávila et. al (2008) realizaron un diagnóstico de la calidad microbiológica de frutas y hortalizas en Chihuahua, México. Se analizaron Muestras de chile jalapeño, chilaca y serrano, melón, tomate saladet, tomate grape, durazno y manzana Golden y Starkimson y de agua de pozo, de canal, de riego, de consumo y de lavado en empaque, para determinar *Salmonella* spp., *Escherichia coli*, coliformes totales y fecales, hongos y levaduras con la metodología marcada en la normatividad mexicana (NOM-111-SSA1-1994). El muestreo se realizó en todo el estado de Chihuahua durante el ciclo de producción 2004. Los resultados sugieren acciones correctivas para minimizar los riesgos de contaminación microbiológica durante el proceso de producción. Una de estas acciones es la capacitación de los productores y su personal para que adquieran conocimientos sobre Buenas Prácticas Agrícolas.

García, et. al. (2002), analizaron 2 vegetales frescos más consumidos y cultivados en México, lechuga (*Lactuca sativa*) y cilantro mexicano (*Eryngium foetidum*). Se realizó un análisis microbiológico para *Salmonella typhi*, microorganismos mesófilicos y coliformes fecales de acuerdo a la norma NOM-093SSA-1 1994 (México). Los resultados obtenidos

demonstraron que las muestras tratadas con un desinfectante de base de plata coloidal tenían una eliminación parcial de microorganismos patogénicos encontrados en ambos vegetales. Microorganismos mesofílicos de 200,000 a 96,500 UFC/g y de 175,000 a 125,000 UFC/g y coliformes fecales de 75 a 0.43 NMP/g y de 150 a 2.10 NMP/g respectivamente. Todas las muestras fueron positivas para *Salmonella typhi*.

Rincón et al. (2010), analizaron la calidad microbiológica en vegetales tipo hoja y la incidencia de bacterias enteropatógenas. Se analizaron 150 muestras (50 lechugas, 50 cilantros y 50 perejiles) recolectadas en dos supermercados de Maracaibo. Se determinó Coliformes Totales (CT) y *Escherichia coli* (EC) según la norma COVENIN N°3276:1997; para la determinación de bacterias enteropatógenas (*Salmonella*, *Aeromonas* y *Vibrio*) se utilizaron medios de enriquecimiento y selectivos. La identificación de especies se realizó empleando pruebas bioquímicas. En 81,33% (122/150) de las muestras se obtuvieron contajes de CT entre  $10^3$ - $10^5$  UFC/g. La recuperación de EC fue de 10,00%. La frecuencia de enteropatógenos fue de 28%, siendo *Aeromonas* el género más aislado con un 95,91%. La mayor recuperación de enteropatógenos se obtuvo en las muestras de cilantro (40,00%), seguida de perejil (34,00%) y lechuga (20,00%); *A. caviae* fue la especie más recuperada (59,18%) seguida de *A. hydrophila* (30,62%). *Salmonella* spp se recuperó en 2 (4,08%) muestras.

El consumo de vegetales es ampliamente recomendado por su alto contenido de vitaminas minerales y fibra. Sin embargo, el riego con aguas negras o inadecuadamente tratadas acarrea contaminación microbiana que se convierte en un riesgo potencial para los humanos, (García, et. al. 2002).

En países subdesarrollados las Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETA) causadas por contaminación de frutas y vegetales son frecuentes y en algunas áreas pueden causar una gran proporción de enfermedad, pero debido a la falta de registros sanitarios, la mayoría de estas epidemias no se detectan y la literatura científica reporta muy pocos brotes (Ginestre, et. al., 2009).

En vista de que la microflora de los vegetales frescos varía ampliamente y refleja las condiciones de cultivo, así como, las condiciones sanitarias durante el procesamiento y

comercialización; es necesaria la evaluación de la calidad microbiológica de estos productos, a fin de asegurar la ausencia de microorganismos patógenos y la inocuidad de los mismos. Para esto se hace uso de microorganismos indicadores los cuales son fácilmente enumerados y su presencia en los alimentos indica exposición a condiciones que pueden introducir microorganismos patógenos y/o permitir su crecimiento. Debido a la importancia de los vegetales frescos como fuente de ETA y la utilidad de las bacterias entéricas indicadoras para evaluar la seguridad sanitaria de los alimentos, (Ginestre, et. al.,2009).

El presente trabajo tuvo como objetivo determinar la calidad microbiológica de vegetales frescos que se expenden en mercados de Ciudad de Chachapoyas, región Amazonas, Perú, a través de la determinación de indicadores entéricos como coliformes totales, coliformes fecales *Escherichia coli* y *Salmonella* sp.

## II. MATERIAL Y MÉTODO

### 2.1. Diseño de investigación

Se aplicó el diseño no experimental transaccional de una sola casilla.



### 2.2. Muestra biológica:

Los vegetales seleccionados fueron: Lechuga, culantro, perejil, espinaca, mix de ensalada. Se eligió los puntos de muestreo por mercado teniendo como característica de elección el lugar de mayor preferencia por los consumidores.

Las muestras fueron adquiridas del Mercado modelo y Mercado Yance, en la Ciudad de Chachapoyas, Región Amazonas, Perú.

Se recolectaron en cada mes cinco muestras. 15 muestras, durante 3 meses de cada mercado, teniendo un total de 30 muestras. Las muestras se colocaron en refrigeración a 4°C hasta su procesamiento en los laboratorios de la Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas.

### 2.3. Métodos técnicas e instrumentos de recolección de datos y procedimiento.

#### 2.3.1. Número de tratamientos y unidades experimentales

Se realizarán cuatro tratamientos con 30 muestras de los siguientes vegetales: Lechuga, culantro, perejil, espinaca, mix de ensalada.

Tratamiento 1: Determinación y recuento de coliformes totales.

Tratamiento 2: Determinación y recuento de coliformes Fecales.

Tratamiento 3: Recuento e identificación de *Escherichia coli*.

Tratamiento 4: Aislamiento e identificación de *Salmonella sp.*

#### 2.3.2 Determinación y recuento de coliformes totales:

Se realizó de acuerdo a la Técnica del Número más probable. Para ello se hizo la preparación de las diluciones ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  y  $10^{-3}$ ) de los vegetales. Se Pipeteó 1 ml. de cada una de las diluciones del homogenizado del alimento en tubos de caldo lactosa 2% bilis verde brillante, utilizando tres tubos para cada dilución. Se incubaron los tubos a 35-37°C durante 24 y 48 horas. Pasadas las 24 primeras horas, se anotaron

los tubos que mostraron producción de gas. Se eligió la dilución más alta en la que hubo formación de gas de los tres tubos y las dos diluciones superiores más próximas. Se buscó en la Tabla del NMP y anotó el NMP que correspondió al número de tubos positivos de cada dilución. (ICMSF, 2000).

### **2.3.3 Determinación y recuento de coliformes Fecales:**

De los tubos positivos para coliformes totales, se sembraron en tubos de caldo lactosa 2% bilis verde brillante, utilizando tres tubos para cada dilución. Se incubaron los tubos a 44 °C durante 24 y 48 horas. Pasadas las 24 primeras horas, se anotaron los tubos que mostraron producción de gas. Se eligió la dilución más alta en la que fue positivo para la formación de gas en los tres tubos y las dos diluciones superiores más próximas. Se buscó en la Tabla del NMP y anotó el NMP que correspondió al número de tubos positivos de cada dilución. (ICMSF, 2000).

### **2.3.4 Recuento de Bacterias Aerobias Mesófilas Viabiles:**

Preparado las diluciones, se pipeteó por duplicado en placas Petri, alícuotas de 1mL de las diluciones  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ . Se fundió el agar nutritivo y se vertió en las placas Petri de 10 mL a 15 mL. Se mezcló el inóculo con el medio fundido, con movimientos de vaivén. Una vez solidificado el agar, se invirtieron las placas para posteriormente incubarlas a  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  durante  $48 \pm 3$  horas.

Se eligieron dos placas correspondientes a una dilución que presenten entre 30 y 300 colonias, para realizar este recuento se utilizó un contador de colonias y se procedió a dar el valor obtenido como el recuento estándar en placa. El valor obtenido como recuento estándar en placa en UFC /mL, fue igual a la media aritmética de dos valores por el factor de dilución.

### **2.3.5 Recuento e identificación de *Escherichia coli*:**

El recuento de *Escherichia coli* se realizó mediante la técnica del número más probable siguiendo el mismo procedimiento que para coliformes totales.

La identificación de *Escherichia Coli*, se realizó sobre la base de las pruebas (IMViC) de indol (+/-) rojo de metilo (+) Voges Proskauer (-) y citrato sódico (-). Se sembró por estría un asa de cada tubo de caldo positivo de gas (caldo lactosa 2% bilis verde brillante), en placas de agar Endo, utilizando una placa para cada tubo. Se incubaron las placas invertidas durante 24 horas a 35-37 °C. Se seleccionaron las

colonias individuales y sembraron cada una en agar nutritivo inclinado y caldo lactosado. Se incubaron durante 24 horas a 35-37 °C..

A partir de los cultivos gas positivos en caldo lactosado, se realizó la coloración Gram para confirmar la presencia de bacilos Gram negativos no esporulados. Para inocular en los medios IMViC se utilizaron los cultivos de 24 horas del agar nutritivo inclinado. (ICMSF, 2000)

***Técnica para la prueba de Indol:***

Se inocularon tubos de agua de peptona a partir de cultivos puro e incubaron los tubos sembrados a 35-37 °C. durante 24 horas. Se añadieron a cada tubo 0.2-0.3 ml. del indol y se agitaron. Se esperó 10 minutos y observaron los resultados. Si aparecía un color rojo oscuro en la superficie de la capa de alcohol amílico, la prueba era positiva. (ICMSF, 2000)

***Técnica para la prueba del Rojo de Metilo:***

Se inocularon tubos de caldo glucosa tamponado a partir de cultivos puros e incubaron los tubos sembrados a 35-37 °C durante 5 días. Se pipeteo 5 ml. de cada cultivo en tubos vacíos y añadió a cada tubo 5 gotas de la solución de rojo de metilo, agitar. Se anotó como positivo si aparece un color rojo bien definido y como negativo si el color era amarillo. (ICMSF, 2000)

***Técnica para la prueba de Voges Proskauer:***

Se inocularon tubos de caldo glucosa tamponado a partir de cultivos puros y se incubaron a 35-37°C durante 48 horas. Se pipeteó 1ml de cada cultivo en tubos vacíos y se añadió a cada uno de ellos 0,6 ml de la solución de naftol y 0,2 ml de la solución de hidróxido potásico. Se agitaron los tubos y dejaron en reposo durante 2-4 horas. La aparición en la mezcla de un color rosa a carmesí se anotó como prueba positiva. (ICMSF, 2000).

***Técnica para la prueba del Citrato Sódico:***

Se inocularon tubos en agar citrato de Simmons a partir de cultivos puros. Se utilizó el asa bacteriológica en punta, a fin de sembrar un inóculo pequeño, ya que de otro modo la transferencia de nutrientes con el inóculo podría invalidar la reacción. Se sembró por picadura en la columna de agar y por estría en la superficie inclinada.

Se incubaron los tubos a 35-37 °C durante 48 horas. La reacción fue positiva cuando el crecimiento era visible. (ICMSF, 2000)

### **2.3.6 Aislamiento e identificación de *Salmonella sp*:**

Se mezcló (p/v) la muestra de vegetales con 9 volúmenes de medio de pre-enriquecimiento e incubó durante 18-24 horas a 35-37°C. Se pipeteó 1 ml. del cultivo de pre enriquecimiento en 10ml. de caldo cistina y 1ml del cultivo a 10 ml. en caldo tetrationato verde brillante. Se incubó en baño de agua a 43°C durante 24 horas.

A partir de los medios de enriquecimiento se sembraron por estría en placas de agar Verde Brillante y placas de agar Sulfito de Bismuto. Se incubó a 35-37° C durante 24 a 48 horas.

En agar Verde Brillante las colonias típicas de *Salmonella* fueron incoloras, rosa o fucsia o traslucidas a opacas, con el medio que la rodea de color rosa a rojo. Las colonias típicas de *Salmonella* en agar sulfito de bismuto fueron marrones o grises a negro, a veces con un brillo metálico. El medio que rodea las colonias fue generalmente marrón al principio, cambiando a negro según transcurrió el tiempo de incubación.

Se seleccionaron las colonias sospechosas de agar Sulfito de Bismuto y agar Verde Brillante y sembraron en agar Triple Azúcar Hierro (TSI) y agar Lisina Hierro (LIA), inclinados. Se incubó a 35-37° C durante 24 horas.

Los cultivos sospechosos de *Salmonella* en agar TSI mostraron en la parte inclinada color rojo (reacción alcalina) y amarillo en la columna (rección ácida) con o sin producción de SH<sub>2</sub> que dieron lugar al ennegrecimiento del agar. En agar LIA las colonias sospechosas de *Salmonella* dieron lugar al color purpura (reacción alcalina) en todo el medio con o sin producción de SH<sub>2</sub>. (ICMSF, 2000).

### III.- RESULTADOS

Tabla 1.

Recuento de coliformes totales (CT) y fecales (CF) mediante la Técnica del Número Mas Probable en vegetales que se expenden en los mercados de la ciudad de chachapoyas.

| Muestra         | Mercado Modelo |            | Mercado Yance |            | PROMEDIO   |            |
|-----------------|----------------|------------|---------------|------------|------------|------------|
|                 | CT (NMP/g)     | CF (NMP/g) | CT (NMP/g)    | CF (NMP/g) | CT (NMP/g) | CF (NMP/g) |
| Lechuga         | > 1,100        | 1,100      | > 1,100       | 1,100      | > 1,100    | 1,100      |
| Culantro        | > 1,100        | 1,100      | > 1,100       | 1,100      | > 1,100    | 1,100      |
| Perejil         | > 1,100        | 1,100      | > 1,100       | 1,100      | > 1,100    | 1,100      |
| Espinaca        | > 1,100        | > 1,100    | > 1,100       | > 1,100    | > 1,100    | > 1,100    |
| Mix de ensalada | > 1,100        | > 1,100    | > 1,100       | > 1,100    | > 1,100    | > 1,100    |

Tabla 2.

Recuento de bacterias aerobias mesófilas viables (UFC/ml) en vegetales que se expenden en los mercados de la ciudad de chachapoyas.

| Muestra         | Bacterias Aerobias Mesófilas Viables (UFC/ml) |                  | PROMEDIO           |
|-----------------|---|------------------|--------------------|
|                 | Mercado Modelo                                | Mercado Yance    |                    |
| Lechuga         | $26 \times 10^2$                              | $27 \times 10^2$ | $26.5 \times 10^2$ |
| Culantro        | $24 \times 10^2$                              | $23 \times 10^2$ | $23.5 \times 10^2$ |
| Perejil         | $25 \times 10^2$                              | $24 \times 10^2$ | $24.5 \times 10^2$ |
| Espinaca        | $17 \times 10^2$                              | $16 \times 10^2$ | $16.5 \times 10^2$ |
| Mix de ensalada | $23 \times 10^2$                              | $24 \times 10^2$ | $23.5 \times 10^2$ |



Tabla 3.

Recuento de *Escherichia coli* (NMP/g) y detección de *Salmonella* sp. en vegetales que se expenden en los mercados Modelo y Yance de la Ciudad de Chachapoyas.

| Muestra         | Recuento de <i>Escherichia coli</i> (NMP/g) | Detección de <i>Salmonella</i> sp |
|-----------------|---|-----------------------------------|
| Lechuga         | 40  | Ausencia/25g                      |
| Culantro        | 15  | Ausencia/25g                      |
| Perejil         | 23  | Ausencia/25g                      |
| Espinaca        | 9   | Ausencia/25g                      |
| Mix de ensalada | 90  | Ausencia/25g                      |

## DISCUSIÓN

Los alimentos que se expenden en las calles, poseen fuerte potencial para la transmisión de enfermedades gastrointestinales debido a que son extensamente manipulados. De estos alimentos los vegetales presentan un sustrato adecuado para la proliferación de gérmenes patógenos.

La mayoría de las veces las verduras frescas son consumidas sin tratamiento de desinfección adecuado adicional que elimine a las bacterias patógenas. Por ello es importante estas sean lavadas y desinfectadas minuciosamente para minimizar los peligros microbianos que pudieran estar presentes. Según la norma oficial mexicana NOM-093-SSA1-1994, las ensaladas crudas no deben exceder de 100 ufc/g, respecto al recuento de coliformes fecales (Castro, et al. 2006).

En un estudio realizado en Maracay, Venezuela por Acevedo, et al. (2001), se determinó la presencia de coliformes totales, coliformes fecales y otras enterobacterias en muestras de ensaladas crudas. El resultado para coliformes totales fue  $1,44 \times 10^5$  NMP/g y para coliformes fecales  $4,57 \times 10^4$  NMP/g, no se detectó *Escherichia coli* en las muestras analizadas. En la presente investigación el recuento de coliformes totales de las muestras de vegetales (lechuga, culantro, perejil, espinaca, mix de ensaladas) en promedio fue mayor a 1,100 NMP/g en el mercado Modelo y mercado Yance de la ciudad de Chachapoyas y el recuento de coliformes fecales en promedio fue igual o mayor a 1,100 NMP/g, resultados mucho menores que lo obtenido en el estudio de Maracay.

En relación al recuento de coliformes totales la Norma Técnica NOM-093-SSA1-1994, NOM-121-SSA1-1994, límites microbiológicos de la ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Foods), establece que el límite máximo permisible para coliformes totales es 100 NMP/g y según la norma oficial mexicana NOM-093-SSA1-1994, las ensaladas crudas no debe exceder el recuentos de coliformes fecales a 100 ufc/g, sien embargo en nuestra investigación se obtuvieron valores mayores a 1,100 NMP/g para coliformes totales y valores igual o mayores a 1,100 NMP/g para coliformes fecales.

En relación al recuento de microorganismos aerobios mesófilos, en condiciones establecidas, se estima la microflora total sin especificar tipos de microorganismos. Esto refleja la calidad sanitaria de los productos analizados, indicando además de las condiciones higiénicas de la materia prima, la forma como fueron manipulados durante su elaboración. Un recuento bajo de aerobios mesófilos no implica o no asegura la ausencia de patógenos o sus toxinas, de la misma manera un recuento elevado no significa presencia de flora patógena (RENALOA, 2014).

En alimentos perecederos manipulados correctamente pueden desarrollar recuentos aerobios mesófilos elevados y perder la calidad si son almacenados por un periodo de tiempo prolongado. En este caso el recuento no se encontraría elevado por la condición de higiene del producto, sino por la vida útil del mismo (RENALOA, 2014).

Según la norma oficial mexicana NOM-093-SSA1-1994, las ensaladas crudas no deben exceder los siguientes límites microbiológicos en relación al recuento de aerobios mesófilos viables  $15 \times 10^4$  ufc/g de la misma forma la Norma Técnica NOM-093-SSA1-1994, NOM-121-SSA1-1994, límites microbiológicos de la ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Foods), establece que el límite máximo permisible para aerobios mesófilos viables 150,000 ufc/g. En la presente investigación el recuento de bacterias aerobias mesófilas viables fue en la lechuga  $26.5 \times 10^2$  ufc/g, en el culantro  $23.5 \times 10^2$  ufc/g, en el perejil  $24.5 \times 10^2$  ufc/g, en la espinaca  $16.5 \times 10^2$  ufc/g y en el mix de ensalada  $23.5 \times 10^2$  ufc/g, valores mucho menores a los límites máximos permisibles.

Las verduras crudas pueden contaminarse por diversos factores y su consumo está asociado a numerosos brotes de enfermedades por microorganismos patógenos. *Escherichia coli* también ha sido relacionada a brotes de infecciones por ensaladas. Es sabido que números considerables de este microorganismo en alimentos sugiere contaminación fecal. Su hallazgo implica un riesgo de que un microorganismo patógeno pueda estar presente (Castro, et al. 2006).

Las hortalizas crudas especialmente la lechuga han sido identificadas como causa frecuente de diarrea del viajero. La lechuga fue el origen de un brote de *Escherichia coli* O157:H7, que afectó a más de 100 personas en Montana durante 1995 (Díaz, 2004).

En una investigación sobre la presencia de algunos microorganismos indicadores de higiene en ensaladas de verduras crudas se encontró que todas las ensaladas mostraron niveles elevados de coliformes ( $>10^3$  UFC/g) y sólo 4 de las 40 ensaladas estuvieron libres de coliformes fecales. *Escherichia coli* se aisló en el 75% de ensaladas (Castro, et al. 2006).

Según la Norma Técnica Sanitaria NTS No 071-MINSA/DIGESA-V01, que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo, respecto a *Escherichia coli* en frutas y hortalizas frescas (sin ningún tratamiento) el límite mínimo es  $10^2$  y el máximo  $10^3$ . En esta investigación se encontró que el recuento de *Escherichia coli* en la lechuga fue 40 NMP/g, en el culantro 15 NMP/g, en el perejil 23 NMP/g, en la espinaca 9 NMP/g, el mix de ensalada 90 NMP/g, niveles por debajo del límite mínimo permitido.

En años recientes se han reportado continuamente enfermedades asociadas con el consumo de frutas y vegetales frescos a nivel mundial. Los organismos patógenos de cuidado en vegetales frescos incluyen a *Salmonella sp.* En las hortalizas se ha detectado una serie de serotipos de Salmonella. Ha habido brotes extensivos de Salmonelosis atribuibles a la lechuga contaminada. También se ha encontrado *Salmonella sp.* en una amplia gama de productos cultivados orgánicamente (Díaz, 2004).

Según la Norma Técnica Sanitaria NTS No 071-MINSA/DIGESA-V01, respecto a Salmonella en frutas y hortalizas frescas (sin ningún tratamiento), no debe estar presente (Ausencia/25g). En la presente investigación no se detectó *Salmonella sp.* en las muestras de lechuga, culantro, perejil, espinaca y mix de ensalada, estudiadas.

El control de microorganismos de la alteración en las hortalizas crudas requiere de técnicas para la limpieza y saneamiento del material y para el control del ambiente en el que se almacenan las hortalizas, sólo de esta manera se puede evitar un importante desarrollo microbiano (Díaz, 2004).

## V. CONCLUSIONES

- La calidad microbiológica de los vegetales estudiados (lechuga, culantro, perejil, espinaca, mix de ensaladas), no es aceptable para coliformes totales, coliformes fecales, mientras que para aerobios mesófilos viables, *Escherichia coli* y para *Salmonella* Sp. es aceptable
- El recuento de coliformes totales de las muestras de vegetales (lechuga, culantro, perejil, espinaca, mix de ensaladas) en promedio es mayor a 1,100 NMP/g en el mercado Modelo y mercado Yance de la ciudad de Chachapoyas.
- El recuento de coliformes fecales de las muestras de vegetales (lechuga, culantro, perejil, espinaca, mix de ensaladas) en promedio es igual o mayor a 1,100 NMP/g en el mercado Modelo y mercado Yance de la ciudad de Chachapoyas.
- El recuento de bacterias aerobias mesófilas viables en la lechuga es  $26.5 \times 10^2$  ufc/g, en el culantro es  $23.5 \times 10^2$  ufc/g, en el perejil es  $24.5 \times 10^2$  ufc/g, en la espinaca  $16.5 \times 10^2$  ufc/g, el mix de ensalada  $23.5 \times 10^2$  ufc/g.
- El recuento de *Escherichia coli* en la lechuga es 40 NMP/g, en el culantro es 15 NMP/g, en el perejil es 23 NMP/g, en la espinaca 9 NMP/g, el mix de ensalada 90 NMP/g.
- No se detectó *Salmonella* sp. en las muestras de lechuga, culantro, perejil, espinaca y mix de ensalada, estudiadas.

## VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Adams, A., y Moss, M. (1997). Microbiología de los Alimentos. Editorial Acribia, S.A. España.

Acevedo, L., Mendoza, C. y Oyón R. (2001). Coliformes totales, fecales y algunas enterobacterias, Staphylococcus sp. y hongos en ensaladas para perro caliente expandidas en la ciudad de Maracuy, Venezuela. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 51(4):366-370

Ávila, G., Sánchez E., Muñoz E., Martínez L., Villalobos, E. (2008). Diagnóstico de la calidad microbiológica de frutas y hortalizas en Chihuahua, México. *Revista Internacional de Botánica Experimental*, 77:129-136.

Castro, J., Rojas, M., Noguera, Y., Santos, E., Zuniga, A., Gomez, C. (2006). Calidad Sanitaria de ensaladas de verduras crudas listas para consumo. Centro de Investigaciones Químicas. Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Pachuca. México.

Díaz, A. (2004). Calidad microbiana de vegetales frescos distribuidos, Bogota, D.C. Trabajo para optar el título en Microbiología de Alimentos e Industria. Universidad de los Andes. Facultad de Ciencias. Departamento de Ciencias Biológicas. Programa de Microbiología. Bogotá, Colombia. pp.35

García, M., Grande, M. (2019). Análisis Microbiológico de alimentos vegetales. Universidad de Jaén. Ciencias de la Salud. España.  
<https://tauja.ujaen.es/handle/10953.1/10395>

García, R., Chávez, J., Mejía, A., Durán, C. (2002). Microbiological determinations of some vegetables from the Xochimilco zone in Mexico city, Mexico. *Revista Latinoamericana de Microbiología* 4(1), 24-30

Ginestre, M., Romero, S., Rincón, G., Castellano, M., Ávila, Y., Colina, G., & Perozo A. (2009). Indicadores entéricos en vegetales frescos que se comercializan en mercados populares de Maracaibo. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 29(1), 52-56.

ICMSF. International Commission on Microbiological Specifications for Foods, of the International Union of Microbiological Societies. (2000). *Microorganisms in Foods 1. Their significance and methods of numeration*. 2 da. Edition. Editorial, University of Toronto Press.

Ministerio de Salud (2011). Análisis microbiológicos de los alimentos. Metodología analítica oficial. Microorganismos patógenos. *Red Nacional de Laboratorios Oficiales de Análisis de Alimentos*, 1(1):1-2. Argentina

Rincón, G., Ginestre, M., Romero, S., Castellano, M., Ávila, Y. (2010). Calidad microbiológica y bacterias enteropatógenas en vegetales tipo hoja. *Revista Kasma*, 38(2), 97-105.

RENALOA, Red Nacional de Laboratorios Oficiales de Análisis de los alimentos. (2014). Análisis microbiológico de los alimentos. Metodología Analítica Oficial. Microorganismos indicadores. *Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica*. Volumen 3. Versión Noviembre 2014. Pp. 136

# ANEXOS





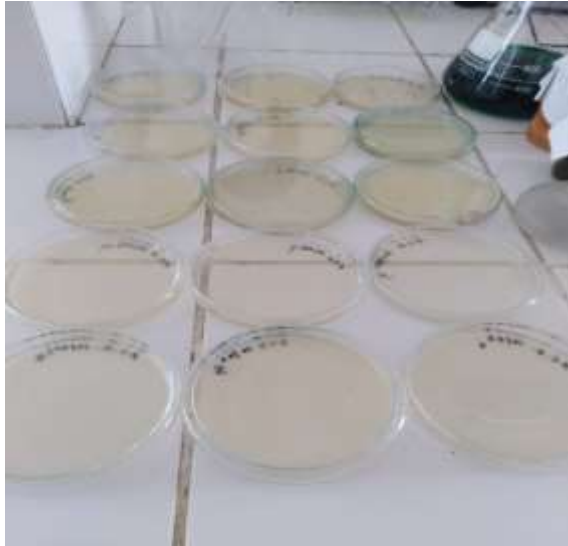
Recolección de muestras de vegetales en los mercados de la ciudad de Chachapoyas



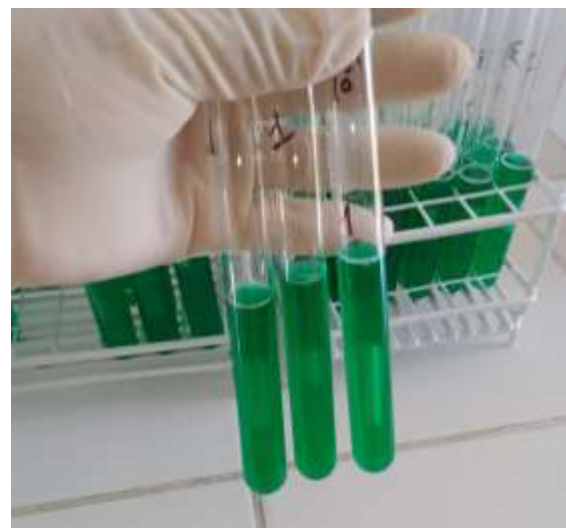
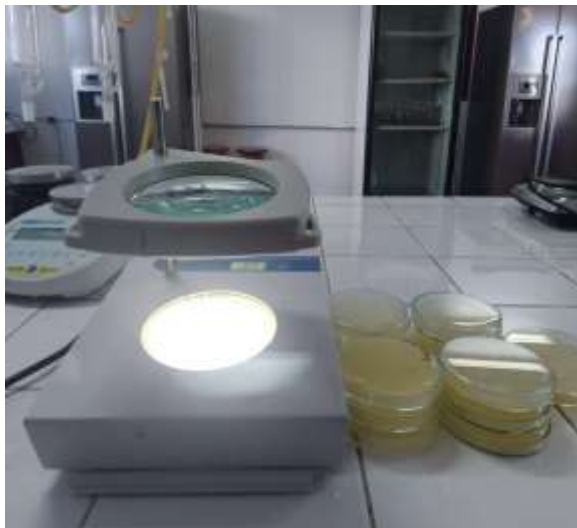
Traslado de las muestras de vegetales al laboratorio de Tecnología de Alimentos - UNTRM



Preparación de las muestras muestras de vegetales - laboratorio de Tecnología de Alimentos



Preparación de medios de cultivo para la siembra de muestra de vegetales



Lectura microbiológica de tubos y placas sembradas