



**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO**  
**FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS**  
**CARRERA DE INGENIERÍA BIOQUÍMICA**

**TEMA:**

---

Cuantificación de metales pesados y calidad microbiológica de frutas y  
vegetales que se expenden en el mercado mayorista de la ciudad de  
Ambato.

---

Trabajo de Titulación, modalidad Proyecto de Investigación, previa la obtención del  
Título de Ingeniera Bioquímica, otorgado por la Universidad Técnica de Ambato, a través  
de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos.

**Autor:** Maura Cristina Fiallos Morales  
**Tutor:** Ph.D. Mirari Yosune Arancibia Soria

Ambato - Ecuador

Marzo - 2017

## **APROBACIÓN DEL TUTOR**

Ph.D. Mirari Yosune Arancibia Soria.

CERTIFICA:

Que el presente trabajo de titulación ha sido prolijamente revisado. Por lo tanto autorizo la presentación de este Trabajo de Titulación bajo la modalidad de Proyecto de Investigación, el mismo que responde a las normas establecidas en el Reglamento de Títulos y Grados de la Facultad.

Ambato, 8 de Febrero del 2016

A handwritten signature in blue ink, reading "Mirari Arancibia Soria", is written over a horizontal line.

Ph.D. Mirari Yosune Arancibia Soria.

C.I. 1802142461

TUTOR

## **DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD**

Yo, Maura Cristina Fiallos Morales, manifiesto que los resultados obtenidos en el presente Proyecto de Investigación, previo la obtención del título de Ingeniería Bioquímica, son absolutamente originales, auténticos y personales; a excepción de las citas.

A handwritten signature in blue ink, reading "Maura Fiallos", is written over a horizontal line.

Maura Cristina Fiallos Morales

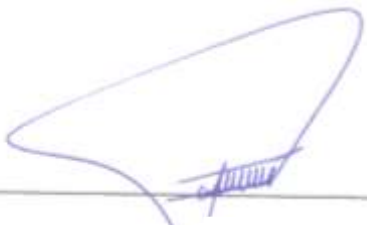
C.I. 180442806-6

**AUTORA**


## APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO

Los suscritos profesores Calificadores, aprueban el presente Trabajo de Titulación modalidad Proyecto de Investigación, el mismo que ha sido elaborado de conformidad con las disposiciones emitidas por la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos de la Universidad Técnica de Ambato.

Para constancia firman:



Presidente del tribunal



MSc. Yunys Pérez Betancourt

C.I. 1756472740



MSc. Lander Pérez Aldáz

C.I. 1802706596

Ambato, 15 de Marzo del 2016

## **DERECHOS DE AUTOR**

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga de este proyecto de investigación o parte de él un documento disponible para su lectura, consulta y procesos de investigación, según las normas de la Institución.

Cedo los Derechos en línea patrimoniales de mi Proyecto, con fines de difusión pública, además apruebo la reproducción de este Proyecto dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando no suponga una ganancia económica y se realice respetando los derechos de autor.



---

Maura Cristina Fiallos Morales

C.I. 180442806-6

**AUTORA**

## **DEDICATORIA**

A la persona que ha sido más que mi madre y amiga Patricia por su apoyo incondicional, mi hijo Franz por motivarme a seguir adelante esto es por ti y para ti.

## AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios porque me ha permitido llegar hasta aquí llena de bendiciones en mi vida académica, social y familiar, porque no me ha faltado nada y poco a poco he podido ir cumpliendo mis sueños.

A la Universidad Técnica de Ambato, en especial a la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos por ser mi segundo hogar, la fuente del saber donde gracias a sus profesores se me impartió todo el conocimiento y apoyo necesario.

A la Dra. Mirari Arancibia por guiar mi trabajo, gracias por su preocupación, apoyo y entrega para este proyecto que lo hemos construido juntas, gracias por su amistad y todo el conocimiento que me ha brindado que han hecho de mí una persona con una visión diferente.

Al Ing. Jacobo Suárez por la apertura en calidad de Director del mercado Mayorista de Ambato para la realización de este proyecto.

Al Dr. Roman Rodríguez por su colaboración en el proyecto especialmente el aporte en los análisis de metales pesados en las muestras.

A mi familia, mis abuelitos por no dejar nunca de preocuparse por mí, por su apoyo, ejemplo y dedicación.

A Maximiliano por su apoyo para seguir adelante, por motivarme a llegar muy lejos, hasta donde mis sueños alcancen.

A mis amigas y compañeros por hacer de mi estancia en la carrera la experiencia más emocionante de mi vida.

## ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS

### A. PÁGINAS PRELIMINARES

PORTADA .....	i
APROBACIÓN DEL TUTOR .....	ii
DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD .....	iii
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO .....	iv
DERECHOS DE AUTOR.....	v
DEDICATORIA .....	vi
AGRADECIMIENTO .....	vi
ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS.....	viii
ÍNDICE DE TABLAS.....	xi
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xii
RESUMEN.....	xiii
ABSTRACT.....	xiv
INTRODUCCIÓN.....	xv
CAPÍTULO 1	
EL PROBLEMA	
1.1 Tema de Investigación .....	1
1.2 Justificación.....	1
1.3 Objetivos.....	2
1.3.1 Objetivo General .....	2
1.3.2 Objetivos Específicos .....	2
CAPITULO II	
MARCO TEÓRICO	
2.1 Antecedentes Investigativos .....	3
2.1.1 Contaminación por Metales Pesados .....	3



Frutas y Vegetales de la dieta humana con presencia de metales pesados.....	3
Fuentes de contaminación.....	4
Industria.....	7
Ingesta de metales pesados .....	7
Efectos de los metales en la salud.....	8
2.1.2 Calidad y microbiología del suelo .....	9
Enterobacterias en frutas y vegetales .....	9
Aerobios en frutas y vegetales .....	9
Contaminación de los alimentos por microorganismos patógenos .....	10
Efecto del suelo y abonos animales.....	10
Efecto del agua.....	11
Enfermedades producidas por la ingesta de alimentos contaminados .....	11
2.2 Hipótesis .....	13
2.2.1 Hipótesis nula .....	13
2.2.2 Hipótesis alternativa .....	13
2.3 Señalamiento de variables .....	13

### CAPÍTULO III

#### MATERIAL Y MÉTODOS

3.1 Toma de muestras .....	14
3.2 Propiedades fisicoquímicas .....	15
Color .....	15
Humedad .....	16
Cuantificación de Metales pesados.....	16
3.4 Análisis Microbiológico .....	17
Enterobacterias.....	17
Aerobios totales.....	18

Análisis de resultados .....	19
<b>CAPÍTULO IV</b>	
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	
4.1 Análisis y discusión de resultados .....	20
4.1.1 Resultados obtenidos de color en escala CIELAB .....	20
4.1.2 Humedad .....	23
4.1.3 Contenido de metales pesados .....	25
4.1.4 Análisis Microbiológico .....	30
4.2 Verificación de la hipótesis .....	36
<b>CAPITULO V</b>	
<b>CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES</b>	
5.1 Conclusiones .....	37
5.2 Recomendaciones .....	37
<b>MATERIAL DE REFERENCIA</b>	
Fuentes de referencia .....	39

## ÍNDICE DE TABLAS.

<b>Tabla 1.</b> Límites permisibles de metales pesados y enterobacterias en alimentos (UE, 2005).....	12
<b>Tabla 2:</b> Coordenadas geográficas de la toma de muestras.....	14
<b>Tabla 3:</b> Humedad documentada por la FAO (1995) (H*) y la humedad experimental (He), en alimentos vegetales.....	25
<b>Tabla 4.</b> Comparación de los resultados microbiológicos de las muestras vegetales frente al agua y suelo utilizados para su cultivo. ....	35

## ÍNDICE DE FIGURAS.

<b>Figura 1:</b> Contaminación microbiana por la interacción de seres vivos y medio ambiente (FAO, 2012). .....	10
<b>Figura 2.</b> Mapa del Cantón Ambato con su división parroquial y señalamiento de los lugares de dónde se recolectaron las muestras vegetales.....	15
<b>Figura 3.</b> Valores obtenidos de luminosidad ( $L^*$ ) en cada una de las muestras analizadas. ....	21
<b>Figura 4.</b> Valores para el parámetro $a^*$ obtenidos de cada una de las muestras vegetales frescas analizadas. ....	22
<b>Figura 5.</b> Valores para el parámetro $b^*$ obtenidos de cada una de las muestras vegetales analizadas. ....	23
<b>Figura 6.</b> Porcentaje de humedad en cada una de las muestras analizadas. ....	24
<b>Figura 7.</b> Contenido de arsénico (As, ppm) en las muestras vegetales analizadas. Límite máximo de As en vegetales (línea azul) y frutas (línea roja). ....	26
<b>Figura 8.</b> Contenido de cromo (ppm) en las muestras vegetales analizadas. ....	27
<b>Figura 9.</b> Contenido de manganeso (ppm) en las muestras vegetales analizadas. ....	281
<b>Figura 10.</b> Contenido de zinc (ppm) en las muestras vegetales analizadas.....	292
<b>Figura 11.</b> Recuentos de enterobacterias (ufc/g) para cada una de las muestras vegetales analizadas. ....	31
<b>Figura 12.</b> Recuentos de enterobacterias (ufc/g) en las muestras de agua de riego para cada cultivo.....	314
<b>Figura 13.</b> Recuentos de enterobacterias (ufc/g) para las muestras del suelo de cada cultivo. ..	32
<b>Figura 14.</b> Recuento de aerobios mesófilos (ufc/g) de cada una de las muestras vegetales analizadas .....	33
<b>Figura 15.</b> Recuento de aerobios mesófilos (ufc/g) del agua de riego de cada uno de los cultivos analizados.....	33
<b>Figura 16.</b> Recuento de aerobios mesófilos (ufc/g) en cada una de las muestras de suelo analizados.....	34

## RESUMEN

El presente estudio se realizó para evaluar la presencia de metales pesados (Zn, Mn, Hg, Pb, Cd, Cu, Cr, Ni, V y As) y microorganismos patógenos en muestras de frutas y vegetales provenientes de las parroquias de Izamba, Cunchibamba, Huachi Grande y Pilahuín, zonas agrícolas que distribuyen sus productos, al resto del país, a través del Mercado Mayorista de la ciudad de Ambato. Se analizaron catorce muestras que en muchos casos presentaron concentraciones de arsénico, cromo y manganeso por encima del nivel permitido por normas internacionales. Algo similar ocurrió con los recuentos de enterobacterias y aerobios mesófilos totales en las muestras. Al momento de la cosecha todos los alimentos analizados sobrepasaron los límites permisibles establecidos. Este estudio pone de manifiesto que los productos que consumimos exceden la normativa local e internacional de calidad para alimentos frescos.

**Palabras clave:** aerobios mesófilos, calidad microbiológica, enterobacterias, frutas y vegetales, mercado mayorista de Ambato, metales pesados.

## ABSTRACT

The present study was performed to evaluate the presence of heavy metals (Zn, Mn, Hg, Pb, Cd, Cu, Cr, Ni, V and As) and pathogenic microorganisms in fruit and vegetable samples from Izamba, Cunchibamba, Huachi Grande and Pilahuín, agricultural areas that distribute their products, to the rest of the country, through the Wholesale Market of Ambato city. Fourteen samples that in many cases presented concentrations of arsenic, chromium and manganese were analyzed above the level allowed by international standards. Something similar occurred with counts of enterobacteria and mesophilic aerobes in the samples. At the time of harvest all the food analyzed exceeded the allowable limits established. This study shows that the products we consume exceed local and international quality standards for fresh food.

**Key words:** enterobacteria, fruits and vegetables, heavy metals, mesophilic aerobe, microbiological quality, wholesale market of Ambato.

## INTRODUCCIÓN

La dieta ecuatoriana es principalmente vegetariana y consiste en varios cereales y vegetales utilizados durante la preparación de los alimentos. El control de calidad permite identificar contaminantes como metales pesados, pesticidas y microorganismos. A nivel mundial se ha investigado sobre la presencia de contaminantes tóxicos en alimentos y sus efectos en la salud humana, poco se ha realizado en el Ecuador y es escasa y necesaria la información. Los alimentos son la principal fuente de contaminación con metales pesados para los humanos, esta contaminación puede provenir de suelos contaminados y agua de regadío principalmente. Metales pesados como el mercurio, plomo y cadmio son altamente tóxicos no solo para las plantas sino para animales y el hombre. Los efectos adversos de estos compuestos van desde cáncer y degeneración de tejidos hasta la muerte, cuando el metal se halla en elevadas concentraciones en los cultivos (Kumar, 2007).

Los metales pesados son elementos químicos de alta densidad y que presentan riesgo tóxico para la salud humana, generalmente esta densidad se considera con valores mayores a  $4,5 \text{ g/cm}^3$  con hasta  $7 \text{ g/cm}^3$ . Los más conocidos y perjudiciales son el mercurio, plomo, cadmio y talio, se incluye al semimetal arsénico, al selenio y a elementos ligeros como el berilio y el aluminio (Química. Es, 2016). La toxicidad de estos metales depende de la concentración y de la disponibilidad en los suelos, lo que está relacionado con el pH, solubilidad, salinidad e incluso temperatura. La absorción de estos metales por la planta depende de la concentración total de metales en el suelo y es diferente para cada especie vegetal en función de sus estrategias para tolerar elevadas concentraciones de metales pesados en suelos (Cabezas et al., 2004).

Casi la totalidad de las frutas y ciertas hortalizas son consumidas sin necesidad de cocción como parte de una dieta sana, las verduras y hortalizas, que se consumen crudas, también se encuentran expuestas a la contaminación por metales pesados y/o por microorganismos patógenos antes, durante y después de la cosecha. Respecto a la contaminación microbiana, en la precosecha se puede encontrar materia fecal (animal o humana) en la tierra, el agua de riego, y en el abono utilizado (Vázquez, Fernández & Arias, 2010). Todo ello contribuye a convertir las frutas y verduras en alimentos de alto riesgo, asociados a

brotos epidémicos de disentería, porque pueden transportar una elevada carga microbiana que se suma al habitual consumo crudo y a las deficientes prácticas de manejo e higiene, comunes en países en vías de desarrollo (Monge, Chinchilla & Reyes1996; ICMSF, 1981). La necesidad de garantizar la inocuidad de los vegetales surge de la tasa de mortalidad humana debido a infecciones causadas por enterobacterias, coliformes, aerobios entre otros (Vázquez, Fernández & Ríos, 2010).

En el presente estudio se cuantificó la presencia de diez metales pesados (Zn, Mn, Hg, Pb, Cd, Cu, Cr, Ni, V y As) y calidad microbiológica de catorce muestras vegetales entre frutas y verduras. Las muestras fueron tomadas de sectores agrícolas de la provincia de Tungurahua que a su vez están localizados cerca de áreas industriales y que tienen como lugar de comercialización el Mercado Mayorista de la ciudad de Ambato desde donde se distribuyen al resto del país.



## **CAPÍTULO 1**

### **EL PROBLEMA**

#### **1.1 Tema de Investigación**

Cuantificación de metales pesados y calidad microbiológica de frutas y vegetales que se expenden en el Mercado Mayorista de la ciudad de Ambato.

#### **1.2 Justificación**

Las frutas y vegetales representan un importante porcentaje de la dieta humana, por lo que es necesario conocer la calidad con la que estos productos llegan hasta los hogares, el Mercado Mayorista de Ambato distribuye este tipo de productos a la zona céntrica del país e incluso a la región costa. En la actualidad existe escasa o nula información relacionada con la calidad microbiológica y contenido de metales pesados en frutas y vegetales que se expenden en la ciudad. Este tipo de información no sólo es útil para las autoridades del mercado sino para los consumidores y los productores con el fin de concienciar en la importancia y responsabilidad de ofrecer productos agrícolas de buena calidad.

Los metales pesados al estar presentes en los alimentos representan una amenaza para su calidad y por tanto para la salud humana, debido a que algunos de ellos por ejemplo el cadmio (Cd) y el plomo (Pb), generan efectos adversos a la salud y en muchos casos son cancerígenos. La contaminación de frutas y vegetales con metales pesados tales como Zn, Mn, Hg, Pb, Cd, Cu, Cr, Ni, V y As puede ser proveniente de varias fuentes, como el agua de riego contaminada por la presencia de actividad industrial como soldadura, galvanización, curtidos, cromado, pinturas, conservación de madera, industria química, entre otras; del suelo por ser una característica propia, algunos suelos son ricos en ciertos metales pesados; por la contaminación atmosférica, residuos de plaguicidas (Wuana & Okieimen, 2011) y en el caso de la presencia de vanadio y arsénico, por la actividad volcánica propia de la zona del Tungurahua y Cotopaxi.

Los microorganismos patógenos, presentes en los alimentos, son causantes de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA's). Estos microorganismos tales como enterobacterias, coliformes y aerobios mesófilos pueden provenir del agua o del suelo con el que está en contacto los cultivos. Al conocer la calidad microbiológica y la concentración de metales pesados de los productos se podrá aportar con información sobre si son o no aptos para el consumo humano (Muñoz, 2005).

### **1.3 Objetivos**

#### **1.3.1 Objetivo General**

Determinar el contenido de metales pesados y la calidad microbiológica en frutas y vegetales que se expenden en el mercado mayorista de la ciudad de Ambato.

#### **1.3.2 Objetivos Específicos**

Cuantificar metales pesados como Zn, Mn, Hg, Pb, Cd, Cu, Cr, Ni, V y As en muestras de frutas y vegetales que se expenden en el mercado mayorista de la ciudad de Ambato.

Establecer la calidad microbiológica en frutas y verduras del Mercado Mayorista mediante la cuantificación en ufc/g de muestra de enterobacterias y aerobios mesófilos.

Determinar la calidad de frutas y verduras en cuanto a metales pesados y microorganismos patógenos así como las posibles fuentes de contaminación.

## **CAPITULO II**

### **MARCO TEÓRICO**

#### **2.1 Antecedentes Investigativos**

##### **2.1.1 Contaminación por Metales Pesados**

Los metales pesados pueden llegar a los vegetales como producto de actividades industriales, vehículos, minería y ceniza volcánica, estas emisiones pueden depositarse sobre los vegetales durante su producción, transporte y comercialización además, se ha demostrado que la deposición atmosférica eleva significativamente los niveles de contaminación por metales pesados en vegetales que se expenden en mercados (Turkdogan et al., 2002). Ciertos metales pesados como el Cu, Zn, Mn, Co y Mo se encuentran presentes en el metabolismo humano actuando como micronutriente, cuando se encuentran en cantidades traza, mientras que el Cd, As y Cr son cancerígenos (Turkdogan et al., 2002).

En muchos países se han establecido regulaciones para varias industrias con el fin de controlar la emisión de metales pesados, la absorción de estos metales por los vegetales se ve influenciada por el clima, precipitaciones atmosféricas, la naturaleza del suelo de cultivo y el grado de madurez de la plantas al momento de la cosecha (Lago et al, 1984; de Scott, Keoghan & Allen, 1996).

##### **Frutas y Vegetales de la dieta humana con presencia de metales pesados**

La distribución de metales pesados en el medio ambiente es inevitable, más aún encontrar concentraciones detectables en frutas y vegetales, es decir el alimento humano; esto debido a la propia tecnología agrícola, emisiones industriales, fuentes geólicas etc., los elementos como el arsénico (As), cadmio (Cd), plomo (Pb), Mercurio (Hg) o vanadio (V) no representan ningún beneficio para el ser humano y no se conocen mecanismos homeostáticos para ellos, pero otros metales como cobalto (Co), cromo (Cr), hierro (Fe), manganeso (Mn) o zinc (Zn) son esenciales para el hombre porque desempeñan papeles

importantes en procesos bioquímicos, siempre y cuando se encuentren en cantidades traza. Niveles elevados de estos metales pueden llegar a ser tóxicos (Falco et al., 2012).

## **Fuentes de contaminación**

### **Agua de regadío**

Encontrar metales pesados como plomo, níquel, cadmio, manganeso, mercurio, arsénico y plomo en el agua residual es un problema mundial, más aún si se utiliza el agua para el regadío agrícola y se acumula en los suelos. Los metales pesados son considerados peligrosos por no ser biodegradables, por provocar toxicidad en las plantas y por su biodisponibilidad y acumulación (Mancilla et al., 2012). El agua de riego se utiliza directamente, sin tratamiento previo, y proviene en muchas ocasiones de sectores industriales y no de vertientes naturales. Como consecuencia, puede ocurrir que el agua sea portadora de metales pesados. Algunos estudios establecen el efecto adverso de agua-lodo residual y la influencia de éstos en el crecimiento vegetal y la biodisponibilidad de Ni, Cd y Pb en el suelo. Al realizar el análisis de las muestras vegetales se encontró que su biodisponibilidad les permite fácilmente ingresar a la cadena alimenticia ya que los metales sedimentan en el suelo y son fácilmente absorbidos por la planta y retenidos en la vacuolas o paredes celulares (Mancilla et al., 2012).

### **Suelos**

Los suelos agrícolas pueden ser contaminados por la acumulación de metales pesados y metaloides a través de emisiones procedentes de zonas industriales, desechos de minería, gasolina, pinturas, fertilizantes, abonos animales, lodos de aguas residuales, pesticidas, riego con aguas residuales, residuos de la combustión del carbón, derrame de productos petroquímicos y deposición atmosférica. Los metales más comunes en los suelos agrícolas son el plomo (Pb), cromo (Cr), arsénico (As), zinc (Zn), cadmio (Cd), cobre (Cu), mercurio (Hg), y níquel (Ni). Los suelos son el principal sitio de acumulación de metales pesados y son liberados en el medio ambiente por las actividades antropogénicas antes mencionados, estos metales no se someten a degradación microbiana y su concentración total en suelos, puede persistir durante mucho tiempo después de su

introducción incluso mediante especiación y biodisponibilidad. La presencia de metales tóxicos en el suelo puede inhibir seriamente la biodegradación de los contaminantes orgánicos lo que podría repercutir directamente en los seres humanos y el ecosistema a través de: la ingestión o contacto directo con el suelo contaminado, la cadena alimentaria (suelo-planta-humano o suelo-planta-animal-humano), ingerir aguas subterráneas contaminadas, reducción en la calidad de los alimentos, a través de fitotoxicidad y reducción de la capacidad de uso de la tierra para la producción agrícola (Wuana & Okieimen, 2011)

Los metales pesados se vuelven esencialmente contaminantes en los suelos debido a (i) su tasa de generación a través de los ciclos artificiales que son más rápidos en relación con los naturales, (ii) se convierten o transfieren desde las minas a las ubicaciones ambientales aleatorias donde se producen mayores potenciales de la exposición directa , (iii) la concentración de los metales en los productos desechados es relativamente alta en comparación con aquellos en el medio receptor, y (iv) la forma química (especie) en el que un metal se encuentra en el sistema ambiental receptor pueden hacerlo más biodisponible (Wuana & Okieimen, 2011).

### **Pesticidas y fertilizantes**

En el sector agrícola es común utilizar productos químicos y biológicos para mejorar el rendimiento de los cultivos. Anualmente se utilizan miles de pesticidas y fertilizantes en los suelos agrícolas; un efecto de estas aplicaciones es la acumulación de metales pesados en los suelos particularmente cadmio, plomo y cromo, es decir que aunque se mantenga un cultivo en un lugar sin contaminación, las propias prácticas agrícolas serían las causantes de la acumulación de metales pesados en los productos agrícolas debido generalmente a la aplicación de líquidos y estiércol con sus derivados o también por fertilizantes inorgánicos ya que algunos de estos poseen altas concentraciones de cadmio y además tiene la capacidad de bioacumularse en plantas y animales asimismo, existen fertilizantes de cal y fosfatos que poseen impurezas metálicas como el cadmio, la presencia de este metal puede ocasionar una disminución del pH y aumentar así la disponibilidad de metales pesados (Atafar et al, 2008).

Según Parkpian et al. (2003), la aplicación simultánea a largo plazo de fertilizante y estiércol demostró mayor acumulación de metal en el suelo y las plantas, según Huang & Jin (2008), el uso a largo plazo de los fertilizantes químicos excesivos y abonos orgánicos en el vegetal libre de campo y el campo de hortalizas en invernadero ha contribuido a la acumulación de metales pesados en los suelos.

### **Deposición Atmosférica**

La contaminación atmosférica, debido a procesos antrópicos y naturales, permite que en el ambiente estén disponibles partículas, dióxido de nitrógeno, monóxido de carbono y así mismo metales pesados. Todos éstos tienen la capacidad de transportarse y depositarse en suelos y aguas. Sin embargo, el principal elemento presente, debido a las emisiones vehiculares, es el plomo, que una vez que se encuentra en el suelo es poco móvil y se acumula en la superficie donde fácilmente puede ser retenido, disuelto o fijado por adsorción de las plantas (Machado et al, 2008).

### **Efecto volcánico**

Varios países de América poseen actividad volcánica en este caso, debido al sector analizado, se citará al volcán Tungurahua, ubicado a 180 kilómetros de Quito y a 5020 metros sobre el nivel del mar, se estima que durante su actividad volcánica ha eliminado a la atmósfera millones de toneladas de ceniza, cubriendo más de 35000 hectáreas de cultivos (Narváez & Cano, 2004). Las partículas de ceniza son proveedoras de microelementos como magnesio, boro, manganeso, vanadio, arsénico y polifenol, que permiten a la tierra recuperar elementos que se pierden por el uso agrícola pero a su vez, la gran acumulación debido a la sedimentación de grandes cantidades de ceniza, permite la disponibilidad de grandes cantidades de componentes tóxicos ricos en estos metales que, al ser absorbidos por las plantas y transmitidas reiterativamente al hombre por la cadena alimenticia podrían provocar efectos adversos a la salud (BUAP, 2012).

## **Industria**

El papel que han desempeñado los metales en el desarrollo de las civilizaciones ha sido fundamental, sin embargo, el crecimiento demográfico y la rápida industrialización han provocado serios problemas de contaminación, deterioro del ambiente y daños a la salud del hombre y a otras formas de vida. Los metales pesados están presentes en la mayoría de los efluentes industriales, a veces en concentraciones no muy elevadas, pero que a la vez exceden los límites permitidos por la ley para ser liberados al medio (Loiácono et al, 2004). Los procesos de tratamiento de superficie, en las etapas de pretratamiento, modificación de superficies, depósito metálico por galvanoplastia y por vía química, desmineralización y mecanizado, constituyen una de las fuentes de mayor incidencia en la contaminación de cuerpos de agua, por vertido de efluentes líquidos sin tratamiento. En ellos, una amplia gama de metales con características tóxicas, entre los que se encuentran  $\text{Cr}^{+++}$ , Sn, Cd, Cu, Al, Zn, Ni,  $\text{Fe}^{++}$ ,  $\text{Fe}^{+++}$ , Ag, Au, Pt, Rh, Pd, In, Sb, As, Be, Na y K, forman parte del efluente líquido. Las principales industrias generadoras de metales pesados, a través de las etapas del tratamiento de superficies son: automotriz, electrodoméstica, aeronáutica, mobiliario metálico, bicicletas, decoración, arquitectura metálica, electricidad y electrónica. También la minería aporta gran cantidad de metales que pueden incorporarse a cuerpos de agua en forma de compuestos insolubles o como iones, dependiendo del pH (Loiácono et al, 2004).

La procedencia de los metales pesados encontrados en las aguas residuales es variada, asociándose las fuentes de contaminación a pequeñas industrias establecidas en zonas urbanas o industriales carentes de plantas de tratamiento, a talleres de automóviles, al pequeño y mediano comercio, a grandes infraestructuras como puertos y aeropuertos, a grandes áreas comerciales, al baldeo y limpieza de calles o a las de tipo propiamente doméstico (Ogáldez, 2009).

## **Ingesta de metales pesados**

El prolongado consumo de concentraciones altas de metales pesados a través de productos alimenticios conduce a la acumulación crónica de los mismos en órganos como el riñón y el hígado, interrumpiendo ciertos procesos bioquímicos, provocando enfermedades

cardiovasculares, nerviosas, renales y óseas. Las altas concentraciones de metales pesados en frutas y vegetales ha sido relacionada directamente con el cáncer gastrointestinal (Turkdogan et al., 2002). En los sistemas biológicos, los metales pesados pueden provocar efectos adversos en orgánulos como la membrana celular, la mitocondria, lisosomas, retículo endoplasmático, los núcleos, y algunas enzimas implicadas en el metabolismo, la desintoxicación, y reparar los daños celulares, los iones metálicos interactúan con los componentes celulares como proteínas de ADN y nucleares, causando daño del ADN y los cambios conformacionales que puede conducir a la modulación del ciclo celular, la carcinogénesis o apoptosis (Tchounwou et al, 2012).

### **Efectos de los metales en la salud**

El Cadmio por ejemplo, deriva en sus características toxicológicas por su semejanza química con el zinc, un microalimento esencial para las plantas, los animales y los seres humanos. La exposición a largo plazo tanto de Cd, Cu y Cr, se asocia a la disfunción renal y la exposición continua puede conducir a la enfermedad obstructora del pulmón y cáncer. También puede producir efectos en el tejido óseo (osteomalacia, osteoporosis) en seres humanos y los animales. Y está relacionado con un aumento de la presión arterial y efectos sobre el miocardio de los animales (Lenntech, 2016). El cromo y el níquel, pueden irritar la piel y causar ulceraciones, además de problemas en el sistema circulatorio y el tejido fino nervioso (Lenntech, 2016). Los altos niveles de Pb y Zn, pueden dar lugar a efectos bioquímicos tóxicos en los seres humanos que alternadamente causan problemas en la síntesis de la hemoglobina, riñones, aparato gastrointestinal, sistema reproductivo, y daños agudos o crónicos al sistema nervioso (Lenntech, 2016). El Hg causa daño cerebral y al sistema nervioso central, el V afecta el tracto respiratorio y el cerebro, el Mn puede causar Parkinson, embolia de los pulmones y bronquitis y el arsénico, uno de los elementos más tóxicos, puede causar varios efectos sobre la salud, como irritación del estómago e intestinos, disminución en la producción de glóbulos rojos y blancos, cambios en la piel, e irritación de los pulmones. La ingesta excesiva de metales pesados incrementaría los riesgos por desarrollar cáncer, especialmente de piel, pulmón, hígado o estómago (Lenntech, 2016).



### **2.1.2 Calidad y microbiología del suelo**

El suelo constituye un sistema complejo que alberga una gran riqueza de microorganismos, los cuales establecen relaciones muy variadas y contribuyen a conformar las características propias del mismo. El crecimiento de la vegetación está condicionado por una amplia gama de microorganismos que viven en el suelo y que se encuentran también alrededor de las raíces pero no todos los microorganismos son beneficiosos, la gran mayoría son patógenos que se encuentran en grandes poblaciones creándose así una competencia entre los microorganismos benéficos y los patógenos (Grant & Long, 1999).

Las prácticas agrícolas utilizadas para el cultivo de frutas y vegetales, hacen que se conviertan en vehículo potencial de microorganismos patógenos (Muñoz, 2005 de Monge et al., 1996). En el campo; el suelo, abono, animales, equipo agrícola y las manos del personal requerido para recolectar, clasificar, atar y envasar, son factores que contribuyen al incremento de la tasa de microorganismos y su distribución en el producto (Muñoz, 2005).

#### **Enterobacterias en frutas y vegetales**

La familia *Enterobacteriaceae* constituye un grupo grande y heterogéneo de bacterias Gramnegativas. Reciben su nombre por la localización habitual como saprófitos en el tubo digestivo, aunque se trata de gérmenes ubicuos (Robles, 2014). Entre las enterobacterias patógenas, asociadas con el consumo de hortalizas frescas, se encuentran *Escherichia coli enterotoxigénica*, *E. coli enterohemorrágica* y especies de *Salmonella spp*, entre otras, las cuales están descritas por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como una nueva y significativa amenaza a la salud pública (Muñoz, 2005).

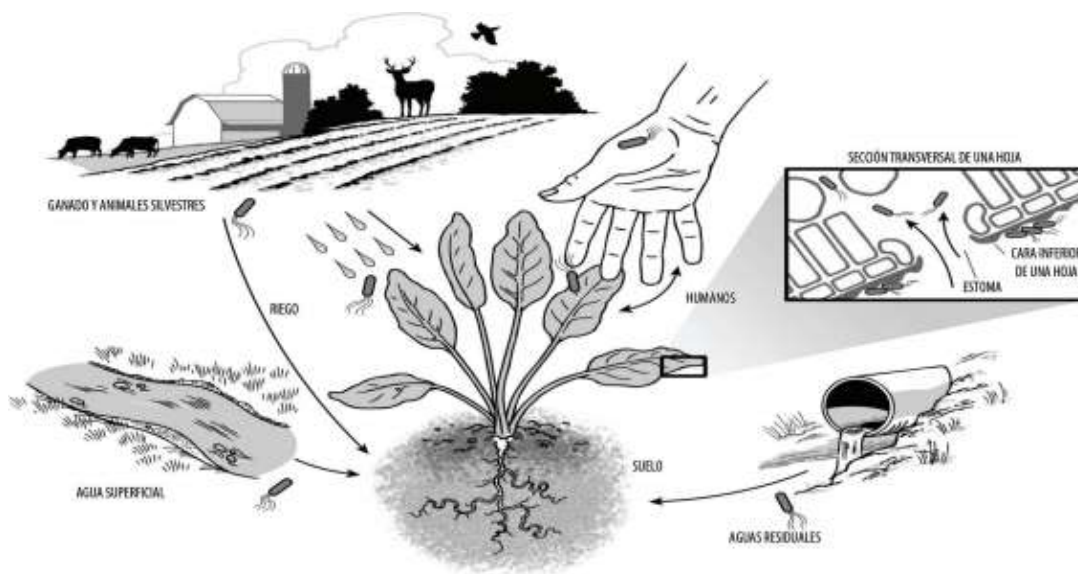
#### **Aerobios mesófilos en frutas y vegetales**

En este grupo se incluyen todas las bacterias, mohos y levaduras capaces de desarrollarse a 30 °C y refleja la calidad sanitaria de un alimento, las condiciones de manipulación, las condiciones higiénicas de la materia prima. La presencia de microorganismos aerobios

mesófilos en los alimentos puede estar directamente relacionada con la manipulación, el estado de frescura o de descomposición del producto y la temperatura de conservación del producto. Un número relativamente bajo de estas bacterias no es sinónimo de buena calidad bacteriológica del alimento, ya que puede contener microorganismos que producen enterotoxinas o patógenos (Mejía, 2015).

### **Contaminación de los alimentos por microorganismos patógenos**

Desde el punto de vista de salud pública, la calidad microbiológica de las verduras frescas destinadas al consumo crudo es muy importante. Se ha destacado que todos los brotes de enfermedades relacionadas con el consumo de verduras están asociados con la contaminación superficial de estos vegetales por el agente etiológico, como consecuencia de los sistemas de manejo utilizados en el cultivo, tratamiento, embalaje o transporte al mercado (Fasciolo, Gabriel & Meca., 1998; ICMSF, 1981) (Fig. 1).



**Figura 1:** Contaminación microbiana por la interacción de seres vivos y medio ambiente (FAO, 2012).

### **Efecto del suelo y abonos animales**

El uso de abono animal sobre los suelos agrícolas para la producción de hortalizas ha sido tema de debate por la contaminación de las verduras frescas con microorganismos patógenos. Aunque muchos estudios apoyan su uso, debido a que estos abonos son una

buena fuente de macro y micronutrientes, se conoce también que son una fuente conocida de bacterias patógenas transmitidas a los alimentos, por lo que al utilizarlo aumenta la probabilidad de contaminar las verduras (Ingham et al, 2004).

### **Efecto del agua**

La contaminación fecal en los productos agrícolas de consumo humano está relacionada con la calidad microbiológica del agua de riego. La utilización de aguas residuales para el riego de plantaciones es una práctica común en muchos países de América Latina lo que sumado a las intensas precipitaciones fluviales y el descontrol de los ríos, aumentan el riesgo de contaminación en la producción agrícola de la zona. El agua actúa como fuente de infección debido a que podría transportar materia fecal con microorganismos patógenos, excretados por personas enfermas o portadores sanos. Entre las bacterias patógenas de mayor interés en aguas residuales sin tratar se encuentran *E. coli* y *Salmonella spp* (Muñoz, 2005).

### **Enfermedades producidas por la ingesta de alimentos contaminados**

La Segunda Conferencia Internacional FAO/OMS sobre Nutrición (ICN2), celebrada en Roma en noviembre de 2014, reiteró la importancia de la inocuidad de los alimentos para lograr una mejor nutrición humana a través de una alimentación sana y nutritiva. La mejora de la inocuidad de los alimentos constituye pues un elemento clave para avanzar hacia la consecución de los Objetivos de Desarrollo Sostenible. Los gobiernos deben elevar la inocuidad de los alimentos al rango de prioridad de salud pública, estableciendo y aplicando sistemas eficaces en materia de inocuidad de los alimentos que permitan asegurar que los productores y proveedores de productos alimenticios a lo largo de toda la cadena alimentaria actúen de forma responsable y suministren alimentos inocuos a los consumidores (OMS, 2015). La contaminación de los alimentos puede producirse en cualquiera de las etapas del proceso de fabricación o de distribución de alimentos, aunque la responsabilidad recae principalmente en el productor.

Las enfermedades transmitidas por los alimentos son generalmente de carácter infeccioso o tóxico y son causadas por bacterias, virus, parásitos o sustancias químicas que penetran

en el organismo a través del agua o los alimentos contaminados. Los patógenos de transmisión alimentaria pueden causar diarrea grave o infecciones debilitantes, como la meningitis. La contaminación por sustancias químicas puede provocar intoxicaciones agudas o enfermedades de larga duración, como el cáncer. Las enfermedades transmitidas por los alimentos pueden causar discapacidad persistente y muerte. Algunos ejemplos de alimentos insalubres son los alimentos de origen animal no cocinados, las frutas y hortalizas contaminadas con heces y los mariscos crudos que contienen biotoxinas marinas (OMS, 2015)

Entre los patógenos de transmisión alimentaria más comunes, figuran *Salmonella*, *Campylobacter* y *Escherichia coli* enterohemorrágica. Estos microorganismos afectan a millones de personas cada año, a veces con consecuencias graves o mortales. Por ejemplo, *Escherichia coli* enterohemorrágica se asocia con el consumo de leche no pasteurizada, carne poco cocida y frutas y hortalizas frescas, puede provocar fiebre, dolores de cabeza, náuseas, vómitos, dolores abdominales y diarrea (OMS, 2015).

Según la revisión de la Unión Europea del 2016 existen límites permisibles tanto de metales pesados como de contaminación microbiana como se detalla en la Tabla 1.

**Tabla 1.** Límites permisibles de metales pesados y enterobacterias en alimentos (UE, 2005).

<b>Metal</b>	<b>Contenido máximo</b>	<b>Metal</b>	<b>Contenido máximo</b>
Mn	5 ppm	As	0,1 ppm
Hg	0,01 ppm	Cu	10 ppm
Cd	Frutas: 0,05 (mg/Kg peso fresco), Hortalizas: 0,20 (mg/Kg fresco)	Zn	5 ppm
Cr	0,10 ppm	Pb	Hortalizas 0,30 (mg/Kg fresco), Frutas 0,10 (mg/Kg fresco)
Ni	5 ppm	V	No en frutas y hortalizas
<b>Grupo microbiano</b>		<b>ufc/g</b>	
Enterobacterias - Coliformes		10 <sup>2</sup> – 10 <sup>4</sup>	
Aerobios y mesófilos		10 <sup>2</sup> – 10 <sup>5</sup>	

## **2.2 Hipótesis**

### **2.2.1 Hipótesis nula**

La concentración de metales pesados y de microorganismos patógenos no exceden los límites recomendados por normas nacionales o internacionales.

### **2.2.2 Hipótesis alternativa**

La concentración de metales pesados y de microorganismos patógenos si exceden los límites recomendados por normas nacionales o internacionales.

## **2.3 Señalamiento de variables**

Cuantificación de metales pesados en muestras de frutas y vegetales frescos distribuidos en la ciudad de Ambato.

Evaluación de la calidad microbiológica de agua de regadío, suelo, frutas y vegetales frescos a partir de su contenido de enterobacterias y aerobios mesófilos totales.

## CAPÍTULO III

### MATERIAL Y MÉTODOS

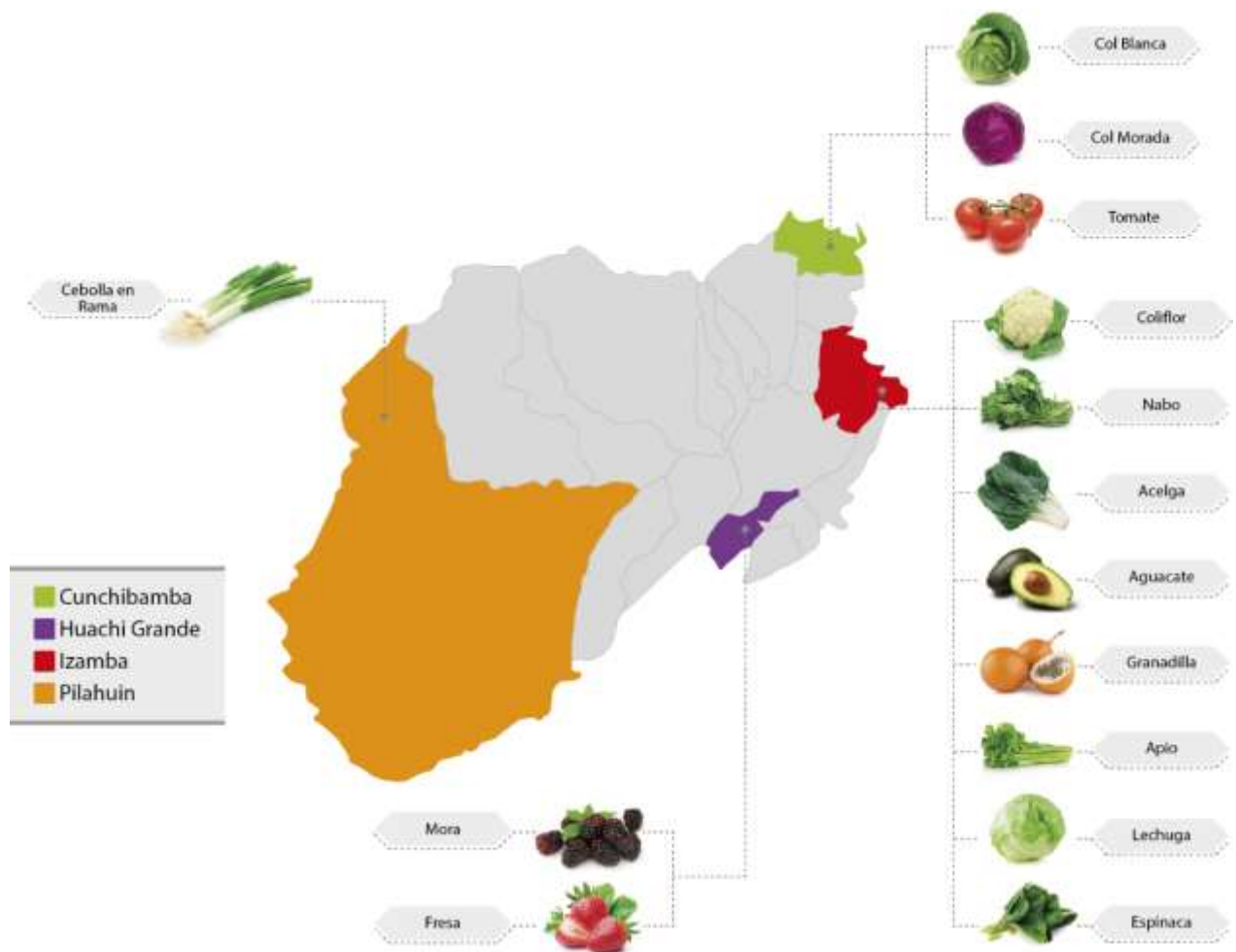
#### 3.1 Toma de muestras

La recolección de las frutas y vegetales se realizó durante 12 meses, a intervalos de 3 meses (Abril, Julio y Octubre del 2016). Las muestras fueron recolectadas durante la cosecha de tres puntos geográficos del terreno utilizando geolocalización (Tabla 2) con el fin de disponer de una muestra homogénea y representativa. Durante el ensayo se llevó un registro de los agricultores que colaboraron con el estudio, así como de las condiciones climáticas al momento de la toma de muestras. Además, se recolectaron muestras de agua de regadío y de suelo de cultivo para posteriormente relacionar los resultados con los obtenidos en las muestras de alimentos. Todas las muestras, se etiquetaron y trasladaron al laboratorio para ser analizadas el mismo día.

Los productos provenientes de los sectores de Cunchibamba, Huachi Grande, Pilahuín e Izamba (Fig. 2), seleccionados para la investigación fueron: fresa (*Fragaria ananassa*), mora (*Rubus ulmifolius*), granadilla (*Passiflora ligularis*), aguacate (*Persea americana*), nabo (*Brassica rapa pekinensis*), lechuga (*Lactuca sativa*), acelga (*Beta vulgaris*), col blanca (*Brassica oleracea* var. capitata), col morada (*Brassica oleracea* var. capitata f. rubra), coliflor (*Brassica oleracea* var. botrytis), apio (*Apium graveolens*), tomate (*Solanum lycopersicum*), cebolla blanca (*Allium fistulosum*) y espinaca (*Spinacia oleracea*).

**Tabla 2:** Coordenadas geográficas de la toma de muestras.

Muestra	Coordenadas Geográficas	Muestra	Coordenadas Geográficas
Acelga	1°13'17''S 78°33'03''W	Col blanca	1°13'08''S 78°35'10''W
Espinaca	1°13'17''S 78°34'06''W	Col morada	1°13'09''S 78°35'11''W
Lechuga	1°13'18''S 78°34'26''W	Tomate	1°09'04''S 78°35'22''W
Nabo	1°13'17''S 78°33'03''W	Coliflor	1°13'28''S 78°35'15''W
Granadilla	1°14'01''S 78°33'08''W	Fresa	1°18'24''S 78°38'26''W
Aguacate	1°14'10''S 78°33'19''W	Mora	1°19'08''S 78°39'14''W
Apio	1°14'33''S 78°35'30''W	Cebolla	1°22'14''S 78°40'47''W



**Figura 2.** Mapa del Cantón Ambato con su división parroquial y señalamiento de los lugares de dónde se recolectaron las muestras vegetales.

### 3.2 Propiedades fisicoquímicas

#### Color

Para la determinación de los parámetros de color se utilizó un colorímetro MiniScan EZ (Hunter Lab, Reston, PA, EE.UU). El equipo fue calibrado con un disco de referencia de color blanco y negro ( $X = 80,4$ ;  $Y = 85,3$ ,  $Z = 91,5$ ) utilizando un iluminador D-65 con un estándar observador a  $10^\circ$ . Los resultados, en valores de  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  (sistema CIE LAb) se obtuvieron de la superficie del material fresco, en al menos 15 muestras de material vegetal homogenizado, una vez tomados los quince datos se obtuvo la media aritmética y la desviación estándar.

## **Humedad**

Se determinó utilizando el método oficial 934.01 (AOAC, 2000), en donde 10 gramos la muestra homogenizadas en cápsulas de porcelana previamente taradas se colocaron al interior de una estufa de secado VWR (Scientific Inc, Radnor PA, EE.UU.) a una temperatura de 100-105 °C durante 24 horas. Una vez que el peso se estabilizó, se volvió a pesar la muestra. El contenido de humedad de la muestra se calculó por diferencia de peso y se expresó como porcentaje (%) de humedad (g de H<sub>2</sub>O/100 g de muestra):

$$\% \text{Humedad} = \frac{M_a - M_b}{M_a - M} \times 100 \%$$

Donde:

M = masa en gramos de la capsula

M<sub>a</sub> = masa en gramos de la capsula y la muestra fresca.

M<sub>b</sub> = masa en gramos de la capsula y la muestra seca

## **Cuantificación de Metales pesados**

### **Sistema de digestión asistido por microondas**

Para digerir la muestra vegetal seca y finamente pulverizada se utilizó un sistema de digestión de presión asistida por microondas (TOPwave, AnalytikJena - Alemania). Se pesó con precisión, aproximadamente 1,0 g de muestra, y se la colocó en los recipientes de digestión. Se añadieron 20 ml de agua regia, se cerraron herméticamente los reactores y se calentaron a 200 °C en el sistema de microondas durante 20 minutos. Después de enfriar, las muestras se filtraron a través de papel de filtro para eliminar cualquier material sólido residual. El filtrado se recogió en matraces volumétricos de 100 ml, se diluyó con agua desionizada y se analizó mediante la técnica AAS.



### **Espectrofotometría de absorción atómica (AAS)**

Para la determinación de los metales se usó un espectrofotómetro de absorción atómica de alta resolución equipado con una lámpara de Xe de arco corto de fuente continua de 300 W (ContraA700, Analytik Jena –Alemania), automuestreador AS52s y módulo de inyección (SFS6), que permite la aspiración continua de muestra en aerosol, manteniendo una temperatura constante del quemador. Los analitos cuantificados fueron Zn, Mn, Hg, Pb, Cd, Cu, Cr, Ni, V y As, a sus respectivas longitudes de onda de máxima sensibilidad. Para cada uno de ellos se realizó su respectiva curva de calibración con estándares de referencia y todos los ensayos se efectuaron por quintuplicado. Este análisis fue desarrollado en las instalaciones de los laboratorios de Investigación de la Carrera de Ingeniería Petroquímica de la Universidad de las Fuerzas Armadas – ESPE, extensión Latacunga, gracias a la colaboración y supervisión del Director del Laboratorio.

### **3.4 Análisis Microbiológico**

#### **Enterobacterias**

Se utilizó la técnica de siembra en profundidad en placa de agar utilizando el medio agar cristal violeta-rojo neutro-bilis-glucosa (VRBG) (Acumedia, Neogen, México), según lo establece la norma ecuatoriana (INEN 1529-13), para control microbiológico de los alimentos. La temperatura de incubación fue de  $37 \pm 1$  °C. Para ello se pesaron 5 g de material vegetal previamente homogenizado y se colocaron en una bolsa de filtración (Seward classic 400 de stomacher bb system, Londres, Reino Unido), junto con 45 ml de agua peptonada estéril durante 1 min., a 260 rpm. Se realizaron diluciones sucesivas y se sembró en profundidad, 1 ml de cada dilución. Las placas inoculadas se incubaron a 37°C durante 24 h – 48 h. Para el recuento de colonias, una vez transcurrido el período de incubación, se tomaron las placas y se examinaron con luz transmitida, se contaron todas las colonias púrpura, rodeadas generalmente de un precipitado también de color púrpura con ayuda de un contador de colonias.

## **Aerobios totales**

Se utilizó el medio de cultivo de Tripteína Soya Agar (TSA) (Acumedia, Neogen, México) siguiendo lo establecido en la Norma INEN 1529-5, tal como se describió en el apartado anterior pero esta vez se realizó una siembra en superficie con 100 µl de la dilución respectiva de cada muestra y se incubó por un período de 48 a 72 horas a 30 °C. Se contaron las colonias de color blanco con ayuda de un cuenta colonias.

En todos los casos, el cálculo de concentración en ufc/g (unidades formadoras de colonias/gramo de muestra) se realizó en aquellas placas donde el número de colonias estuvo entre 25 a 250 utilizando la siguiente fórmula:

$$\frac{ufc}{g} = \frac{N * FD * Vt}{Vi * S}$$

Donde:

**UFC**= unidades formadoras colonias por g de muestra.

**N**= Número de colonias

**FD**= Factor de dilución. Dilución en la cual se contó N

**Vt**= Volumen de la dilución 1/10, en mililitros

**Vi**= Volumen inoculado, en mililitros

**S**= Cantidad de suelo utilizada para preparar la dilución 1/10

Y para el agua de regadío con la siguiente formula:

$$\frac{UFC}{ml} = \frac{N * FD}{Vi}$$

Donde:

**UFC**= unidades formadoras colonias por g de muestra.

**N**= Número de colonias

**FD**= Factor de dilución. Dilución en la cual se contó N

**Vi**= Volumen inoculado, en mililitros

### **Análisis de resultados**

Para el análisis de los resultados obtenidos durante los tres meses de toma de muestras, se utilizó un muestreo simple. Los análisis en cada muestra se realizaron al menos por triplicado, se obtuvo una media y una desviación estándar de los datos, dicha media se utilizó para su comparación entre muestras y para determinar si existió o no diferencia significativa entre las muestras. Se utilizó el programa estadístico GraphPad Prism 6 donde se realizó el ANOVA y pruebas de Tukey al 95%.

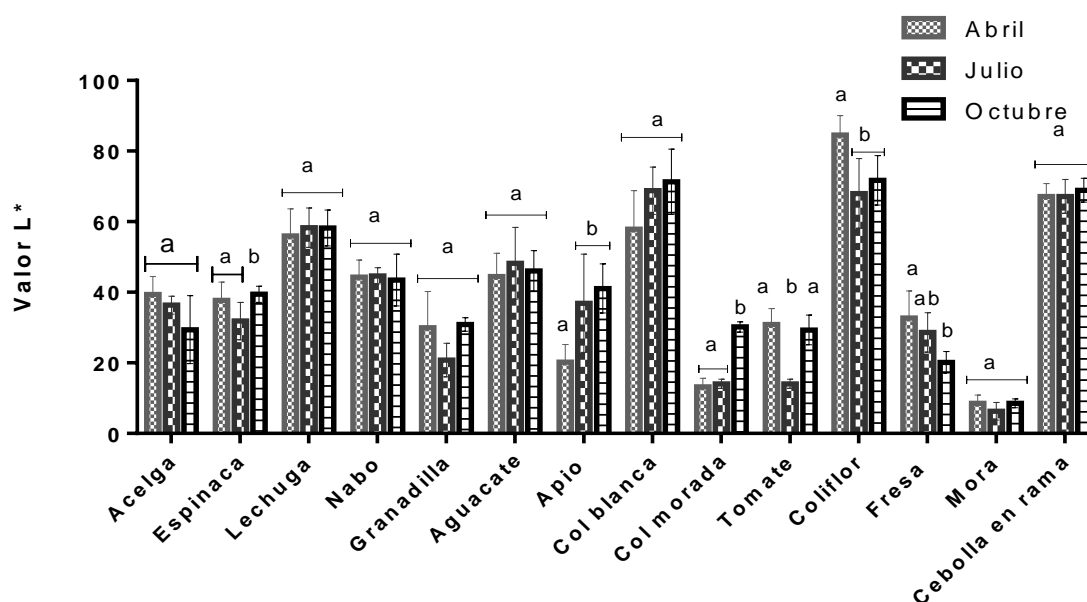
## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 4.1 Análisis y discusión de resultados

##### 4.1.1 Resultados obtenidos de color en escala CIELAB

En la Figura 3 se observan los valores obtenidos de los tres meses de muestreo. El valor de luminosidad de las muestras de lechuga, col blanca, coliflor y cebolla excede a 50 debido a que son colores blanquecinos y claros, los colores verdes representan un punto medio entre 30 y 40, mientras que los colores rojos y morados están por debajo de 20. En las muestras de acelga, no se obtuvieron diferencias significativas y los resultados son similares a los de la literatura (32-38) (Cajamar, 2014). En la espinaca, si existieron diferencias significativas respecto al mes de octubre, este hecho puede estar asociado a que las muestras recolectadas fueron de otra variedad de semillas. En la lechuga no existieron diferencias significativas entre los tres valores obtenidos y están acordes a los presentados por la literatura (50-69) (Martin et al., 2005). Para el nabo se obtuvieron valores de  $L^*$  mayores a 42. En este caso los resultados fueron similares a los documentados en la literatura ( $> 40$ ) (Cajamar, 2014). En las muestras de granadilla no se encontraron diferencias significativas y se obtuvieron valores de 30,00, 30,88 y 20,80 que coinciden con lo observado por Serpa (2015) de 31,77; el valor de 20,88 puede deberse al grado de madurez de la fruta.

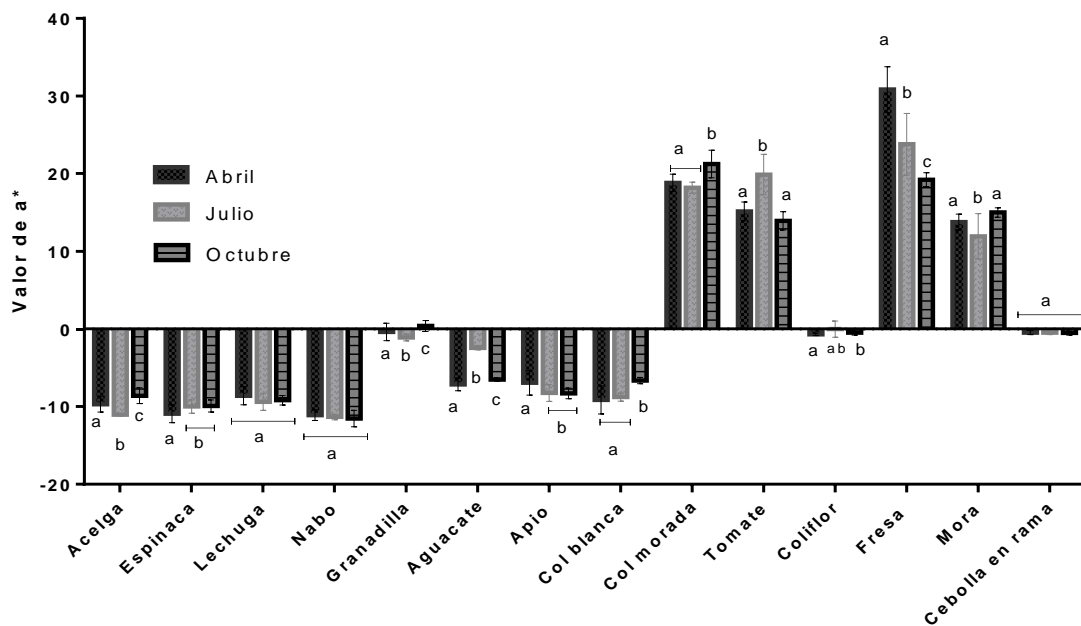


**Figura 3.** Valores obtenidos de luminosidad ( $L^*$ ) en cada una de las muestras analizadas.

En el aguacate no se encontraron diferencias significativas entre las muestras, valores entre 44, 46 y 48 de la pulpa son comparables con los datos de la literatura (50) (Velásquez, 2013). En el apio existieron diferencias significativas con el valor obtenido en el mes de abril, esto se atribuye específicamente al grado de madurez y tipo de planta. Para este caso se analizó los tallos debido a que son la parte comestible, este vegetal presenta variedades de semillas de acuerdo a la guía de verduras de Eroski (2016.a) refiriéndose a la frondosidad de sus hojas las mismas que protegen al tallo haciendo que sea más claro o más oscuro. La coloración de los tallos publicada por el grupo Cajamar (2014) se encuentra entre 20 y 42 lo que significa que los valores obtenidos se encuentran en rangos adecuados. En el caso de la col blanca, morada, los valores observados fueron similares a los de la literatura (Cajamar, 2014). Las muestras de coliflor, mora, fresa y cebolla, los resultados fueron similares a los documentados en la literatura (Cajamar, 2014; Smith y Scog, 1992 y Florian et al., 2002).

Respecto al parámetro  $a^*$ , se encontraron diferencias significativas en la mayoría de muestras, no así en las muestras de nabo, lechuga y cebolla en rama, posiblemente por grado de madurez de los productos (Fig. 4). El valor de  $a^*$  representa la variación de color desde 60 (rojo) a -60 (verde) (Rollón, 2010). En todos los casos los resultados obtenidos

fueron similares a los presentados en la literatura: acelga (-8,62), lechuga (-3,52 y -8,12) nabo (-10), aguacate (-15), apio (-8,5), col blanca (-9,47), col morada (19), el tomate (18), fresa (30) y mora (17) (Smith y Scog, 1992; Florian et al., 2002; Martin et al., 2005; Velásquez, 2013; Cajamar, 2014 & Tapia, 2015). En el caso de la granadilla, la coliflor y la cebolla blanca, se obtuvieron valores cercanos a cero por su tendencia al color blanco, los valores de a\* de este tipo de muestras se aproximan al cero por ser un punto medio (Serpa, 2015).



**Figura 4.** Valores para el parámetro a\* obtenidos de cada una de las muestras vegetales frescas analizadas.

Respecto al parámetro b\*, que representa la variación de color entre amarillo (60) y azul (-60) (Rollón, 2010). Con los datos que se observan en la figura 4 se evidencia que existe diferencia significativa entre los valores de todas las muestras lo que se puede atribuir al estado de madurez del producto y debido a que el eje b\* representa colores que no se aprecian a simple vista no se puede asociar a otro factor que pueda producir este cambio de color.

Los valores obtenidos para el parámetro b\* (Fig. 5), fueron comparados de igual manera con investigaciones previas de varios autores de donde se tomó como punto de comparación los valores de b\* para acelga de 18,45 a 22,34 (Cajamar, 2014), la lechuga

(25) (Martin et al., 2005), nabo (27) (Cajamar, 2014), granadilla (3,3) (Serpa, 2015), aguacate (21,8) (Velásquez, 2013), para la col morada los valores están alrededor de  $b^* = -7$ , que es próximo a los datos que se obtuvieron en los meses de toma de muestras (Cajamar, 2014). Para la mora el valor bibliográfico es de 5 (Florian et al., 2002) el cual es similar a los obtenidos en las tres muestras de mora. Finalmente para la cebolla en rama se reporta el valor  $b^*$  de 5,65 (Cajamar, 2014) que al comparar con los datos experimentales (Fig. 5) se encuentra similitud entre ellos.

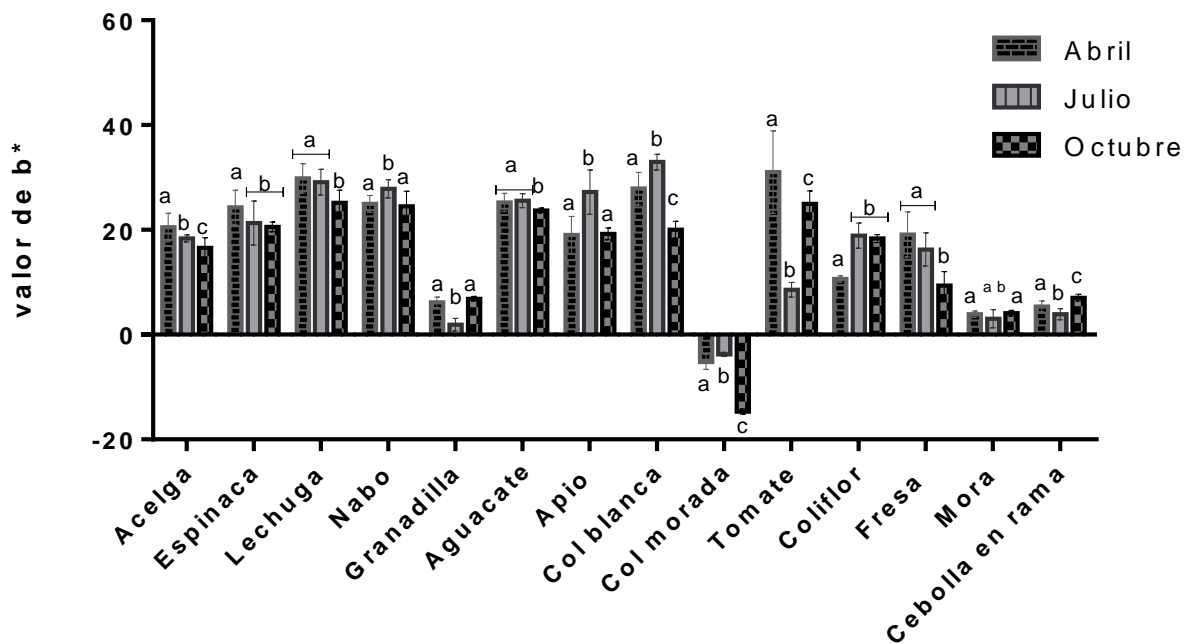


Figura 5. Valores para el parámetro  $b^*$  obtenidos de cada una de las muestras vegetales analizadas.

#### 4.1.2 Humedad

En la figura 6 se muestran los resultados obtenidos en los ensayos de humedad, donde se observa que no existieron diferencias significativas entre las muestras analizadas. La muestra con menor contenido de humedad es el aguacate debido a la presencia de aceite propio de la fruta, por lo que al realizar los ensayos se obtuvo un valor de 62 % que es inferior al resto de muestras, el contenido de humedad del resto de muestras según los ensayos realizados oscilan entre 89 % de la acelga y 95 % de la lechuga.

La humedad de frutas y hortalizas según datos generales (FAO, 1994) se encuentra entre el 85 % y 98%, los datos experimentales estuvieron dentro de este rango (Tabla 3).

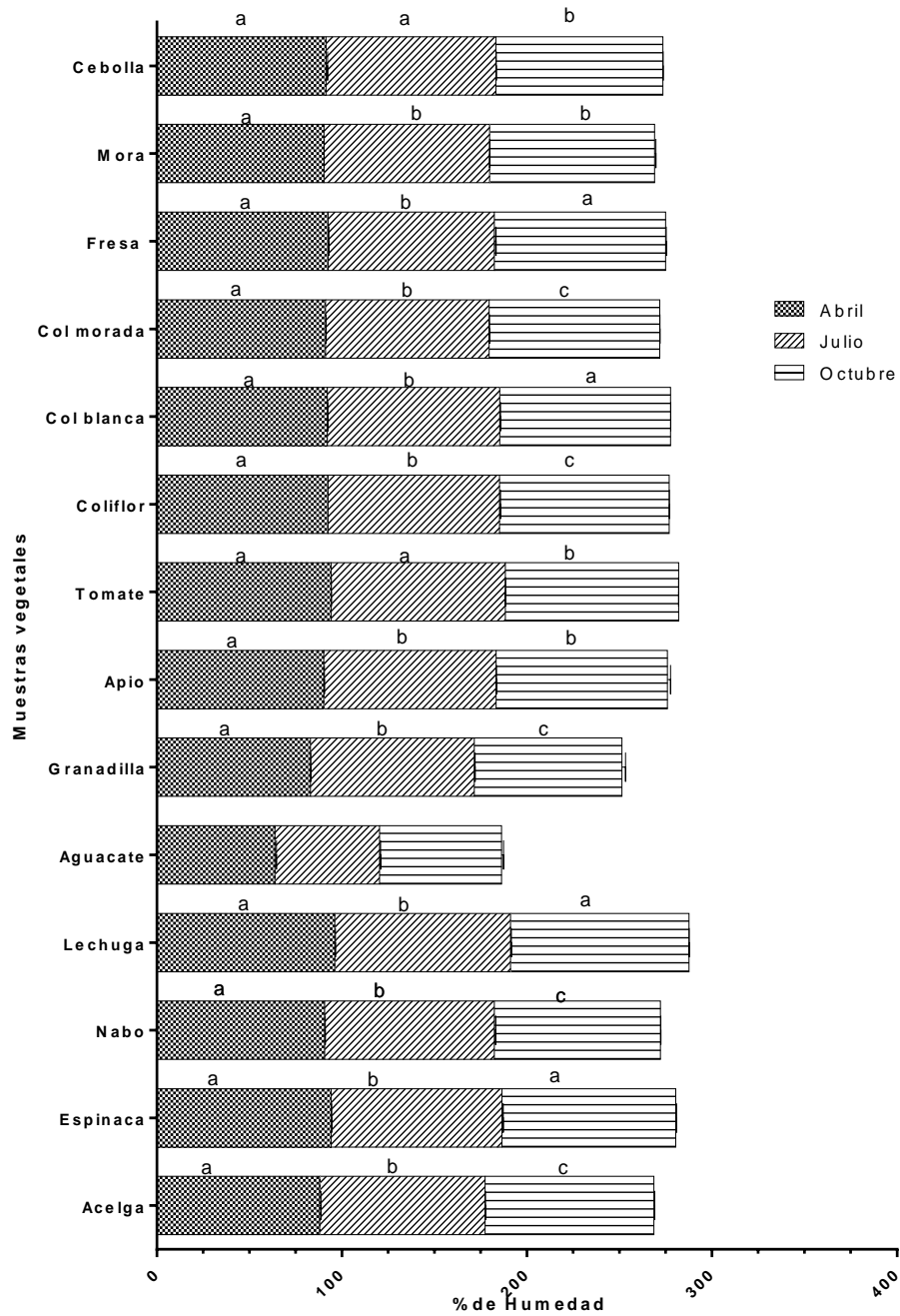


Figura 6. Porcentaje de humedad en cada una de las muestras analizadas.



**Tabla 3:** Humedad documentada por la FAO (1995) (H\*) y la humedad experimental (He), en alimentos vegetales.

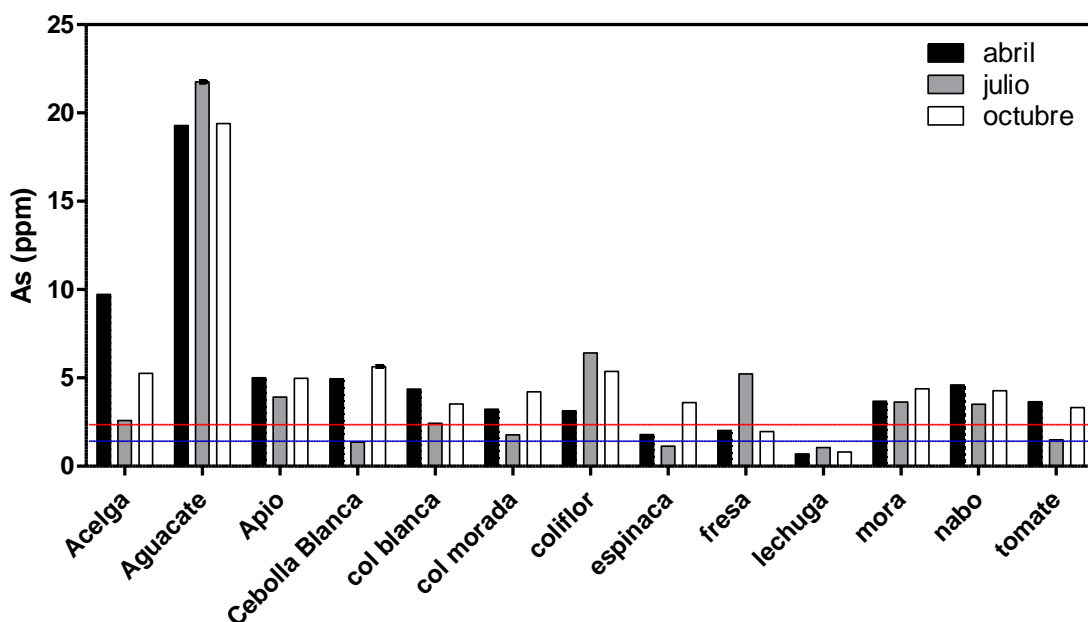
Muestra	H* (%)	He (%)	Muestra	H* (%)	He (%)
Acelga	60-90%	89,55 % ± 1.63	Tomate	85-90%	93,97% ± 1.31
Espinaca	90-98%	93,48% ± 1.45	Coliflor	90-95%	92,27% ± 1.41
Nabo	90%	90,70% ± 1.48	Col blanca	90-95%	92,53% ± 0.82
Lechuga	80-95%	95,86% ± 1.05	Col morada	90-95%	90,57% ± 0.47
Aguacate	68%	62,09% ± 1.64	Fresa	90-95%	91,63% ± 1.23
Granadilla	80%	83,76% ± 1.69	Mora	90-95%	89,66% ± 0.82
Apio	90-95%	91,95% ± 0.96	Cebolla rama	90-92%	91,14% ± 1.40

#### 4.1.3 Contenido de metales pesados

En la experimentación se analizó la presencia de diez metales pesados, de los cuales únicamente As, Cr, Mn y Zn se encontraban en rangos cuantificables. Los resultados están expresados en partes por millón (ppm) en mg/ Kg en base húmeda. Respecto al contenido de arsénico (As), en la Figura 7 se pueden observar los resultados obtenidos después de analizar cada muestra. La mayor parte de las muestras no se encuentran dentro del rango permitido por la FAO (Viswanath, 2012), si bien, el límite permisible de arsénico en alimentos es de 1,27 ppm para vegetales y 2,20 ppm para frutas (Viswanath, 2012), únicamente la lechuga y la granadilla estarían dentro del rango permitido. El arsénico es un elemento que puede ingresar a los alimentos por vías como la ceniza volcánica, el agua, el suelo y los pesticidas (FDA, 2016). La provincia de Tungurahua se ve influenciada por la presencia de dos volcanes, el Tungurahua y el Cotopaxi, la alta concentración de este metal podría estar relacionada con este factor, algunos estudios han establecido que la presencia de volcanes incide directamente en un incremento en la concentración de arsénico en un 180% a 400% más (Queirolo et al., 2000). Según datos del Instituto Geofísico Ecuatoriano, el volcán Tungurahua estuvo en actividad volcánica durante los meses de abril y Septiembre (IG., 2016), lo que podría explicar la mayor concentración de As en las muestras durante estos períodos (Fig. 7).

Otro factor importante, que podría intervenir en los resultados obtenidos, es la aplicación de insecticidas con base en arsénico o fósforo debido a que estos últimos provocan la acumulación de Arsénico en los tejidos vegetales, son comunes en el país por su eficiencia

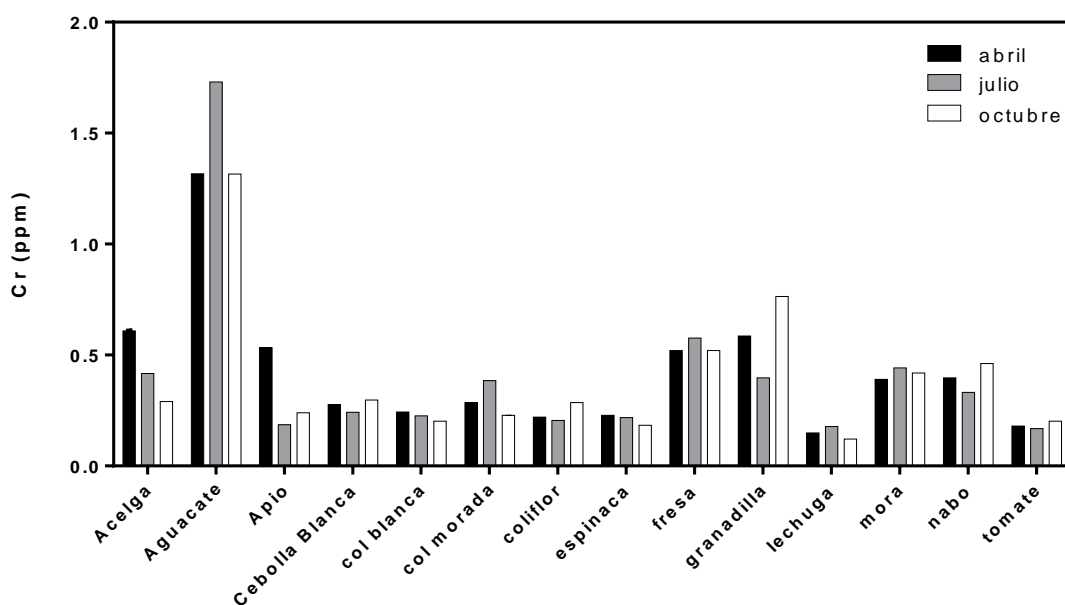
contra una gran diversidad de plagas, algunos de estos productos se consideran de alta toxicidad y han sido prohibidos en los Estados Unidos según la Agencia de Protección Ambiental (EPA, 2015) debido a normas gubernamentales, pero en la mayoría de países hispanos se los sigue comercializando con facilidad. En Ecuador se han prohibido varios de los pesticidas con arseniato de cobre pero no prohíbe otro tipo de compuestos arsenicales (Agrocalidad, 2014), éste hecho podría contribuir a la concentración de arsénico en los alimentos analizados. El aguacate, por ejemplo, está compuesto por lípidos y, susceptible al ataque de insectos, los compuestos arsenicales y fosforados utilizados para control de plagas son solubles en lípidos (Basaure. 2005) y podrían repercutir negativamente en la concentración de As encontrada (Fig. 7).



**Figura 7.** Contenido de arsénico (As, ppm) en las muestras vegetales analizadas. Límite máximo de As en vegetales (línea azul) y frutas (línea roja).

Respecto a la ingesta de arsénico, la EPA (EPA, 2015) ha establecido como seguro el consumo de 0,50 mg As y 2,66 mg As al día, incluyendo la cantidad presente en el agua, mientras que la Unión Europea estableció cantidades de 0,3 y 8 mg al día (Eroski, 2016. b), al considerar estos valores, la concentración de arsénico en el aguacate resultaría tóxica al consumir apenas 300 g/día. El resto de los productos analizados se consideran como seguros.

Los resultados de la concentración de cromo en las muestras analizadas se presentan en la Figura 8. Los resultados indican que el contenido de cromo va desde 0,12 hasta 1,73 mgCr/Kg. Existieron diferencias significativas incluso entre los meses de estudio. El aguacate fue la muestra que mayor concentración de cromo, seguido por la granadilla, la fresa y la acelga, resultados similares fueron encontrados por Jedrzejczak, (2005). Muchas de las muestras analizadas, como cebolla, espinaca y lechuga, son ricas en cromo, sin embargo se debe monitorear su contenido. Las muestras de fresa y mora fueron tomadas del sur de la ciudad de Ambato en la parroquia Huachi Grande, posiblemente la concentración de cromo en estas frutas se deba a alguna industria cercana que permanentemente vierta sus efluentes en agua destinada para regadío.



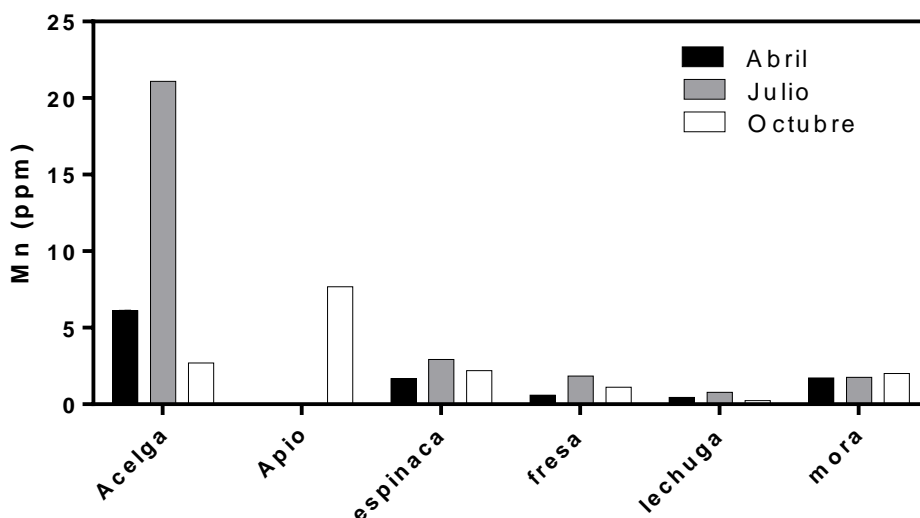
**Figura 8.** Contenido de cromo (ppm) en las muestras vegetales analizadas.

Los resultados de la determinación del contenido de cromo en los productos alimenticios analizados en algunas muestras son más altos que los presentados en la literatura que es de 0.10ppm, debido a posibles fuentes como la contaminación, por la presencia de curtidurías aledañas a las zonas de recolección. Además algunas de las técnicas y métodos para la determinación de cromo no son lo suficientemente sensibles, esto fue confirmado

por el Comité de la AOAC, que promueve Métodos analíticos oficiales. Teniendo en cuenta los resultados de estudios previos y de los progresos en la investigación, se recomienda el uso de AAS con un horno de grafito para la determinación de Cr en los alimentos (Jedrzejczak, 2005).

La cantidad máxima de consumo de cromo al día se encuentra establecida en 35 mg (EPA, 2015), esto indica que las concentraciones encontradas en las muestras no representan un riesgo para la salud.

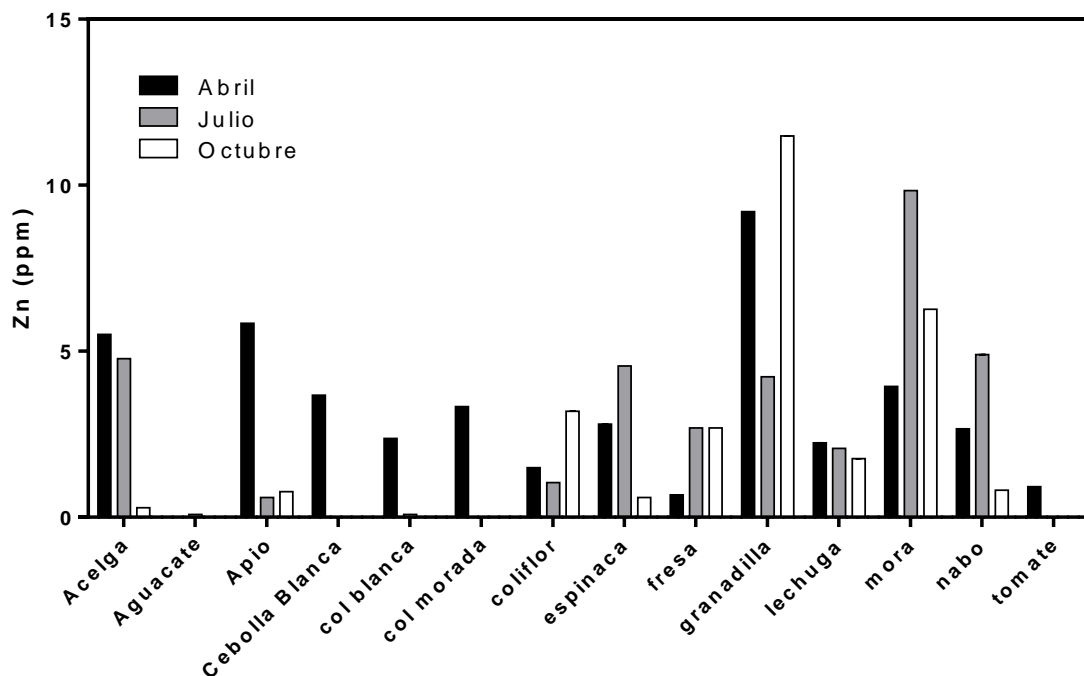
En la Figura 9 se presentan los resultados obtenidos para el contenido de manganeso en las muestras analizadas. El límite permisible es de 5ppm y seis de las muestras sobrepasaron este límite. La acelga es la que presentó los valores más altos en comparación con el resto de las muestras. El manganeso es un cofactor de la hidrolasa, descarboxilasa y enzima transferasa. Está involucrado en la síntesis de glicoproteínas y proteoglicanos y es un componente de la superóxido dismutasa mitocondrial. El manganeso es parte de las enzimas involucradas en la formación de urea, el metabolismo del piruvato y la galactotransferasa de la biosíntesis del tejido conectivo. Algunos autores determinaron los valores de 4,649 ppm de concentración de manganeso; para muestras de fresas, éste y otros valores están, en su mayoría, acordes con los resultados obtenidos por otros investigadores (Tinggi et al., 1997).



**Figura 9.** Contenido de manganeso (ppm) en las muestras vegetales analizadas.

El manganeso llega al ser humano a través de la dieta que a su vez está relacionada con la absorción por las plantas, éstas toman el Mn de los sedimentos de suelos, sin embargo es una sustancia propia de legumbres de hojas de color verde oscuro. La presencia de este metal se debe a la calidad de agua de regadío, a características propias del suelo y a efluentes industriales (ATSDR, 2016). El consumo diario de manganeso es de 2,3 mg para personas adultas (EPA, 2015), al hacer un análisis de un consumo de 300 g de acelga y apio, podrían representar un peligro para la salud.

En la figura 10 se observa que las cantidades presentes de zinc son admisibles, puesto que los alimentos con este metal benefician la salud. De lo observado, la concentración de Zn en las verduras refuerza su abundancia superando el límite de 5ppm. Se observó que existe una asociación directa entre la deficiencia de zinc y cáncer (Fahad et al., 2015). El consumo diario recomendado es de 11 a 71 mg de Zn al día para personas adultas. El zinc ha jugado un papel protector contra la carcinogénesis y la presencia de grandes cantidades de zinc en todas estas muestras de vegetales indican que serían útiles en el tratamiento del cáncer.



**Figura 10.** Contenido de zinc (ppm) en las muestras vegetales analizadas.

En el estudio realizado por Kumar (2007), en mercados de la India, se observó que la concentración media de Zn fue más alta en todos los vegetales, seguido por Cu, Cd y Pb esto indica que todas las concentraciones exceden los niveles estándar establecidos por la Unión Europea pero no representan un riesgo para la salud ya que no superan los límites permisibles establecidos por la OMS. Sin embargo, un estudio realizado por Turkdogan et al., (2002), en un región de Turquía, puso de manifiesto que las muestras de frutas y vegetales carecían de Zn y sugiere que las frutas y vegetales de la región podrían estar involucrados en deficiencias nutricionales importantes de la población.

#### **4.1.4 Análisis Microbiológico**

Los resultados de los ensayos microbiológicos para presencia de enterobacterias en las muestras vegetales analizadas se presentan en la Figura 11. Los mayores recuentos para enterobacterias se observaron en el mes de octubre, para las muestras espinaca y la lechuga, sin embargo no está directamente relacionado con la calidad del agua de riego pero si con el suelo (Figura 12 y 13 respectivamente). Es una práctica común en agricultura, incorporar abonos a partir de los excrementos de animales. Este hecho puede contribuir en el incremento de las ufc/g de las muestras analizadas pues están más cerca del suelo y su follaje permite que el suelo contaminado quede retenido. En el estudio de Abadias et al. (2008), muestra que las concentraciones microbiológicas en la espinaca también son elevadas por sobre los otros vegetales. De los productos evaluados la mayor cantidad fueron hortalizas que se consumen sin cocción al igual que las frutas y poseen concentraciones mayores a  $10^{-4}$ , un pretratamiento antes del consumo podría disminuir la carga microbiana de los productos pero se tendría que evaluar su eficiencia.

Los límites permisibles de enterobacterias para frutas y vegetales frescos es de  $10^2$  -  $10^4$  ufc/g (UE, 2014), en el presente estudio únicamente la mora, el aguacate y la granadilla se encuentran dentro del rango establecido, el aguacate y la por su corteza dura que evita el contacto directo con el suelo o el agua de regadío. En el estudio de Solomon et al., (2003), se evidencia la presencia de enterobacterias en agua de regadío que, al estar en contacto con cultivos de lechuga, la elevada carga microbiana permanece en el producto, lo que implica que el agua de regadío es un factor importante para la contaminación de cultivos con este tipo de microorganismos.

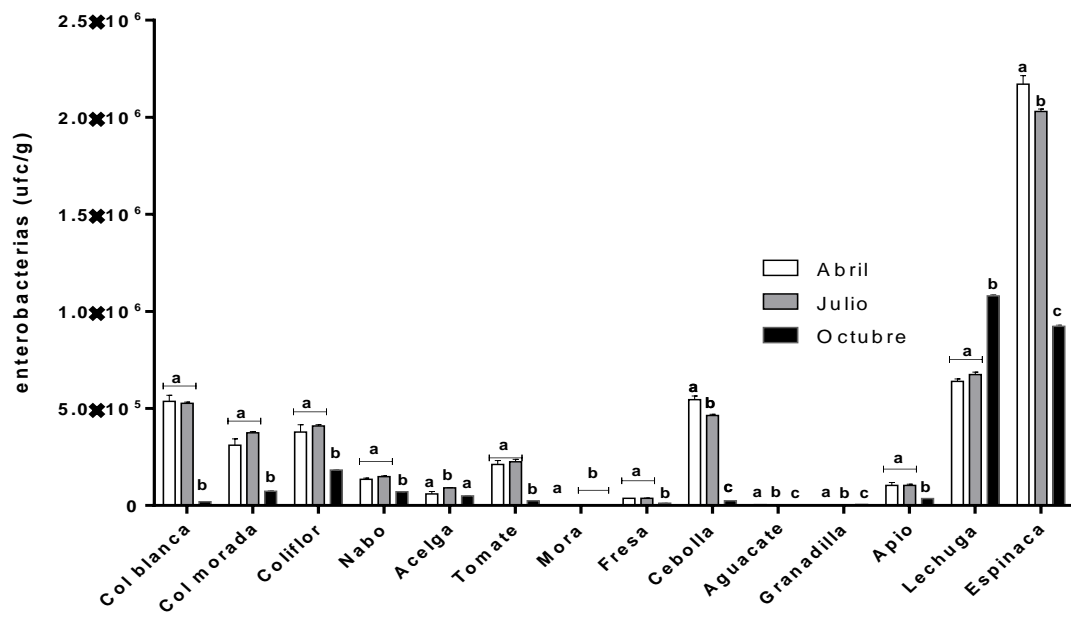


Figura 11. Recuentos de enterobacterias (ufc/g) para cada una de las muestras vegetales analizadas.

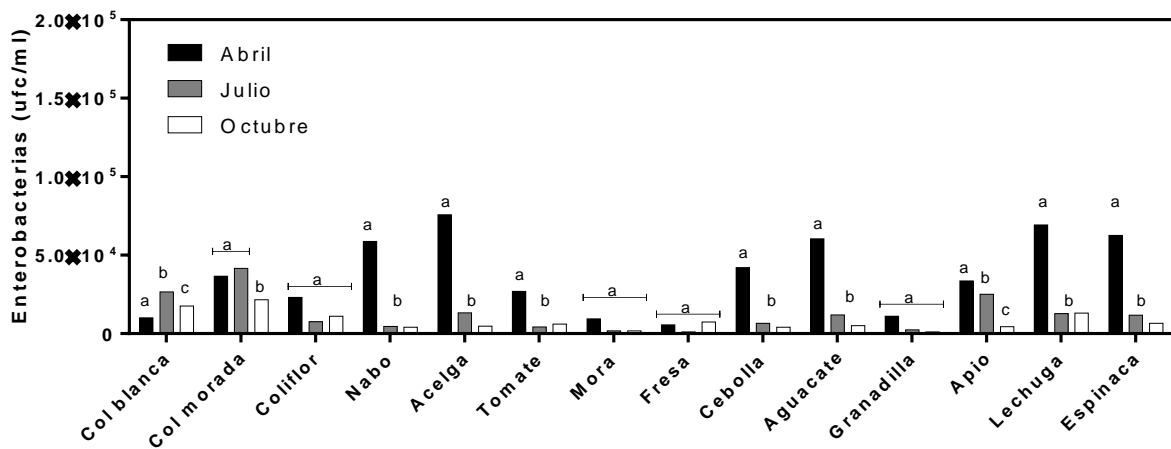
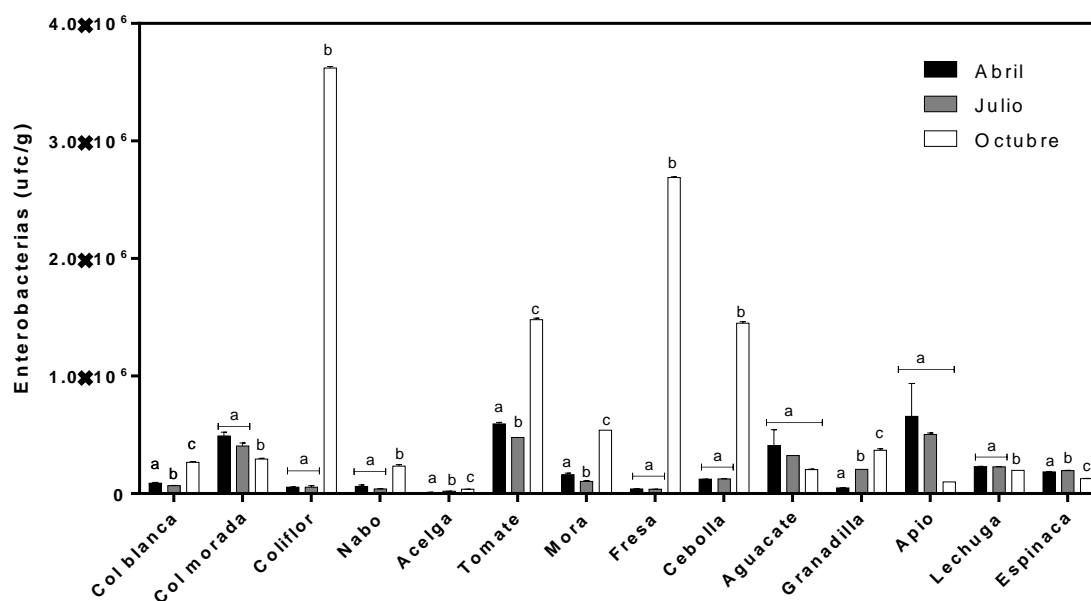


Figura 12. Recuentos de enterobacterias (ufc/ml) en las muestras de agua de riego para cada cultivo.



**Figura 13.** Recuentos de enterobacterias (ufc/g) para las muestras del suelo de cada cultivo.

Respecto al suelo destinado para el cultivo no se los puede relacionar por sectores debido a que cada agricultor usa el suelo para diversos cultivos, por lo tanto, la similitudes de valores se debe a un tratamiento similar, más no al sector donde se encuentra. Los valores son elevados en todos los casos y los factores de contaminación pueden ser varios pero su contaminación se atribuye principalmente a utilizar abonos de origen animal para preparar al suelo con el objetivo de agregar nutrientes que mejoren la calidad de sus productos. Sin embargo, esta práctica provoca incremento de plagas que hace que los agricultores utilicen mayor cantidad de productos químicos para combatirlos (Vázquez, Fernández y Arias, 2010).



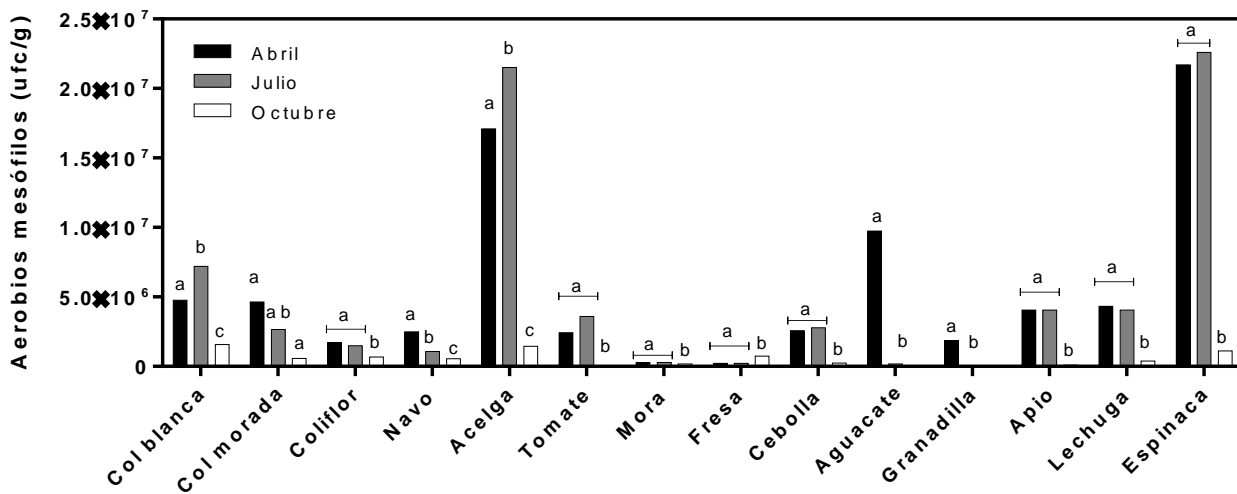


Figura 14. Recuento de aerobios mesófilos (ufc/g) de cada una de las muestras vegetales analizadas

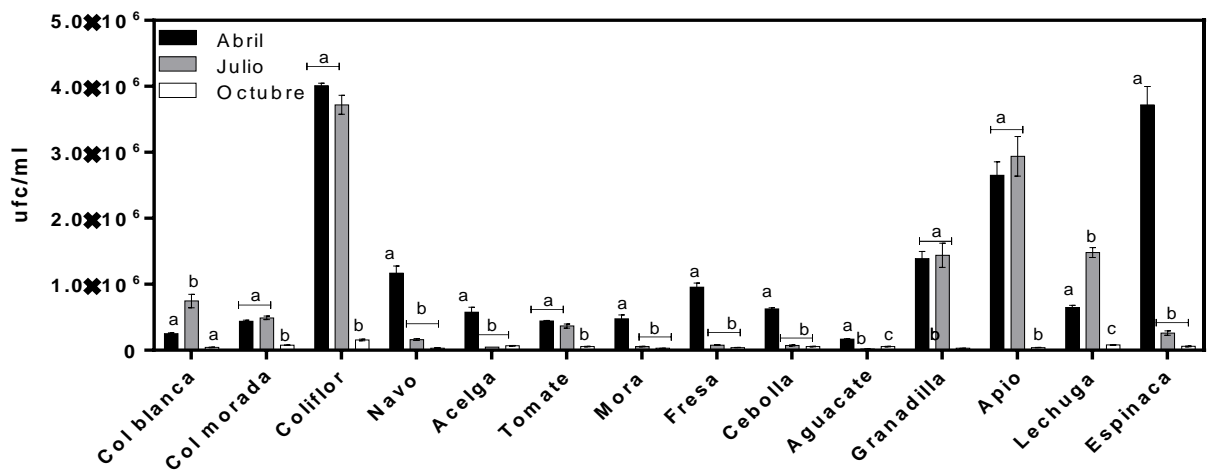
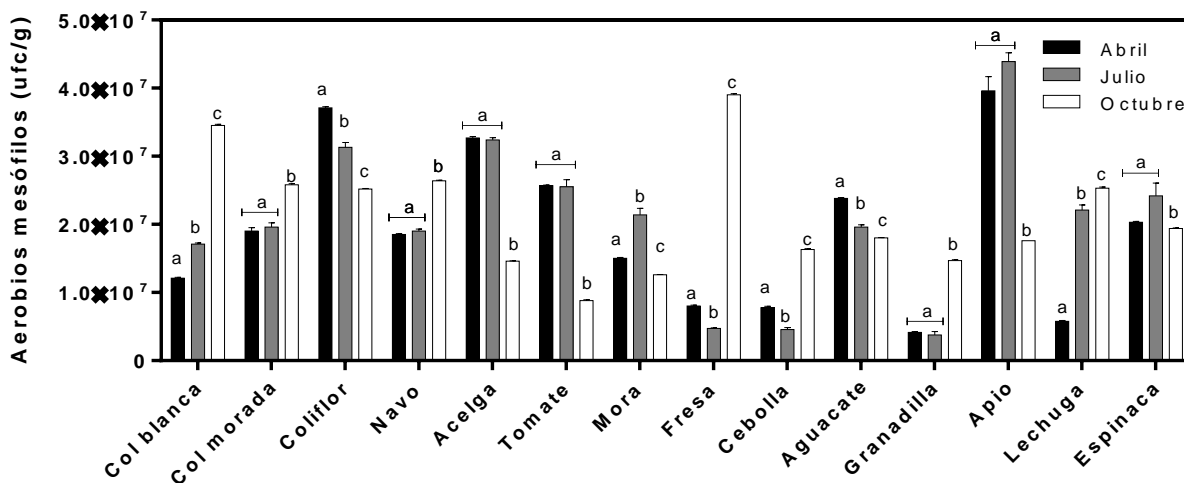


Figura 15. Recuento de aerobios mesófilos (ufc/ml) del agua de riego de cada uno de los cultivos analizados.



**Figura 16.** Recuento de aerobios mesófilos (ufc/g) en cada una de las muestras de suelo analizadas.

En el caso de los microorganismos aerobios mesófilos el límite permisible para este tipo de productos frescos de  $10^2 - 10^5$  ufc/g (UE, 2016), considerando dicho valor ninguno de los vegetales analizados se encuentra dentro de este rango y por tanto no estarían aptos para su consumo si son consumidos sin tratamientos de higienización previos. En el resto de vegetales que son hortalizas tienen una elevada concentración por estar en contacto con el suelo (Barth et al., 2009), las hortalizas presentan grandes cantidades de microorganismos mesófilos debido a que reúnen las condiciones óptimas para su crecimiento.

En el agua no se observó una relación directa como en el caso de las enterobacterias, las concentraciones son elevadas en todos los casos y tienen valores superiores respecto a enterobacterias debido, entre otros factores a la contaminación de los canales de riego y el medio ambiente. Las concentraciones de aerobios mesófilos en el suelo varió en la mayoría de muestras debido a que aunque los suelos son tratados de la misma manera

para cada cosecha, la carga microbiana con la que se colocan los abonos no se controla, por lo que podría variar (Vázquez, Fernández y Arias, 2010).

Las ufc/g de microorganismos encontrados en las muestras vegetales representan las condiciones, en términos de contaminación de patógenos, con las que los vegetales llegan a los centros de comercialización, en este caso al Mercado Mayorista de la ciudad de Ambato, que como se señaló anteriormente distribuye alimentos a toda la región costa y centro de la región sierra. En la Tabla 4 se puede observar que las muestras vegetales de col blanca, nabo, acelga, lechuga y espinaca tienen mayor contenido de enterobacterias que el agua de regadío e incluso que el suelo, lo que podría estar relacionado con las prácticas agrícolas de cosecha y pos-cosecha. Las concentraciones elevadas de microorganismos patógenos en las muestras ponen de manifiesto que el agua de regadío no debería ser apta para su uso en cultivos porque es una fuente de residuos industriales. El uso directo de abonos animales en los suelos antes de sembrar, como un pre-tratamiento, no debería ser una buena práctica agrícola recomendada desde el punto de vista de la seguridad alimentaria.

**Tabla 4.** Comparación de los resultados microbiológicos de las muestras vegetales frente al agua y suelo utilizados para su cultivo.

Muestra	Muestras vegetales		Muestras de agua		Muestras de suelo	
	Enterobacterias	Aerobios-	Enterobacterias	Aerobios-	Enterobacterias	Aerobios-
Col blanca	3,60E+05	4,52E+06	1,80E+04	3,47E+05	1,41E+05	2,12E+07
Col morada	2,52E+05	2,62E+06	3,32E+04	3,36E+05	3,96E+05	2,15E+07
Coliflor	3,24E+05	1,29E+06	1,39E+04	2,63E+06	1,24E+06	3,12E+07
Nabo	1,18E+05	1,38E+06	2,25E+04	4,53E+05	1,11E+05	2,13E+07
Acelga	6,68E+04	1,34E+07	3,13E+04	2,31E+05	2,09E+04	2,66E+07
Tomate	1,54E+05	2,02E+06	1,24E+04	2,89E+05	8,49E+05	2,00E+07
Mora	1,56E+03	2,48E+05	4,30E+03	1,89E+05	2,69E+05	1,64E+07
Fresa	2,85E+04	3,93E+05	4,70E+03	3,58E+05	9,21E+05	1,73E+07
Cebolla	3,44E+05	1,87E+06	1,76E+04	2,53E+05	5,65E+05	9,54E+06
Aguacate	2,54E+03	3,30E+06	2,58E+04	7,96E+04	3,12E+05	2,05E+07
Granadilla	4,08E+03	6,36E+05	4,82E+03	9,55E+05	2,08E+05	7,53E+06
Apio	8,09E+04	2,73E+06	2,10E+04	1,88E+06	4,20E+05	3,37E+07
Lechuga	8,00E+05	2,92E+06	3,16E+04	7,37E+05	2,19E+05	1,77E+07
Espinaca	1,71E+06	1,52E+07	2,69E+04	1,35E+06	1,69E+05	2,13E+07

## **4.2 Verificación de la hipótesis**

Respecto a la concentración de metales pesados se tiene que establecer que existen metales que exceden considerablemente los límites permisibles de concentraciones pero hay otros que no se encuentran debido a que no existen fuentes de contaminación por esos metales como cobre, níquel, cadmio y plomo.

Después de los análisis de metales pesados y pruebas microbiológicas se aceptó la hipótesis alternativa (Hi). La concentración de metales pesados y microorganismos patógenos excede los límites establecidos por la Unión Europea en las muestras vegetales analizadas.

## CAPITULO V

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 5.1 Conclusiones

- Gran parte de los metales pesados analizados estuvieron presentes en los alimentos si bien, muchos son considerados micronutrientes, la presencia de arsénico, particularmente en las muestras de aguacate, estuvo por sobre lo establecido en las normas internacionales y resultaría tóxica al consumir apenas 300 g/día. Respecto al cromo, las concentraciones encontradas en los alimentos no superan los límites de ingesta diaria establecidos y no constituyen un peligro para la salud humana.
- De los ensayos microbiológicos y químicos realizados, los resultados más alarmantes se obtuvieron de los recuentos de enterobacterias, los valores estuvieron por encima  $10^7$  ufc/g, siendo el límite establecido por la norma de  $10^4$  ufc/g.
- Se identificó que una de las principales fuente de contaminación por metales pesados puede ser la cercanía al volcán Tungurahua, las emisiones documentadas en abril y septiembre incrementaron el contenido de arsénico en las muestras recolectadas en esos mismos períodos. Respecto a la contaminación microbiana de los cultivos, la fuente principal fue el suelo, probablemente por el uso de abonos orgánicos de origen animal, seguido del agua, y finalmente la ubicación geográfica por la cercanía a sectores industriales con un sistema de disposición de desechos deficiente.

#### 5.2 Recomendaciones

- No consumir alimentos sin pretratamiento o lavado.
- Realizar un estudio de la concentración de metales pesados en muestras de suelo y agua para diagnosticar la calidad y relacionar con la concentración de las muestras vegetales.
- Realizar un análisis y control de pesticidas presentes en los cultivos especialmente de aquellos que se comercializan y pueden contener metales que perduren en el producto.

- Implementar programas de capacitación a los agricultores y expendedores de los mercados para que los productos que comercializados sean aptos para el consumo humano de acuerdo a normas y reglamentos.

## MATERIAL DE REFERENCIA

### Fuentes de referencia

Abadias. M., Usall. J., Anguera. M., Solsona., C. & Viñas I. (2008). Microbiological quality of fresh, minimally-processed fruit and vegetables, and sprouts from retail establishments. *International Journal of Food Microbiology*, 123. 121–129

Agrocalidad. (s.f.). Listado de plaguicidas prohibidos en Ecuador. Recuperado de: [http://www.agrocalidad.gob.ec/agrocalidad/images/pdfs/registro\\_de\\_insumos/listadoplaguicidasprohibidos.pdf](http://www.agrocalidad.gob.ec/agrocalidad/images/pdfs/registro_de_insumos/listadoplaguicidasprohibidos.pdf) el 2/12/2016.

Alloway, B. (1995). The origin of heavy metals in soils. Editorial blacky academic and profesional. Inglaterra. p. 38-50.

Atafar, Z., Mesdaghinia, A., Nouri, J., Homae, M., Yunesian, M., Ahmadimoghaddam, M. & Hossein A. (2008). Effect of fertilizer application on soil heavy metal concentration. Springer Science en <http://sci-hub.cc/10.1007/s10661-008-0659-x> el 10/08/2016.

ATSDR (Agencia para sustancias tóxicas y el registro de enfermedades). (2016). Resúmenes de Salud Pública - Manganese (Manganese). Recuperado de [https://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es\\_phs151.html](https://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es_phs151.html) el 10/11/2016.

Basaure. P. (2005). Agroquímicos 6: plaguicidas arsénicas. Lombritec. Chile. Recuperado de <http://www.manualdelombricultura.com/wwwboard/messages/8723.html> el 24/08/2016.

Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, 12 de Abril del (2012). Beneficiosa la ceniza volcánica para suelos y plantas. Boletines BUAP.

Cabezas, J. Alonso, J., Pastor, J., Sastre, I. & Lobo, M. (2004). Absorción y acumulación de metales pesados en tres especies vegetales en suelos enmendados con lodos de depuradora. INIA (Instituto Nacional de Investigación Agraria), Madrid – España. Disponible en: [http://digital.csic.es/bitstream/10261/52285/1/absorcion\\_yacu2004852.pdf](http://digital.csic.es/bitstream/10261/52285/1/absorcion_yacu2004852.pdf). Recuperado el 10/04/2016

Cajamar. (2014). Parámetros de calidad externa en la industria agroalimentaria. N° 003.

EPA. (2015). Pesticidas arsenicales. Recuperado de <https://espanol.epa.gov/sites/production-es/files/2015-09/documents/spch14.pdf> el 4/11/2016.

Eroski Consumer. (2016 a). Guía práctica de verduras: apio. Recuperado de <http://verduras.consumer.es/apio/introduccion> el 12/11/2016.

Eroski Consumer. (2016 b). Límites de consumo para el arsénico. Recuperado de: <http://www.consumer.es/seguridad-alimentaria/ciencia-y-tecnologia/2009/11/04/188970.php> el 07/07/2016

Fahad, S., Islam, A., Ahmed, M., Uddin, N., Alam, M., Alam, M. & Abedin, M. J. (2015). Determination of Elemental Composition of Malabar spinach, Lettuce, Spinach, Hyacinth Bean, and Cauliflower Vegetables Using Proton Induced X-Ray Emission Technique at Savar Subdistrict in Bangladesh. *BioMed Research International*, 2015, 128256. <http://doi.org/10.1155/2015/128256>

Falco, G. Nadal M., Llobet J. & Roig J. (2012). Riesgo tóxico por metales presentes en los alimentos: Toxicología alimentaria. Ediciones Díaz de Santos. España, 15-20

FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación). (1994). Manual de calidad de control de alimentos. Roma Recuperado de <http://www.fao.org/3/a-t0702s.pdf> el 02/06/2016.

FAO, (2012). Contaminación de alimentos por agentes microbianos. Recuperado de <http://www.fao.org/3/a-a0369s.pdf> el 12/11/2016.

FAN (Fundación Argentina de Nutrición). (2009). Beneficios de las verduras de hoja verde. Recuperado de <http://www.fanutricion.org.ar/shop/detallenot.asp?notid=12> el 10/08/2016.

FDA. (2016). Arsenic. Recuperado de <http://www.fda.gov/Food/FoodborneIllnessContaminants/Metals/ucm280202.htm> el 12/12/2016

Fasciolo, G., Gabriel, E. & Meca, M. (1998). Riego con efluentes tratados: Aceptabilidad sanitaria para un cultivo de ajo. *Memorias del XXVII Congreso Interamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental*. Brasil



Florian, C., Stintzing A., S. Stintzing , Reinhold C., Balz, F. & Ronald E. (2002). Color and Antioxidant Properties of Cyanidin-Based Anthocyanin Pigments. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50 (21), pp 6172–6181. DOI: 10.1021/jf0204811

Grant, W. & Long P. (1999). *Microbiología Ambiental*. Editorial Acribia, S.A. Madrid-España. pp. 189-195.

Huang, S. W., & Jin, J. Y. (2008). Status of heavy metals in agricultural soils as affected by different patterns of land use. *Environmental Monitoring and Assessment*, 139(1–3), 317–327. doi:10.1007/s10661-007-9838-4.

Hunter lab. (1976). Escala CIE LAB. Recuperado de <http://www.hunterlab.com/duplicate-of-an-1005-hunterlab-vs-cie-lab.pdf> el 12/8/2016

Ingham, S., Losinski, J., Andrews, M., Breuer, J., Breuer, J., Wood, T. & Wright, T. (2004). *Escherichia coli* Contamination of Vegetables Grown in Soils Fertilized with Noncomposted Bovine Manure: Garden-Scale Studies. Publicado en *Applied and Environmental Microbiology*, 24(11). DOI: 10.1128/AEM.70.11.6420-6427.2004.

Instituto geofísico. (2016). Reporte de caída de ceniza. Obtenido de <http://www.igepon.edu.ec/reporte-de-caida-de-ceniza> el 03-11--2017.

Jedrzejczak, R., & Szteke, B. 2005. Determination of chromium content of food and beverages of plant origin. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences* (Poland).

Kabata M. & Pendias A. (2000). *Trace elements in soil and plants*. Tercera edición, Imprenta CRC – Estados Unidos. p. 413

Kumar R., Agrawal M. & Marshall F. (2007). Heavy metal (Cu, Zn, Cd and Pb) contamination of vegetables in urban India: A case study in Varanasi. *Food and Chemycal toxicology*, 47 p. 583–591.

LATIZA. (2016). El Zinc en los Fertilizantes. Recuperado de: [http://latiza.com/archivos\\_publicar](http://latiza.com/archivos_publicar) el 02-08/2016.

Lentech. (2016). Efectos de los metales pesados en la salud. Recuperado de <http://www.lenntech.es/periodica/elementos/mn.htm#ixzz4LIXLy2Bd> el 25/05/2016.

Loiácono, R., Vuanello, O., Solorza, B., Millán, M., & Tejada J. (2004). Eliminación De Metales Pesados De Efluentes Industriales Por Método Electroquímico. Revista del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias. 17 (3), versión impresa ISSN 0187-7585

Machado, A., García, N., García, C., Acosta, L., Córdova, A., Linares, M., Giraldoth, D. & Velásquez, H. (2008). Contaminación por metales (Pb, Zn, Ni y Cr) en aire, sedimentos viales y suelo en una zona de alto tráfico vehicular. Revista Internacional de contaminación ambiental. 24 (4). Recuperado el 5/6/2016 de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=37011665003>.

MAGAP. (2015). Superficie producción y rendimiento. Recuperado de: <http://sinagap.agricultura.gob.ec/index.php/reportes-dinamicos-espac> el 15/08/2016

Mancilla, O., Ortega H., Ramírez, C., Uscanga, R., Ramos, R. & Reyes, A. (2012). Metales pesados totales y arsénico en el agua para riego de Puebla y Veracruz, México. Revista internacional de contaminación ambiental, 28(1), 39-48. Recuperado el 14/06/2016, de [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0188-49992012000100004&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0188-49992012000100004&lng=es&tlng=es).

Martin, A., Rico, D., Barry, C., Frías, J. & Garry H. (2005). Calcium lactate washing treatments for salad-cut Iceberg lettuce: Effect of temperature and concentration on quality retention parameters. Food Research International 38 pág. 729–740.

Mejía, J. (2015). Determinación de aerobios mesófilos viables. DocSlide Recuperado de: <http://documentslide.com/documents/determinacion-de-bacterias-aerobios-mesofilos-viables.html> el 15/06/2016.

Meteored. (2016). Clima. Recuperado de <http://www.meteored.com.ec/> el 12/07/2016.

Monge, R.; Chinchilla, M. & Reyes, L. (1996). Presencia de parásitos y bacterias intestinales en hortalizas que se consumen crudas en Costa Rica. Revista de Biología Tropical 44 (2): 369-375. Disponible en: [www.ots.duke.edu/tropibiojnl/claris/44-2/!MONGE~1.HTM](http://www.ots.duke.edu/tropibiojnl/claris/44-2/!MONGE~1.HTM). Recuperado el 12/07/2016

Narváez, O. & Cano F. (2004). Cenizas volcánicas – contaminación ambiental. Revista del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias – México. 17(3). 232-238.

NTE INEN 1529-13. (1998). Control microbiológico de los alimentos. Enterobacteriaceae. Recuento en placa por siembra en profundidad. Primera Edición. Quito – Ecuador. Recuperado de: <https://law.resource.org/pub/ec/ibr/ec.nte.1529.13.1998.pdf>

NTE INEN 1529-5. (2006). Control microbiológico de los alimentos. Determinación de la cantidad de microorganismos aerobios mesofilos. REP. Primera Edición. Quito – Ecuador. Recuperado de: <https://law.resource.org/pub/ec/ibr/ec.nte.1529.5.2006.pdf>

AOAC International. (2005). Official Methods of analysis. 18<sup>th</sup> Edición.

Ogáldez, G. (2009). Cuantificación de contaminación por plomo y mercurio en el músculo del género *Arius* sp para consume humano, en el litoral pacífico de Guatemala. Centro de Estudios de mar y acuicultura. Fodecyt.

Pankaj, B. & Umezuruike L. (2012). Colour Measurement and Analysis in Fresh and Processed Foods: A Review. Food Bioprocess Technol PÁG.6 36–60 DOI 10.1007/s11947-012-0867-9

Parkpian, P., Leong, S. T., Laortanakul, P., & Thunthaisong, N. (2003). Regional monitoring of lead and cadmium contamination in a tropical grazing land site, Tailandia. Environmental Monitoring and Assessment, 85(2), 157–173. doi:10.1023/A:1023638012736.

Química.es (2016). Metal pesado, Disponible en: [http://www.quimica.es/enciclopedia/Metal\\_pesado.html](http://www.quimica.es/enciclopedia/Metal_pesado.html). Recuperado el 22/10/2016

Queirolo, F., Stegen. S., Restovic, M., Paz, M., Ostapczuk, P., Schwuger, M. & Muñoz L., (2000). Total arsenic, lead, and cadmium levels in vegetables cultivated at the Andean villages of northern Chile, Science of The Total Environment, Vol: 255, (1–3): 75-84.

Rollón, G. (2010). Estudio sobre la adaptación de dos cultivares de tomate injertados y sin injertar en Villa del Prado. Universidad Politécnica de Madrid.

Robles. D. (17 de agosto del 2014). Característica generales de las enterobacterias – enterobacteriaceae. Recuperado de <http://apuntesytrabajosdemicrobiologia.blogspot.com/2014/08/caracteristicas-generales-de-las.html> el 25/06/2016.

Scott, D., Keoghan, J.M. & Allen, B.E. (1996). Native and low input grasses – a New Zealand high country perspective. Nueva Zelanda. Journal of Agricultural Research 39, 499–512.

Serpa A., Borrajas J., Velásquez J., Vélez L. & Zuluaga R. (2015). Desarrollo de un refresco a partir de mezcla de fresa (*Fragaria ananassa*), mora (*Rubus glaucus*), gulupa (*Passiflora edulis* Sims) y uchuva (*Physalis peruviana* L.) fortificado con hierro dirigido a niños en edad preescolar. Perspectivas en nutrición humana. 7 (2). DOI:10.17533/udea.penh.v17n2a05

Smith, R. & Skog L. (1992). Postharvest Carbon Dioxide Treatment Enhances Firmness of Several Cultivars of Strawberry. HORTSCIENCE 27(5). Recuperado de <http://hortsci.ashspublications.org/content/27/5/420.short> el 25/11/2016.

Solomon, E., Pang, H. & Matthews, K. (2003). Persistence of *Escherichia coli* O157:H7 on Lettuce Plants following Spray Irrigation with Contaminated Water. Journal of Food Protection, 66 (12), Pag. 2198–2202

Steele, M. & Odumeru, J., (2004). Irrigation Water as Source of Foodborne Pathogens on Fruit and Vegetables. Journal of Food Protection, 67(12), 2839–2849.

Tapia, C. (2015). Estudio de la aplicación de tratamientos físicos y químicos en la calidad de col blanca (*Brassica oleracea* var. capitata) mínimamente procesada con dos tipos de empaque. Escuela Politécnica Nacional. Ecuador

Tchounwou, P., Yedjou, C., Patlolla, A. & Sutton D. (2012). Heavy Metals Toxicity and the Environment. Molecular, Clinical and Environmental Toxicology. Volúmen 101 de la serie *Experientia Supplementum* pp 133-164.

Tinggi, U., Reilly, C. & Patterson C. (1997). Determination of manganese and chromium in foods by atomic absorption spectrometry after wet digestion, Food Chemistry, Volume 60 (1). 123-128 recuperado de [http://dx.doi.org/10.1016/S0308-8146\(96\)00328-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0308-8146(96)00328-7) el 15/08/2016.

Turkdogan, K., Kilicel, F., Kara K., Tuncer, I. & Uygan, I. (2002). Heavy metals in soil, vegetables and fruits in the endemic upper gastrointestinal cancer region of Turkey. Science Direct. 175-179. DOI: 10.1016/S1382-6689(02)00156-4

Unión Europea. (2016). Unión Europea. Contenidos máximos en metales pesados en productos alimenticios. Recuperado de <http://plaguicidas.comercio.es/MetalPesa.pdf> el 05/10/2016.

Vázquez, L., Fernández, E. & Ríos E. (2010). Incidencia de *enterobacteriaceae*, *escherichia coli* y *salmonella* en pepino colectado durante la precosecha y poscosecha. Universidad Autónoma de Querétaro. México.

Velázquez, D., Castellanos, G., Mata P. & Hernández. (2013). Cambios bioquímicos durante el almacenamiento de puré de aguacate adicionado con antioxidantes naturales y procesado con alta presión hidrostática. *Journal of Food* 11 (4). DOI: 10.1080/19476337.2013.775185

Viswanath, P. "Evaluation of certain contaminants in food (Seventy-second report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives)." *Indian Journal of Medical Research* 135.5 (2012): 795.

Wuana, R., & Okieimen, F. (2011). Heavy Metals in Contaminated Soils: A Review of Sources, Chemistry, Risks and Best Available Strategies for Remediation. *Revista ISRN Ecology*. Recuperado el 3/08/16 de <http://dx.doi.org/10.5402/2011/402647>.

Zawadzka, T. (1977). Chromium content in vegetable and fruit products. *Roczniki Panstwowego Zakladu Higieny*, 29(6), 635-640.