

**UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA
SEDE QUITO**

**CARRERA:
INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA DE LOS RECURSOS NATURALES**

**Trabajo de titulación previo a la obtención del título de:
INGENIERA EN BIOTECNOLOGÍA DE LOS RECURSOS NATURALES**

**TEMA:
DETERMINACIÓN MICROBIOLÓGICA Y DE METALES PESADOS EN
JUGOS DE ALFALFA (*MEDICAGO SATIVA*) USADO EN LA
PREPARACIÓN DE JUGOS NATURALES DE FRUTA, EXPENDIDOS EN
LOS DIFERENTES MERCADOS DEL DISTRITO METROPOLITANO DE
QUITO**

**AUTORA:
KARINA MARISOL QUISHPE PUGA**

**TUTOR:
LUIS ALBERTO VALDÉS SILVERIO**

Quito, mayo del 2016

Cesión de derechos de autor

Yo, Karina Marisol Quishpe Puga con documento de identificación No. 1717745796, manifiesto mi voluntad y cedo a la Universidad Politécnica Salesiana la titularidad sobre los derechos patrimoniales en virtud de que soy autora del trabajo de titulación intitulado: "Determinación microbiológica y de metales pesados en jugo de alfalfa (*Medicago sativa*) usado en la preparación de jugos naturales de fruta, expendidos en los diferentes mercados del Distrito Metropolitano de Quito", mismo que ha sido desarrollado para optar por el título de: Ingeniera en Biotecnología de los Recursos Naturales, en la Universidad Politécnica Salesiana, quedando la universidad facultada para ejercer plenamente los derechos cedidos anteriormente. En aplicación a lo determinado en la Ley de propiedad intelectual, en mi condición de autora me reservo los derechos morales de la obra antes citada. En concordancia, suscribo este documento en el momento en el que hago entrega del trabajo final en formato impreso y digital a la Biblioteca de la Universidad Politécnica Salesiana.



.....
Nombre: Karina Marisol Quishpe Puga

Cédula: 1717745796

Fecha: 25/05/2016

Declaratoria de coautoría del docente tutor/a

Yo declaro que bajo mi dirección y asesoría fue desarrollado el trabajo de titulación:
“Determinación microbiológica y de metales pesados en jugo de alfalfa (*Medicago sativa*) usado en la preparación de jugos naturales de fruta, expendidos en los diferentes mercados del Distrito Metropolitano de Quito”, realizado por Karina Quishpe, obteniendo un producto que cumple con todos los requisitos estipulados por la Universidad Politécnica Salesiana para ser considerado como trabajo final de titulación.

Quito, abril del 2016



.....
Luis Alberto Valdés Silverio

CI: 1754572822

Dedicatoria

Sin más palabras,
a mis padres, ejemplo de perseverancia
y de todo lo bueno que se puede tener en la vida.

Agradecimientos

A la Dra. Elena Coyago Cruz, por su valioso aporte a pesar de la distancia como precursora de este trabajo.

A mí querido tutor, Luis Alberto Valdés por su gentil acogida y apoyo en todo el trayecto que involucra la finalización de esta investigación.

Índice

Introducción	1
Capítulo 1	3
Marco conceptual	3
Generalidades de la Alfalfa (<i>Medicago sativa</i> L.) y su consumo local.....	3
1.1.1 Consumo local de alfalfa.....	3
1.1.2 Contenido de metales pesados.	4
1.1.3 Microbiología de la especie.	6
Metales pesados y microorganismos presentes en alimentos como posibles causantes de enfermedades	6
1.2.1 Metales pesados en alimentos.	6
1.2.2 Microorganismos en alimentos.	7
Enfermedades transmitidas por alimentos en el Ecuador	8
1.3.1 Enfermedades transmitidas por alimentos en el DMQ.	10
Seguridad alimentaria a nivel regional y local	10
1.4.1 Normativa nacional para contaminantes en alimentos.....	11
1.4.1.1 Normativa general para los Contaminantes y las Toxinas presentes en los alimentos y piensos	11
1.4.1.2 Normas para jugos, pulpas, concentrados, néctares y bebidas de frutas y vegetales.....	12
Breve descripción del área de estudio	13
1.5.1 Mercados del DMQ.....	14
Capítulo 2.....	16
Materiales y métodos	16
2.1 Localización del lugar de estudio.....	16

2.2 Metodología	16
2.2.1 Identificación y selección de los mercados del DMQ.....	16
2.2.2 Análisis bromatológico	17
2.2.2.1 Caracterización organoléptica.....	17
2.2.2.2 Densidad Relativa	17
2.2.2.3 Sólidos solubles.....	18
2.2.2.4 Materia seca y humedad.....	19
2.2.2.5 Cenizas	19
2.2.2.6 Determinación de pH	20
2.2.2.7 Acidez titulable	20
2.2.3 Determinación de metales pesados	21
2.2.3.1 Digestión ácida.....	21
2.2.3.2 Espectrofotometría de absorción atómica de llama (EAA llama).....	22
2.2.4 Análisis Microbiológico.....	22
2.2.4.1 Determinación de microorganismos mesófilos.....	22
2.2.4.2 Determinación de parásitos	23
2.2.5 Tratamientos.....	23
CAPÍTULO 3	25
Resultados y discusión	25
3.1 Selección de Mercados del DMQ	25
3.2 Análisis Bromatológico.....	27
3.2.1 Caracterización organoléptica.....	27
3.2.2 Análisis Bromatológico.....	29
3.2.3 Densidad relativa.....	30
3.2.4 Porcentaje de cenizas, materia seca y humedad.....	31

3.2.5 Determinación del pH	31
3.2.6 Contenido de Azúcar	33
3.2.7 Contenido de ácido tartárico	34
3.2.8 Generalidades de la caracterización bromatológica de los jugos naturales de alfalfa.....	34
3.3 Determinación de metales pesados	35
3.3.1 Preparación de las muestras	35
3.3.2 Digestión ácida.....	36
3.3.3 Lectura de metales pesados	37
3.3.3.1 Cadmio	37
3.3.3.2 Cobre	39
3.3.3.3 Cromo.....	41
3.3.3.4 Níquel.....	42
3.3.3.5 Plomo	44
3.3.3.6 Análisis de la efectividad de los tratamientos para la digestión del material vegetal	46
3.3.3.7 Análisis general de la contaminación de metales pesados de los jugos naturales de alfalfa	48
3.3.4 Análisis microbiológico	51
3.3.4.1 Determinación de microorganismos mesófilos.....	51
3.3.4.2 Determinación de parásitos	53
3.3.4.3 Generalidades de la contaminación microbiológica de los jugos	54
Conclusiones	57
Recomendaciones.....	58
Referencias.....	62

Índice de tablas

Tabla 1. Número de casos de intoxicaciones por provincia.....	9
Tabla 2. Límites de metales pesados para Hortalizas leguminosa	12
Tabla 3. Límites máximos para contaminantes en jugos de fruta envasados.....	12
Tabla 4. Requisitos microbiológicos para productos congelados	13
Tabla 5. Límites de detección para los metales pesados en análisis	22
Tabla 6. Información de mercados seleccionados.....	26
Tabla 7. Resultados caracterización organoléptica	28
Tabla 8. Informe de Análisis bromatológico	29
Tabla 9. Agrupación de datos de acuerdo a la variable pH.....	32
Tabla 10. Precipitados obtenidos mediante centrifugación.....	36
Tabla 11. Resultados EAA de Cadmio	37
Tabla 12. Contenido aproximado de cadmio total por muestra	38
Tabla 13. Resultados EAA de Cobre	39
Tabla 14. Contenido aproximado de cobre total por muestra	40
Tabla 15. Resultados EAA de Cromo	41
Tabla 16. Resultados EAA de Níquel	42
Tabla 17. Contenido aproximado de níquel total por muestra	43
Tabla 18. Resultados EAA de Plomo.....	44
Tabla 19. Contenido aproximado de plomo total por muestra.....	45
Tabla 20. Presencia de microorganismos mesófilos por muestra de mercado.....	51
Tabla 21. Presencia de quistes por muestra de mercado	53

Índice de figuras

Figura 1. Mapa político del Ecuador.....	11
Figura 2. Mapa político administrativo el DMQ.....	16
Figura 3. Puntos de muestreo alcanzados	25
Figura 4. Tonos de verde identificados para la caracterización	27
Figura 5. Dendrograma de la variable pH.....	32
Figura 6. Porcentaje de mercados que sobrepasan el límite de cadmio total.....	39
Figura 7. Porcentaje de metales extraídos por tratamiento	46
Figura 8. Comparativa de los resultados del cumplimiento de la reglamentación de metales pesados por cada mercado estudiado	49
Figura 9. Porcentaje de muestras parasíticas	54

Índice de ecuaciones

Ecuación 1. Densidad relativa.....	18
Ecuación 2. Porcentaje de sólidos solubles.....	18
Ecuación 3. Porcentaje de cenizas	19
Ecuación 4. Acidez titulable	20
Ecuación 5. Número de microorganismos	23

Índice de anexos

Anexo 1. Caracterización bromatológica.....	59
Anexo 2. Determinación de metales pesados.....	60
Anexo 3. Determinación de microorganismos.....	61

Resumen

El jugo natural de alfalfa es una preparación ampliamente utilizada en Ecuador por sus propiedades medicinales y nutricionales como anti anémico, hemostático, estimulante del apetito, entre otros usos (Ríos, Koziol, Pedersen, & Granda, 2007). Este producto se distribuye principalmente a través del sistema de comercialización del municipio del Distrito Metropolitano de Quito, y forma parte del patrimonio contemporáneo de la ciudad (Instituto Metropolitano de Patrimonio, 2013), sin embargo no existen registros que acrediten la calidad de este alimento.

Para ello se tomó como referencia para el muestreo el 50% de las parroquias que cuentan con centros de abasto municipales entre urbanas y rurales, siendo 29 mercados que expenden este producto. A estas muestras se les realizó un análisis bromatológico que determinó las características organolépticas y fisicoquímicas básicas propias de la preparación, donde el pH cercano a 7 perjudica su estabilidad.

Además se identificaron contaminantes, los primeros de origen ambiental siendo estos metales pesados. Se encontraron trazas de cadmio, cobre, níquel y una cantidad media de 2,6874 mg/Kg de plomo, que sobrepasa los límites de las normas para jugos naturales de fruta (INEN, 2008) y alimentos (INEN, 2013).

La caracterización microbiológica mostró que su contenido de microorganismos mesófilos supera los límites para jugos naturales de fruta, además en el 24% de las muestras se encontraron parásitos; en algunos casos también helmintos; denotando falencias importantes en el procesamiento del alimento.

Ante estos resultados, resalta la importancia de la calidad e inocuidad alimentaria a todo nivel.

Palabras clave: *Medicago sativa*, jugo natural, metales pesados, contaminación microbiológica, inocuidad alimentaria.

Abstract

The natural juice of alfalfa is a popular mixture in Ecuador that is used with medicinal and nutritional purposes. The plant has properties like antihemostatic, appetite stimulant among other uses (Ríos, Koziol, Pedersen, & Granda, 2007). This product is distributed through the metropolitan system of commercialization, but it isn't has researches which assure its quality.

Considering it, we chose the 50% of the metropolitan district territory and found 29 markets that spend process food included this product. With the obtained samples, we realized a chemical composition analysis; it showed that the juices had normal physicochemical characteristics, but they also had pH ranges that prejudice their stability.

Furthermore, we realized a determination of two pollutants; they were heavy metals and microorganism. In the first analysis, we found traces of cadmium, cooper and nickel; besides, we found large amounts of lead, an average of 2,6874 mg/Kg. It quantity outpoint national limits.

Also, we found a lot of mesophilic microorganisms per cc in all the samples; these amounts exceed the Ecuadorian standard for juices and natural preparations. In addition the 24% of samples had parasitic microorganisms and helminthes. These results evinced the mistakes happened in the preparation of this product in all the samples.

Consequently with the results, it stands out the value of food safety at all levels.

Keywords: *Medicago sativa*, natural juice, heavy metals, microbiological contamination, food safety.

Introducción

En Ecuador, la seguridad alimentaria constituye un objetivo estratégico y obligación del Estado (Constitución Política del Ecuador Art. 281, 2008), por tanto, diversos organismos gubernamentales tienen varios mecanismos que amparan la investigación científica en lo referido a la calidad nutricional de los alimentos, productividad y sanidad alimentaria; promoviendo a su vez las prácticas culturales y tradicionales (Régimen de la Soberanía Alimentaria, 2010). Con esta nueva conceptualización, ha crecido la preocupación ciudadana por la inocuidad y/o sanidad de los alimentos, traducida también como calidad de vida, según Lion & Olowoyo en (2013).

En el Distrito Metropolitano de Quito, el Municipio es el encargado de regular la comercialización y sanidad de los alimentos en el sistema de comercialización al que pertenecen las Centrales de Abasto o Mercados Mayoristas, Mercados Minoristas y las Ferias Municipales (Ordenanza Metropolitana No. 0253, 2008), donde miles de usuarios se abastecen semana a semana de productos de primera necesidad; sin embargo, a pesar de que los establecimientos cuentan con certificados de salud y funcionamiento, no se cuenta con estadísticas y datos reales que aseguren la calidad de los mismos.

Es por tanto, de interés y envergadura científico - técnica, la generación de información que permita una respuesta oportuna y efectiva, para afrontar las emergencias sanitarias relacionadas con los alimentos.

De esta preocupación se desprende este estudio, cuyo objetivo principal es determinar la calidad de los jugos de alfalfa que se expenden en los mencionados centros de comercio.

La alfalfa (*Medicago sativa L.*) ha sido usada tradicionalmente como antianémica, antirreumática, hemostática, aperitiva entre otros usos medicinales y su comercialización es común en forma de jugo natural o batido (Ríos, Koziol, Pedersen, & Granda, 2007).

Con este fin, se realizó una cuantificación microbiológica y de los metales pesados: cadmio, cobre, cromo, níquel y plomo; además de una caracterización bromatológica que determinó el estado inicial de las muestras recolectadas.

Los datos recaudados se contrastaron con la normativa vigente para jugos naturales de fruta, de manera que la información presentada evidencia el grado real de contaminación y la calidad de dicho producto.

Capítulo 1

Marco conceptual

Generalidades de la Alfalfa (*Medicago sativa* L.) y su consumo local

La alfalfa es una planta forrajera perenne miembro de la familia de las Fabaceas y del orden de las Fabales ampliamente distribuida alrededor del mundo (Missouri Botanical Garden, 2015). Empleada para la alimentación animal, tiene gran valor nutricional, sus hojas tienen un 24% de proteína en materia seca, 10% de proteína en tallos y sus raíces son fijadoras de nitrógeno por la simbiosis con la bacteria *Rhizobium* (Dammer Bustamante & Izquierdo, 2004, p. 11).

Las principales características morfológicas de la planta descritas en el texto de Del Pozo de (1983), son: crecimiento erecto, tallo poco ramificado de 60 a 100 cm de altura, sus hojas son trifoliadas de hojas ovaladas, los tallos son sólidos, la raíz es pivotante alcanzando varios metros de longitud, y las flores son de color púrpura particular en esta planta (p. 30).

En la composición nutricional del extracto foliar se encuentra: Hierro 327,17 mg/Kg Zinc 11,63mg/Kg, Nitrógeno 82,97mg/Kg, Triptófano 0,374 mg/Kg y Materia seca 94,41 mg/Kg (Pico, et al., 2011, p. 171). En este mismo texto se manifiesta que la composición varía de acuerdo a la frescura del extracto (p. 174).

1.1.1 Consumo local de alfalfa.

En varios países incluido Ecuador, la alfalfa no solamente es de consumo animal sino que se consume directamente en la dieta diaria. En Perú, se realizan estudios para la producción de un concentrado proteico que pueda emplearse en el tratamiento de la desnutrición infantil (Cordero, Soberón, Oriundo, & Ramos, 2009), obteniendo resultados favorables estimulando la eritropoyesis (p. 168).

En Ecuador además del cultivo para alimentación animal, es común el consumo del jugo de alfalfa (*Medicago sativa L.*) en la dieta. Este producto se expende en el DMQ de forma regular en los mercados y puestos de jugos (Noticias de Quito, 2009), los autores Ríos, Koziol, Pedersen, & Granda en (2007) en su texto de *Plantas Útiles del Ecuador*, documentan sus usos medicinales, como: estimulante del apetito, antianémico, analgésico, antiespasmódico, antirreumático, hemostático, entre otros; siendo utilizadas con este fin únicamente las hojas (p. 190). Dependiendo de los beneficios requeridos, el texto recomienda las siguientes preparaciones: licuado de las hojas con jugo de naranjilla o naranja y huevo crudo, y/o zumo de las hojas frescas con agua caliente (p. 420).

1.1.2 Contenido de metales pesados.

La alfalfa se cultiva en diferentes suelos y altitudes, sin embargo varios autores documentan la presencia de metales pesados en la planta como consecuencia de su bioacumulación y de su baja o nula degradación (Sigh & Fulekar, 2009).

Al ser este cultivo uno de los más importantes para la alimentación de ganado a escala continental y mundial, ha generado la necesidad de determinar el potencial de este vegetal para acumular y transferir metales desde el suelo a la cadena alimenticia. Aslam, Sharif, & Khan en (2015) determinaron que esta forrajera puede retener grandes cantidades de plomo y cadmio en las raíces como se ha descrito, y transportarlos a sus partes aéreas (pp. 475-476).

En el texto de Al - Rashd & Sulaiman de (2013), menciona que el proceso biológico desarrollado por la especie para la captura de los metales pesados es la

inmovilización y se realiza en las raíces principalmente, representando la mayor proporción de recuperación en un porcentaje entre 80 – 90%, de los metales contenidos en los suelos contemplados para los ensayos (p. 277).

Los metales más estudiados en tratamientos de biorremediación a través de esta especie son el cadmio, cobre, níquel y zinc, ya que se encuentran de forma común en suelos de uso agrícola contaminados. En una investigación desarrollada por Peralta - Videa, et al. en (2002), se determinó que la alfalfa tiene gran potencial para la remoción de una concentración total de 80 ppm de Cd (II), Cu (II), Ni (II) y 160 ppm de Zn (II) (p. 76). Además, se han realizado pruebas para determinar la germinación y crecimiento de esta planta en suelos que contienen los metales mencionados, encontrando que la misma no tolera concentraciones de Cr (VI) en la matriz de cultivo (p. 80).

Por sus propiedades naturales de biosorvente, la alfalfa no solamente ha sido considerada para el tratamiento de suelos sino también de efluentes; en la investigación de Gardea - Torresdey, et al. en (2002) se utilizó una matriz vegetal elaborada a base de esta planta para la biosorción de cromo (III) encontrando gran potencial en la recuperación de este metal a diferencia de otros estudios para el mismo ión en suelos (pp. 164-165).

Otros trabajos que documentan el aumento de la concentración de nutrientes mediante inoculaciones (Azcon - Aguilar & Barea, 1981), describen que las mismas pueden aumentar la cantidad de nutrientes, e influir sobre la acumulación de algunos metales pesados, dependiendo del pH y del punto de inoculación (El-Kherbawy, Angle, Heggo, & Chaney, 1989, pp. 62-64). Estudios más recientes, demuestran la eficacia de las inoculaciones en cultivos de alfalfa para la remoción de metales pesados, pero solamente en suelos de contaminación moderada (Zribi, et al., 2012).

1.1.3 Microbiología de la especie.

La alfalfa no es una planta de consumo directamente humano por tanto no se encuentran caracterizaciones específicas de su microbiología. Sin embargo, se ha documentado por su importancia agrícola, la presencia de diversos microorganismos que afectan al cultivo comercial.

Un ámbito ampliamente descrito es la inoculación de microorganismos fijadores de nitrógeno en el cultivo *in vitro* de brotes e *in situ* en las raíces de la planta; algunos descritos son *Rhizobium*, *Glomus*, *Mycorrhizae*, entre otros (Azcon - Aguilar & Barea, 1981).

Metales pesados y microorganismos presentes en alimentos como posibles causantes de enfermedades

En este acápite se describirán los contaminantes identificados en esta investigación en función de desentrañar los riesgos que representa su presencia en los alimentos.

1.2.1 Metales pesados en alimentos.

En las últimas décadas el estudio metales pesados en alimentos ha cobrado gran importancia, esto debido a su toxicidad en plantas y animales (Economou - Eliopoulos & Antivachi, 2012). Así se determinó que en los ambientes naturales la liberación y retención de las especies químicas de los metales cambia por las condiciones variables de pH, potencial redox, descomposición de la materia orgánica, entre otros (Gu & Wu, 2013).

En el ambiente entendido como la naturaleza y los centros de desarrollo humano, las fuentes de contaminación de metales pesados incluyen emisiones de industrias,

prácticas agrícolas, disposición inadecuada de aguas servidas, entre otros problemas derivados del crecimiento poblacional (Olowoyo & Van Heerden, 2013).

Las trazas de metales en los tejidos vivos forman parte de las reacciones bioquímicas, metabólicas, catabólicas y enzimáticas; sin embargo su exceso puede volverse tóxico derivando en muchas enfermedades a nivel de varios sistemas (Anhwange & Kagbu, 2009).

Estudios a nivel mundial, aluden que gran porcentaje de metales pesados que causan toxicidad, se introducen en la dieta diaria a través de alimentos cultivados, y su exposición es prolongada debido al consumo sostenido de los mismos (Nabulo & Black, 2012). Cameán & Repetto en (2006) coinciden además, que los metales pesados más comunes en el análisis de alimentos son: Plomo (Pb), Cadmio (Cd), Arsénico (As) y Mercurio (Hg).

1.2.2 Microorganismos en alimentos.

Los alimentos son vehículos que pueden transportar diversos contaminantes, siendo los microorganismos los más difundidos y estudiados debido a la cantidad de casos reportados anualmente a nivel mundial y la gravedad en la que degeneran muchas de sus intoxicaciones (Malik & Erginkaya, 2014). Para definir de mejor manera los inconvenientes producidos por su ingesta, Cameán & Repetto (2006), identifican los siguientes casos:

- Brote alimentario: es un incidente por el que 2 o más personas experimentan una enfermedad similar, con síntomas gastrointestinales parecidos tras la ingestión común de algún alimento y mediante un análisis epidemiológico se identifica, a ese alimento como causa.

- Intoxicación alimentaria de origen microbiana: se origina por consumir alimentos previamente contaminados por la toxina de algún microorganismo.

- Toxiinfección alimentaria microbiana: enfermedad que se produce por la ingesta de alimentos contaminados por microorganismos que al desarrollarse en el consumidos secretan toxinas (pp. 251-253).

Entre las posibles fuentes de exposición a los microorganismos causantes de enfermedades, Borchers & Teuber (2010) mencionan: materia fecal de animales y humanos, descargas de cavidades aéreas, superficies corporales de los manipuladores de alimentos, suelos y superficies, aguas, polvo, entre muchos otros.

Por otro lado, como mencionan Singh & Garber en (2014), las toxinas producidas por estos microorganismos son moléculas no proteicas o proteínas que pueden llegar a ser letales y variar en su severidad de acuerdo a su interacción con los sitios blanco (p. 186).

Anualmente la incidencia de enfermedades transmitidas por alimentos, según los mismos autores, se ha estimado afecta del 5 – 10% de la población, mientras que en las zonas desarrolladas la incidencia es mayor, siendo de este porcentaje, las intoxicaciones causadas por toxinas las de menor incidencia (p. 203).

Enfermedades transmitidas por alimentos en el Ecuador

Según el Ministerio de Salud Pública del Ecuador en (2013),

“El país ha desarrollado facultades locales y nacionales para enfrentar brotes, epidemias y enfermedades de potencial epidémico. Con este fin existe un manual de normas y procedimientos del Sistema Integrado de Vigilancia Epidemiológica que establece un sistema y normas para la vigilancia

epidemiológica, así como lineamientos operativos a todos los niveles para el personal de salud (p. 9).”

Dentro de las enfermedades transmitidas por agua y alimentos que deben ser notificadas de forma obligatoria en el país se encuentran las intoxicaciones alimentarias, seguidas de las enfermedades diarreicas, entre otras muy comunes (Orquera & Sánchez, 2012).

Los datos más actualizados de la Gaceta Epidemiológica del Ministerio de Salud Pública de Ecuador en (2013), incluyen cifras de la incidencia de las intoxicaciones alimentarias por provincia como puede verse en la tabla 1, donde se muestra que existen muchos casos diagnosticados a lo largo del territorio nacional, siendo las provincias con mayor número de habitantes como Guayas y Pichincha las que más casos acumulan (p. 16).

Tabla 1.
Número de casos de intoxicaciones por provincia

Provincia	Semana (grupo)		
	Acumulados	SE21	Total general
AZUAY	56		56
BOLIVAR	27		27
CAÑAR	61	1	62
CARCHI	10	3	13
CHIMBORAZO	53	3	56
COTOPAXI	61		61
EL ORO	350	13	363
ESMERALDAS	66	7	73
GUAYAS	469	42	511
IMBABURA	52	15	67
LOJA	83	11	94
LOS RIOS	100	10	110
MANABI	184	12	196
MORONA SANTIAGO	1		1
NAPO	21		21
ORELLANA	6		6
PASTAZA	1		1
PICHINCHA	533	38	571
SANTA ELENA	1		1
SANTO DOMINGO DE LOS T.	18	2	20
SUCUMBIOS	75	2	77
TUNGURAHUA	37		37
ZAMORA CHINCHIPE	26	1	27
Total general	2291	160	2451

Nota: Semana epidemiológica 21, detalla el número de casos por provincia. Presenta una reducción con respecto a la semana 20 del 30%. El grupo de edad más afectado es de 20 a 49 años. Tomado de: Ministerio de Salud Pública de Ecuador, (2013). Gaceta epidemiológica semanal SIVE – ALERTA Gaceta No.13 (p. 16).

1.3.1 Enfermedades transmitidas por alimentos en el Distrito Metropolitano de Quito.

Según el Plan de desarrollo del Municipio en (2011), en materia de salud existen planes para la prevención y promoción de salud ya que según se plantea en su análisis, existe una correlación directa entre los tipos de enfermedad y las características socio – económicas de la población. Para la promoción y protección de la salud, el municipio cuenta con unidades de salud con diferentes especialidades a lo largo de la ciudad (Secretaría de salud, 2016). Sin embargo, no se cuenta con datos oficiales de la incidencia de intoxicaciones alimentarias reportadas en el Distrito Metropolitano.

Seguridad alimentaria a nivel regional y local

La Organización Mundial de la Salud en su nota descriptiva de (2015), resalta la importancia de la inocuidad de los alimentos como fundamento para un estilo de vida saludable, sin embargo como se menciona en el documento, la contaminación de los alimentos con microorganismos o xenobióticos de origen químico causan más de 200 enfermedades, que van desde la diarrea hasta varios tipos de cáncer.

En lo respectivo a las acciones encaminadas para la regulación de los metales pesados en alimentos, se han realizado conferencias y reuniones encaminadas a la seguridad química (Organización Mundial de la Salud, 2006), donde se han establecido compromisos globales para el control de mercurio, plomo y cadmio, y su transferencia a la cadena alimentaria (pp. 2-3); sin embargo en cuanto a las cantidades permisibles de los mismos se remiten a lo estipulado en el Códex Alimentario, sin establecer límites específicos a pesar de los problemas de seguridad alimentaria citados (p. 16).

En cuanto a los microorganismos presentes en los alimentos se hace un recuento de los microorganismos causantes de enfermedades e infecciones, pero como la Organización Panamericana de Salud, enuncia en su manifiesto (2015), cada Estado miembro es el encargado de establecer controles en su territorio.

Así en Ecuador, la Constitución de (2008), establece en materia de alimentación:

“La soberanía y seguridad alimentaria constituyen un objetivo estratégico y una obligación del estado, para garantizar que las personas, comunidades, pueblos y nacionalidades, alcancen autosuficiencia de alimentos sanos y culturalmente apropiados de forma permanente (Constitución Política del Ecuador Art. 281, 2008)”.

Sobre este principio se asienta el régimen de Soberanía Alimentaria cuya misión es asegurar y desarrollar la investigación científica con el objeto de mejorar la calidad nutricional de los alimentos, la productividad y la sanidad alimentaria, respetando y promoviendo las prácticas culturales (Régimen de la Soberanía Alimentaria, 2010).

1.4.1 Normativa nacional para contaminantes en alimentos.

A continuación se enumerarán las normas nacionales que regulan los contaminantes en alimentos y presentan las cantidades admisibles para cada uno.

1.4.1.1 Normativa general para los Contaminantes y las Toxinas presentes en los alimentos y piensos

Esta norma se alinea a los principios recomendados por el Codex Alimentarius en relación a los contaminantes en alimentos, indica los niveles máximos de varios contaminantes, sin embargo se especifica que deben aplicarse de forma preferencial a los de comercio internacional (INEN, 2013). Los metales pesados especificados en la

normativa para el alimento de estudio son los que se muestran en la tabla 2 a continuación.

Tabla 2.

Límites de metales pesados para Hortalizas leguminosas

Metal	Cadmio Cd	Plomo Pb
Definición de residuo	Cadmio Total	Plomo Total
Código del producto	VP0060	VP0060
Nombre	Hortaliza leguminosa	Hortaliza leguminosa
Mg/Kg	0,1	0,2

Nota: Cuadro de resumen de los metales pesados contemplados en la normativa INEN para alimentos y piensos. Tomado de: INEN, (2013). Norma General para los Contaminantes y Toxinas Presentes en los Alimentos y Piensos (CODEX STAN 193-1995), (pp. 33-39).

1.4.1.2 Normas para jugos, pulpas, concentrados, néctares y bebidas de frutas y vegetales

La Norma es aplicable para los productos envasados pero no así, para la materia prima empleada en su elaboración (INEN, 2008). En la tabla 3 se muestran los contaminantes considerados para los productos mencionados.

Tabla 3.

Límites máximos para contaminantes en jugos de fruta envasados

	Límite máximo	Método de ensayo
Arsénico As mg/Kg	0,2	NTE INEN 269
Cobre Cu mg/Kg	5,0	NTE INEN 270
Estaño Sn mg/Kg*	200	NTE INEN 385
Zinc Zn mg/Kg	5,0	NTE INEN 399
Hierro Fe mg/Kg	15,0	NTE INEN 400
Plomo Pb mg/Kg	0,05	NTE INEN 271
Patulina (jugo de manzana)** mg/Kg	50,0	AOAC 49.7.01
Suma de Cu, Zn, Fe mg/Kg	20,0	
* En el producto envasado en recipientes estaneados		
** La patulina es una micotoxina formada por una lactona hemiacetálica, producidas por especies del género <i>Apergillus</i> , <i>Penicillium</i> y <i>Byssoclamys</i>		

Nota: Cuadro presentado dentro de la norma INEN para regulación de contaminantes en jugos, pulpas, concentrados, néctares y bebidas envasadas. Tomado de: INEN, (2008). Jugo, Pulpas, Concentrados, Néctares, Bebidas de Frutas y Vegetales. REQUISITOS NTE INEN 2 337:2008 (p. 7).

Para los requisitos microbiológicos establece dos condiciones que se detallan en la tabla 4.

Tabla 4.
Requisitos microbiológicos para productos congelados

	n	m	M	c	Método de ensayo
Coliformes $\frac{NMP}{cm^3}$	3	< 3	...	0	NTE INEN 1529-6
Coliformes fecales $\frac{NMP}{cm^3}$	3	< 3	...	0	NTE INEN 1529-8
Recuento de esporas clostridium reductoras $\frac{UFC}{cm^3}$ 1)	3	< 10	...	0	NTE INEN 1529-18
Recuento estándar en placa REP $\frac{UFC}{cm^3}$	3	$1,0 \times 10^2$	$1,0 \times 10^2$	1	NTE INEN 1529-5
Recuento de mohos y levaduras $\frac{UFC}{cm^3}$	3	$1,0 \times 10^2$	$1,0 \times 10^2$	1	NTE INEN 1529-10

1) Para productos enlatados

Nota: La tabla aparece en la normativa INEN para la regulación de microorganismos en productos congelados empacados y/o envasados. INEN, (2008). Jugo, Pulpas, Concentrados, Néctares, Bebidas de Frutas y Vegetales. REQUISITOS NTE INEN 2 337:2008 (p. 6).

Breve descripción del área de estudio

El Distrito Metropolitano de Quito es la capital de Ecuador, república ubicada en América del Sur; su territorio comprende 422 802 hectáreas con una altitud que va desde los 500 a 4 800 msnm, según los datos del Municipio del Distrito Metropolitano de Quito al (2011), el crecimiento poblacional tenía una tendencia creciente que inició en el año 1982, al último censo nacional la población era de 2'239 191 habitantes que representan el 86.9% de la población de la provincia (INEC, 2010). Por el tamaño y la densidad poblacional de la ciudad se encuentra distribuida en las administraciones zonales: Eugenio Espejo, Manuela Sáenz, Eloy Alfaro, Quitumbe, Calderón, Tumbaco, Los Chillos, La Delicia y La Mariscal. Estas administraciones a su vez se dividen en 32 parroquias urbanas y 33 parroquias rurales y suburbanas (Distrito Metropolitano de Quito, 2015).

Mapa político del Ecuador



Figura 1. Mapa político del Ecuador que muestra la ubicación del Distrito Metropolitano de Quito. Tomado de: Instituto Geográfico Militar, (2016). Mapa del Ecuador Uso Escolar - ESCALA 1:4'000.000.

1.5.1 Mercados del DMQ

Para el autor Cazamajor D'Artois en (1992), el crecimiento demográfico y espacial de la ciudad se trasladó a los mercados y ferias siguiendo el mismo patrón, y a pesar del establecimiento de nuevos sitios de abastecimiento, el centro de la ciudad y sus mercados no perdieron importancia como ejes de provisión.

En el año (2011), el Consejo Metropolitano creó la secretaría de Desarrollo Productivo y Competitividad para que organice, administre y controle el sistema de comercialización del distrito, a través de la coordinación de Mercados, Ferias y Plataformas Metropolitanas. A su vez, esta institución ejerce sus funciones a través de la Ordenanza Metropolitana No.253 que hace distinguir la siguiente conformación:

- Comercio de productos perecibles,

- Comercio de productos no perecibles

El comercio de productos perecibles está formado por:

- Centrales de abastos o mercados mayoristas
- Mercados minoristas municipales
- Ferias municipales existentes en los mercados municipales y plataformas debidamente autorizadas (Ordenanza Metropolitana No. 0253, 2008, p. 2).

Al ser los mercados entes regulados por la municipalidad, deben cumplir con la Ordenanza No. 0059, cuyo objetivo es propender la seguridad y soberanía alimentaria por medio del cumplimiento de obligaciones como “El certificado de salud, capacitaciones y credenciales de manipuladores de alimentos y para su funcionamiento el permiso que se otorga con el cumplimiento de los requerimientos anteriores (Ordenanza Municipal No. 0059, 2001)”.

Capítulo 2

Materiales y métodos

2.1 Localización del lugar de estudio

La investigación se realizó en la provincia de Pichincha en el cantón Quito, Distrito Metropolitano de Quito, en el periodo abril – diciembre de 2015. El DMQ según datos oficiales, cuenta con 32 parroquias urbanas y 33 rurales y/o suburbanas, cuyas competencias administrativas se encuentran distribuidas en 8 administraciones zonales (Municipio del Distrito Metropolitano de Quito, 2015).

2.2 Metodología

En los siguientes numerales se detallarán las metodologías y procedimientos desarrollados en el estudio, así como las modificaciones pertinentes de cada ensayo.

2.2.1 Identificación y selección de los mercados del DMQ

Mapa de la división político administrativa del DMQ



Figura 2. Mapa político administrativo el DMQ que muestra la división por administraciones zonales de la ciudad. Tomado de: Municipio del Distrito Metropolitano de Quito, (2015). Mapas de la Secretaría de Territorio, Hábitat y Vivienda.

Del total de parroquias del Distrito Metropolitano de Quito (65 parroquias legalmente reconocidas), se tomaron mediante números al azar 33 entre urbanas y rurales, de manera que constituyeran el 50% del territorio metropolitano. La Figura 2 muestra la distribución de parroquias de acuerdo a su administración zonal.

2.2.2 Análisis bromatológico

El análisis bromatológico realizado es básico, como se describe a continuación y tuvo como fin la caracterización inicial de la muestra.

2.2.2.1 Caracterización organoléptica

De cada muestra previamente identificada como aparece en el anexo 1, se tomaron 5mL para realizar su evaluación sensorial de color, sabor y olor. El color se evaluó mediante el Sistema de notación Munsell citado por Domínguez, Román, Prieto, & Acevedo en (2012); los colores identificados fueron los tonos de verde: verde 7G5/14 y verde claro 7GY5/14.

2.2.2.2 Densidad Relativa

Este parámetro determina la relación de la masa de un volumen conocido de la sustancia a analizar, dividida por la masa de un volumen igual de agua que no contenga aire (INEN, 2012). Se empleó la norma INEN, *NTE INEN 391:2012* de (2012), usando los picnómetros Pirex de 10mL como muestra el anexo 1, siguiendo el procedimiento descrito en dicha norma. Los cálculos se realizaron mediante la ecuación 1.

Ecuación 1. Densidad relativa

$$d = \frac{m_3 - m_1}{m_2 - m_1}$$

Dónde:

d = densidad relativa 20/20°C

m1 = masa del picnómetro vacío en g

m2 = masa del picnómetro con agua 20°C en g

m3 = masa del picnómetro con la muestra en g

INEN (2012). CONSERVAS VEGETALES, JUGOS DE FRUTAS. DETERMINACIÓN DE DENSIDAD RELATIVA NTE INEN 391:2012. Quito: Publicación Oficial INEN.

2.2.2.3 Sólidos solubles

Los sólidos solubles de acuerdo a este método se miden por refracción, esta cuantifica la concentración en la que el peso de la sacarosa en solución tiene el mismo índice de refracción que la solución analizada (AOAC International, 2000), el procedimiento empleado es el *Official Method 932.14 (44.1.04)*, descrito por Bernetti en (2000), variando únicamente en el modelo del equipo refractómetro que fue el Ataco NAR - 1T Liquid. Los cálculos se realizaron mediante la ecuación 2.

Ecuación 2. Porcentaje de sólidos solubles

$$\% \text{ sustancia seca} = \frac{((W + B)C - BD)}{W}$$

Dónde:

W = peso (g) del jarabe mezclado con B

B = peso (g) de la solución de azúcar usada en la dilución

C = porcentaje de la sustancia seca en la mezcla W+B obtenida por el índice de refracción

D = porcentaje de la sustancia seca en la solución de azúcar pura obtenida por su índice de refracción

AOAC International. (2000) Official Methods of Analysis of AOAC International. En R. Bernetti, *Official Method 932.14 (44.1.04)*. Gaithersburg MD: AOAC INTERNATIONAL.

2.2.2.4 *Materia seca y humedad*

La humedad se calcula de acuerdo a este método por la pérdida de peso de la muestra, que es calentada bajo condiciones específicas y controlables (AOAC International, 2000). El procedimiento empleado siguió lo establecido por Lane en (2000), en el *Official Method 923.03(32.1.03)*. Se cambió el procedimiento en estufa por un equipo que realizaba de forma automatizada dicho proceso, que fue el Humidificador Marca: Mettler Toledo Modelo: HB4 3-S Halogen como muestra el anexo 1, y se obtuvo de forma directa.

2.2.2.5 *Cenizas*

La calcinación es un proceso en el que se evapora el agua y los compuestos volátiles como muestra el anexo 1, las sustancias orgánicas se consumen para generar dióxido de carbono y óxidos de nitrógeno, a su vez todos los minerales se convierten en óxidos, fosfatos, sulfatos, cloruros y silicatos (Nielsen, 1998). Se empleó el procedimiento del método de Harbers, *Ash analysis* de (1998), los cálculos se realizaron mediante la ecuación 3.

Ecuación 3. Porcentaje de cenizas

$$\%cenizas = \frac{P3(oP4) - P1}{P2 - P1} * 100$$

Dónde:

P3 – P1 = g de cenizas

P4 – P1 = g de cenizas a peso constante

P2 – P1 = g de muestra

Nielsen, S. (1998). Food analysis. En H. L.H., Ash analysis. Indiana: Aspen Publishers.

2.2.2.6 Determinación de pH

Es la medida de acidez o basicidad de una sustancia que puede determinarse mediante un pH metro, el instrumento utilizado fue el Seven multi pHmetro - conductímetro Mettler Toledo, se realizaron tres mediciones y el quipo se calibró antes de cada medición según lo descrito en el texto de APHA AWWA WPCF en su publicación de (1989).

2.2.2.7 Acidez titulable

La acidez de jugos es calculada regularmente de acuerdo con el ácido predominante, en el caso de los vegetales de hoja verde se calcula el ácido tartárico (INEN, 2013), la determinación se realizó a través de una titulación ácido – base como muestra el anexo 1. Para la titulación se siguió el procedimiento *Official Method 942.15(37.1.37)* de AOAC en (2000), modificando la preparación de la solución a titular de acuerdo a la norma (INEN, 2013). Los cálculos se realizaron mediante la ecuación 4.

Ecuación 4. Acidez titulable

$$acidez\ titulable = \frac{250}{v} * v_1 * c * \frac{100}{v_o}$$

Dónde:

V = volumen en mL de la muestra de ensayo

Vo = volumen en mL de la porción de ensayo

V1 = volumen en mL de la solución de NaOH (titulante)

C = concentración en moles/litro de la solución de NaOH

INEN (2013). PRODUCTOS VEGETALES Y DE FRUTAS - DETERMINACIÓN DE ACIDEZ TITULABLE (IDT) NTE INEN - ISO 750:2013. Quito: Publicación oficial INEN.

2.2.3 Determinación de metales pesados

Se empleó el método de espectrofotometría de absorción atómica, que requirió de una digestión previa del analito.

Preliminarmente, de cada muestra se tomó 300mL, se centrifugó durante 15 minutos, el precipitado obtenido se secó a 100°C hasta obtener una masa seca que se guardó en bolsas individuales anti derrame.

2.2.3.1 Digestión ácida

Es un procedimiento que tiene como fin la destrucción de la materia orgánica que compone la muestra, para la disposición en solución acuosa de los metales pesados a analizar. Las muestras en estudio se sometieron a dos procedimientos diferentes de digestión, que se denominaron 1 y 2.

- Procedimiento 1: se siguió el proceso sugerido por el Manual de usuario del Digestor Marca: Berghof Modelo: Speedwave Two del (2006), de acuerdo al tipo de muestra especificado; el Anexo 1 muestra el resultado.
- Procedimiento 2: se utilizó el proceso *Official Method 999.10(2000)* de AOAC en (2000), modificando las cantidades de ácido para la digestión en 2,5mL de ácido sulfúrico y 2,5mL de ácido nítrico; el Anexo 1 muestra el resultado.

La limpieza del material empleado previo cada análisis, siguió lo establecido por la AOAC en (2000), en su capítulo de limpieza de material; mientras que los digestores siguieron el protocolo determinado por el equipo Berghof Speedwave Two (2006).

2.2.3.2 Espectrofotometría de absorción atómica de llama (EAA llama)

El equipo utilizado para la lectura de metales pesados fue el espectrofotómetro Marca: Varian, Modelo: Spectra 55 Atomic Absorption Spectrometer como se muestra en el anexo 1. Para la preparación de las soluciones estándares de cada metal se siguió el procedimiento establecido en AOAC International de (2000) con los reactivos mostrados en el anexo 1. Los parámetros instrumentales de análisis de cada metal se siguieron de acuerdo al Manual de usuario del equipo para EAA de llama (Varian, 1989), para los metales: cadmio, cobre, cromo, níquel y plomo. En el anexo 1 se ilustran las curvas de calibración de cada metal. La tabla 6 muestra los límites de detección del equipo para cada metal analizado.

Tabla 5.
Límites de detección para los metales pesados en análisis

Metal	Longitud de onda	Unidades	Límite Inferior	Límite Superior	Unidades
Cadmio (Cd)	228,8	nm	0,02	3	ugmL
Cobre (Cu)	324,7	nm	0,03	10	ugmL
Cromo (Cr)	357,9	nm	0,06	15	ugmL
Níquel (Ni)	232	nm	0,1	20	ugmL
Plomo (Pb)	217,0	nm	0,1	30,0	ugmL

Nota: Los valores mostrados son netos de cada metal y corresponden a cada longitud de onda, si se registran en las lecturas, valores superiores o inferiores a los establecidos, el manual de usuario recomienda cambiar los parámetros instrumentales pues la lectura es inválida. Recopilado de Varian, (1989). Flame Atomic Absorption Spectrometry Analytical Methods. Australia: Varian Australia Pty Ltda. Modificado por: K. Quishpe, (2016).

2.2.4 Análisis Microbiológico

2.2.4.1 Determinación de microorganismos mesófilos

El método presentado permite determinar la presencia de grupos de microorganismos aerobios por centímetro cúbico de alimento (INEN, 2012), para esta cuantificación se siguió lo establecido por la norma NTE INEN 1529-5:2006 de (2012), modificando la

preparación de la muestra. Las muestras al ser líquidas se inocularon directamente en 9mL de agua destilada, se realizaron diluciones desde 10^{-1} hasta 10^{-6} como se observa en el anexo 2; de la misma manera se cambió el medio de cultivo planteado en la técnica por el medio de Triptosa soya agar (TSA).

Una vez sembradas las placas fueron incubadas a 30°C por un periodo de 24 a 48H como máximo, después de hecho el conteo como muestra el anexo 2, la cuantificación se realizó mediante la ecuación 5.

Ecuación 5. Número de microorganismos

$$N = \frac{\sum c}{V(n_1 + 0,1n_2)d}$$

Dónde:

$\sum c$ = suma de todas las colonias contadas en todas las placas seleccionadas

V = volumen inoculado en cada caja petri

n1 = número de placas de la primera dilución seleccionada

n2 = número de placas de la segunda dilución seleccionada

d = factor de dilución de la primera dilución seleccionada (d=1 cuando se inocula muestra sin diluir).

INEN, (2012). Control Microbiológico de Alimentos: Determinación de la cantidad de microorganismos aerobios mesófilos REP. NTE INEN 1529-5:2006. Quito: Publicación oficial INEN.

2.2.4.2 Determinación de parásitos

Se realizó mediante observación en microscopio óptico, para esto se utilizó el procedimiento enunciado por Gonzáles en (2006), aumentando la cantidad de campos por repetición en 5, los campos observados pueden verse en el anexo 2.

2.2.5 Tratamientos

Obtención de la muestra: Las muestras se colectaron a partir de sus fuentes un día antes de su ingreso a los laboratorios de Ciencias de la Vida de la Universidad Politécnica

Salesiana, en un recipiente estéril identificado para cada punto de muestreo y se trasladaron en una hielera manteniendo una temperatura de 10°. De cada muestra ingresada se tomó la cantidad necesaria para su análisis microbiológico siguiendo el procedimiento de Perez Silva, Belmonte Cortés, y Martínez Corral de (1998), modificando la temperatura de conservación en – 80°C hasta su procesamiento; el resto del contenido se mantuvo refrigerado a 10°C y se empleó para el análisis fisicoquímico.

Análisis: Para todos los factores de estudio enumerados se realizaron 3 repeticiones. Para la determinación de metales pesados se realizaron dos tratamientos, el primero la digestión de acuerdo al procedimiento del equipo digestor y el segundo que siguió el procedimiento *Official Method 999.10(2000)* de la AOAC.

Capítulo 3

Resultados y discusión

3.1 Selección de Mercados del DMQ

Del total de parroquias legalmente reconocidas por el DMQ se tomaron al azar 33 entre urbanas y rurales, de manera que constituyeran el 50% del territorio metropolitano. De estas quedaron descartadas 4 porque la comercialización de jugos de alfalfa en estos sitios se realiza a través de ferias municipales, en las que dependiendo del lugar, la venta del producto era irregular o nula. De acuerdo a la ordenanza municipal No. 253 que determina el tipo de centro de abasto con el que cuentan todas las parroquias del distrito distingue: mercados mayoristas o centros de abasto, mercados minoristas y ferias municipales (Ordenanza Metropolitana No. 0253, 2008). La figura 3 muestra el territorio alcanzado con el estudio y la tabla 6 recopila la información recaudada del mercado de cada parroquia seleccionada.

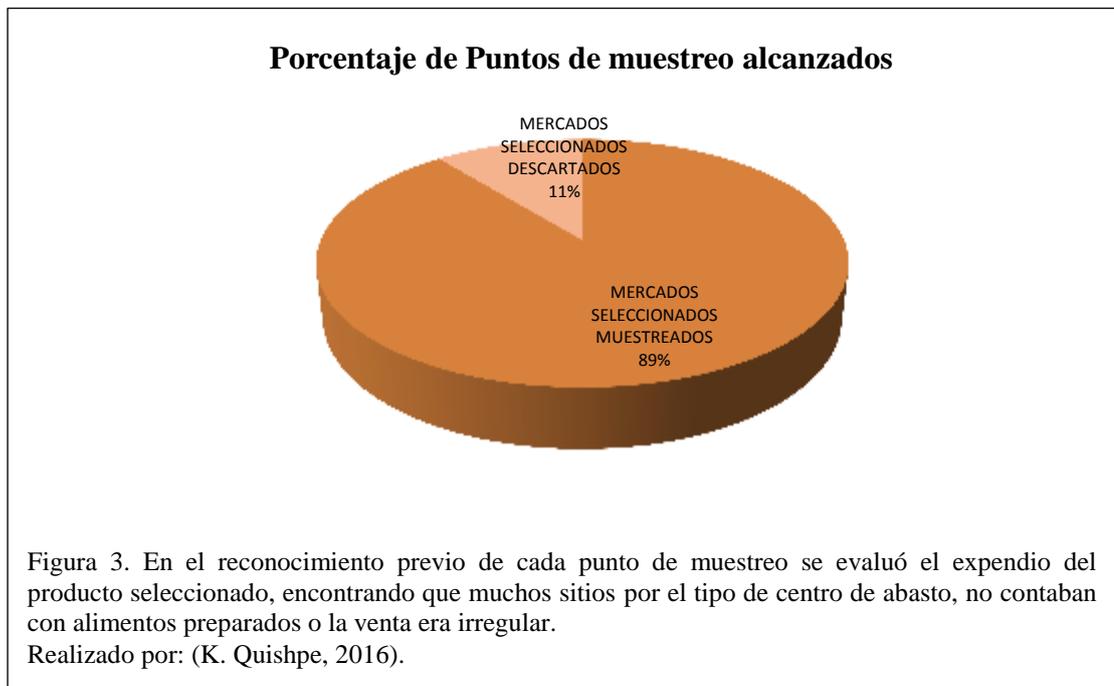


Tabla 6.
Información de mercados seleccionados

No	No. Identificación	Administración Zonal	Información por Mercado		
			Nombre	Dirección	Coordenadas geográficas
1	m25	Calderón	Mercado de calderón	Av. 9 de agosto y Paredes	-0.102510, -78.424253
2	m26	Calderón	Mercado de carapungo	Av. Río Cayambe y Neptaly Godoy	-0.095915, -78.450526
3	m27	Calderón	Mercado de llano grande	Av. Carapungo y Astudillo	-0.113538, -78.433666
4	m07	Eloy Alfaro	Mercado del calzado	Av. San Luis Oe - 358	-0.254751, -78.529311
5	m08	Eloy Alfaro	Mercado mayorista	Entre Av. Teniente Hugo Ortíz y Manglaralto	-0.271831, -78.533755
6	m09	Eloy Alfaro	Mercado solanda	Av. B. Aguilar y Juan Barreiro	-0.268919, -78.542844
7	m10	Eloy Alfaro	Mercado la magdalena	Av. General Quisquis y Cacha	-0.241693, -78.529691
8	m11	Eloy Alfaro	Mercado chiriyacu	Entre Calvas y Andrés Perez	-0.25021, -78.51905
9	m29	Eugenio Espejo	Mercado la Kennedy	Av. Gonzalo Zaldumbide y Capitan Ramón Borja	-0.139145, -78.477756
10	m30	Eugenio Espejo	Mercado ñaquito	Av. Ñaquito y José de Villalengua	-0.172013, -78.486225
11	m33	Eugenio Espejo	Mercado de Santa Clara	Av. Antonio Ulloa y Fray Antonio de Marchena	-0.199088, -78.499298
12	m21	La Delicia	Mercado Rumiñahui	Entre Av. Bonifaz Cumba y Real Audiencia	-0.126296, -78.486042
13	m22	La Delicia	Mercado Comité del Pueblo	Av. Cesar Endara y Calle Moreno	-0.117825, -78.467634
14	m23	La Delicia	Mercado de Carcelén	Av. Jaime Roldós Aguilera y Francisco Sanchez	-0.083380, -78.469458
15	m24	La Delicia	Mercado Cotocollao	Corredor Central Norte La Delicia S/N y Bellavista	-0.115944, -78.490293
16	m34	La Delicia	Mercado San Antonio Pichincha	Av. 13 de junio e Inty ñan	-0.003901, -78.443874
17	m19	La Mariscal	Mercado la Floresta	Av. Galvis e Isabel la Católica	-0.206571, -78.485249
18	m04	Manuela Sáenz	Mercado América	Av. Uruguay y Buenos Aires	-0.209690, -78.504747
19	m05	Manuela Sáenz	Mercado Central	Av. Pichincha y José Joaquín de Olmedo	-0.220029, -78.507021
20	m06	Manuela Sáenz	Mercado de San Roque	Av. Cumandá y Loja	-0.219972, -78.521432
21	m16	Quitumbe	Mercado Quito Sur	Av. Francisco Figueroa y Hernando de Benavente	-0.259796, -78.531109
22	m17	Quitumbe	Mercado Las Cuadras	Av. Mariscal Antonio José de Sucre s/n	-0.281167, -78.525237
23	m18	Quitumbe	Mercado de la Ciudadela Ibarra	Av. Martha Bucaram de Roldós y Martha Bucaram	-0.294923, -78.562769
24	m01	Tumbaco	Mercado Cumbayá	Av. General Eloy Alfaro y Cristo Rey	-0.200903, -78.434011
25	m02	Tumbaco	Mercado Tumbaco Centro	Av. Rita Lucumberry y Humberto Salvador	-0.214442, -78.408689
26	m03	Tumbaco	Mercado Puembo	Av. Santiago Apostol y 25 de Julio	-0.175588, -78.358642
27	m13	Tumbaco	Mercado Tumbaco "El Arenal"	Av. Interoceánica E28 y Segundo Guerra	-0.204457, -78.377083
28	m14	Tumbaco	Mercado Yaruqui	Av. Panamericana E35 y Eugenio Espejo Oe2 - 231	-0.162822, -78.320945
29	m15	Tumbaco	Mercado del Quinche	Av. Panamericana E35 y Cayambe SIF	-0.111059, -78.298854

Nota: Mercados pertenecientes al Distrito Metropolitano de Quito seleccionados para el estudio, consta su nombre de identificación y la dirección exacta para su muestreo. Realizado por: (K. Quishpe, 2016).

La selección de mercados abarca un gran porcentaje del territorio metropolitano, considera 19 mercados de parroquias urbanas y 10 de parroquias rurales; entre ellos podemos encontrar a varios de los mercados tradicionales de la ciudad como Santa Clara, Central e Ñaquito (Landeta, 2014), que por años se han caracterizado por su comercialización de alimentos preparados, uno de los más famosos, los batidos (Ministerio de Turismo Noticias, 2014). Estos centros de comercio, cuentan con un segmento de mercado definido que consume regularmente batidos que utilizan en su preparación el jugo natural de alfalfa en estudio; así según el Instituto Metropolitano de Patrimonio en (2013), los jugos constituyen en sí mismos, parte del patrimonio contemporáneo de la ciudad; por tanto un fragmento importante de la gastronomía popular.

3.2 Análisis Bromatológico

3.2.1 Caracterización organoléptica

La caracterización ha sido realizada en el jugo puro, es decir el licuado de la planta de alfalfa con agua, por lo que el sabor y olor son característicos de la preparación, sin embargo el color como se muestra en la tabla 7 difiere en algunos preparados, por tanto para evitar una caracterización subjetiva o aleatoria se empleó el Sistema de notación Munsell citado por Domínguez, Román, Prieto, & Acevedo en (2012), la figura 4 muestra los colores.



Tabla 7.
Resultados caracterización organoléptica

Informe de Ensayo		Evaluación sensorial: olor, color y sabor		
Método de muestreo		No aleatorio		
Identificación muestra		Color Sistema Munsell	Olor	Sabor
m1	Mercado Cumbayá	7GY5/14	Característico fresco	Característico metálico
m2	Mercado Tumbaco centro	7G5/14	Característico fresco	Característico metálico
m3	Mercado Puenbo	7GY5/14	Característico fresco	Característico metálico
m4	Mercado América	7G5/14	Característico fresco	Característico metálico
m5	Mercado Central	7G5/14	Característico fresco	Característico metálico
m6	Mercado de San roque	7GY5/14	Característico fresco	Característico metálico
m7	Mercado del calzado	7G5/14	Característico fresco	Característico metálico
m8	Mercado Mayorista	7GY5/14	Característico fresco	Característico metálico
m9	Mercado Solanda	7GY5/14	Característico fresco	Característico metálico
m10	Mercado la magdalena	7G5/14	Característico fresco	Característico metálico
m11	Mercado Chiriyacu	7GY5/14	Característico fresco	Característico metálico
m13	Mercado Tumbaco "El arenal"	7GY5/14	Característico fresco	Característico metálico
m14	Mercado Yaruqui	7G5/14	Característico fresco	Característico metálico
m15	Mercado del quinche	7G5/14	Característico fresco	Característico metálico
m16	Mercado Quito Sur	7GY5/14	Característico fresco	Característico metálico
m17	Mercado las cuadras	7G5/14	Característico fresco	Característico metálico
m18	Mercado de la ciudadela ibarra	7G5/14	Característico fresco	Característico metálico
m19	Mercado la floresta	7G5/14	Característico fresco	Característico metálico
m21	Mercado Rumiñahui	7G5/14	Característico fresco	Característico metálico
m22	Mercado Comité del Pueblo	7G5/14	Característico fresco	Característico metálico
m23	Mercado Carcelén	7GY5/14	Característico fresco	Característico metálico
m24	Mercado Cotacollao	7G5/14	Característico fresco	Característico metálico
m25	Mercado de calderón	7G5/14	Característico fresco	Característico metálico
m26	Mercado de carapungo	7G5/14	Característico fresco	Característico metálico
m27	Mercado de llano grande	7G5/14	Característico fresco	Característico metálico
m29	Mercado la kennedy	7GY5/14	Característico fresco	Característico metálico
m30	Mercado Ñaquito	7GY5/14	Característico fresco	Característico metálico
m33	Mercado de santa clara	7G5/14	Característico fresco	Característico metálico
m34	Mercado san antonio pichincha	7G5/14	Característico fresco	Característico metálico

Nota: la evaluación se realizó en las 29 muestras inmediatamente después de su ingreso, previniendo su deterioro. Realizado por: (K. Quishpe, 2016).

De acuerdo a la norma INEN NTE INEN 2 337:2008 se puede decir que la evaluación organoléptica de los jugos es aceptable pues todos presentaron las características sensoriales del alimento del que proceden, es decir de la alfalfa; y estuvieron exentos de sabores y/u olores objetables

3.2.2 Análisis Bromatológico

Tabla 8. Informe de Análisis bromatológico

Método de muestreo		No aleatorio						
Identificación muestra		Parámetro						
		Densidad relativa	Porcentaje de cenizas (%)	Porcentaje de humedad (%) y materia seca (g)		Contenido de azúcar (g/100g)	pH	Contenido de ácido tartárico (g/100mL)
		Resultado	Resultado	Resultado	Resultado	Resultado	Resultado	Resultado
m1	Mercado Cumbayá	1,869	0,353	99,820	0,179	0	5,843	0,018
m2	Mercado Tumbaco centro	1,026	0,247	99,540	0,450	0	5,945	0,015
m3	Mercado Puenbo	1,276	0,262	96,800	3,100	1,5	5,644	0,023
m4	Mercado América	1,008	0,187	99,660	0,350	1	5,638	0,018
m5	Mercado Central	1,016	0,447	99,030	0,967	0,1	5,735	0,038
m6	Mercado de san roque	1,047	0,195	98,540	1,440	1	4,752	0,045
m7	Mercado del calzado	1,009	0,102	99,515	0,490	1	6,452	0,058
m8	Mercado Mayorista	1,027	0,232	99,950	0,049	0,1	5,547	0,061
m9	Mercado Solanda	1,015	0,404	100,000	0,001	1	5,596	0,025
m10	Mercado la magdalena	1,014	1,935	97,860	2,193	1	6,14	0,085
m11	Mercado Chiriyacu	1,017	0,223	99,430	0,590	0,9	5,104	0,023
m13	Mercado Tumbaco "El arenal"	0,994	0,224	99,060	0,950	0	6,125	0,020
m14	Mercado Yaruqui	1,009	0,272	98,480	1,510	1,4	5,824	0,025
m15	Mercado del quinche	1,004	0,333	98,445	1,560	1	5,811	0,021
m16	Mercado Quito Sur	1,066	0,125	94,130	5,870	0,1	5,432	0,018
m17	Mercado las cuerdas	1,172	0,142	99,480	0,515	0	5,443	0,078
m18	Mercado de la Ciudadela Ibarra	1,144	0,243	98,130	1,868	1	5,991	0,021
m19	Mercado la floresta	1,142	0,274	95,275	4,730	0	5,788	0,038
m21	Mercado Rumiñahui	1,047	0,264	99,820	0,199	1	6,181	0,035
m22	Mercado Comité del Pueblo	1,036	0,505	100,000	0,001	0,1	5,606	0,063
m23	Mercado de carcelén	1,037	0,406	99,790	0,199	0	5,816	0,074
m24	Mercado Cotacollao	1,148	0,526	97,720	2,310	1	6,2	0,049
m25	Mercado de calderón	1,025	0,373	99,340	0,659	0,1	5,991	0,025
m26	Mercado de carapungo	1,031	1,441	99,480	0,490	0,1	6,153	0,056
m27	Mercado de llano grande	1,034	0,526	96,450	3,490	0,1	6,374	0,195
m29	Mercado la Kennedy	1,028	0,143	99,130	0,890	0	6,047	0,018
m30	Mercado Ñaquito	1,063	0,185	100,000	0,001	1	6,091	0,025
m33	Mercado de santa clara	1,027	0,373	97,365	2,632	1	6,081	0,025
m34	Mercado San Antonio Pichincha	1,025	0,754	100,000	0,001	1	5,877	0,043

Nota: Los datos corresponden a las 29 muestras analizadas que se realizaron por triplicado; los resultados de densidad aparente y pH son adimensionales. Realizado por (K. Quishpe, 2016).

La tabla 8 muestra los resultados obtenidos para el análisis bromatológico del producto.

La alfalfa al ser una planta empleada generalmente en la alimentación pecuaria (Dammer Bustamante & Izquierdo, 2004), no cuenta con estudios bromatológicos para el jugo de alfalfa como alimento de consumo humano, es por ello que los resultados hallados en el análisis del producto se contrastan con normativas generales aplicadas a jugos, pulpas, néctares y concentrados de fruta (INEN, 2008). Por lo que este estudio constituye una pauta para sistemas con semejantes características en el DMQ.

3.2.3 Densidad relativa

La densidad relativa de los jugos no describe un comportamiento variable, los resultados nos indican que la distribución es normal, donde la media es de 1,081, el mínimo valor es de 0,994 que corresponde a la muestra identificada como “Mercado Tumbaco el Arenal”, y el máximo de 1,869 a la muestra “Mercado Cumbaya”; este dato concuerda con aspecto general observado en dicho jugo al realizar la evaluación sensorial. Preparaciones similares de jugos de fruta, como la de coco enriquecida con soya formulada por Gálvez en (2015) y la de mortiño formulada por Tupuna en (2012) reportan densidades de 1,03516 y 1,0484 respectivamente; un poco menos densas que la media de los jugos de alfalfa. Esto puede deberse a que la planta de alfalfa es más fibrosa que las materias primas utilizadas en los jugos anteriormente citados; además la preparación difiere de acuerdo a su uso, pues como consta en el texto de Ríos, Koziol, Pedersen, & Granda en (2007) en su texto de Plantas Útiles del Ecuador, existen diferentes aplicaciones que requieren una preparación diferente; empleando solamente hojas o todas las partes aéreas de la planta según corresponda; haciendo el preparado más o menos denso.

3.2.4 Porcentaje de cenizas, materia seca y humedad

Los datos en ambas mediciones tienen una distribución normal. El porcentaje de cenizas tiene una media de 0,403%, el valor más bajo es de 0,102% de la muestra del “Mercado El Calzado”, y el máximo de 1,935% de la muestra del “Mercado La Magdalena”. Por su parte la materia seca y humedad se midieron en función de la humedad y los sólidos residuales cuantificados de forma automatizada por el equipo Humidificador, así la media en gramos de los sólidos solubles es del 1,299g, el valor mínimo es de 0,001g que corresponde a valores de humedad del 100% donde los sólidos residuales son despreciables, y el valor más alto es 5,870g de la muestra “Mercado Quito sur”.

De forma general el porcentaje de cenizas y materia seca es bajo, esto se debe al tipo de preparación, al ser un jugo está menos concentrado que un extracto u otras preparaciones habituales con plantas.

Productos como las pulpas, tienen valores de cenizas mucho más altos, la pulpa de borrojó reporta 0,73% (Ocampo, García, Franco, & Vallejo, 2012) al igual que la de tomate de árbol 0,70% (Buitrón, 2010); así mismo la humedad de las preparaciones citadas son más bajas, 69,41% y 84,02% respectivamente, debido a que no son preparaciones bebibles. En otros jugos como el de mortiño, las cenizas corresponden al 0,34% (Tupuna, 2012) y coco enriquecido al 0,48% (Gálvez, 2015); valores que se encuentran en el mismo rango que los reportados por los jugos naturales de alfalfa.

3.2.5 Determinación del pH

El pH de las muestras oscila entre 4,7 - 6,5 que de acuerdo a la escala es ácido y la media es de 5,8. La asociación de las muestras con respecto a esta variable se ha realizado mediante un dendrograma; la Figura 5 ilustra los resultados obtenidos y la Tabla 9 enumera las muestras incluidas en cada grupo.

Dendrograma de la variable pH

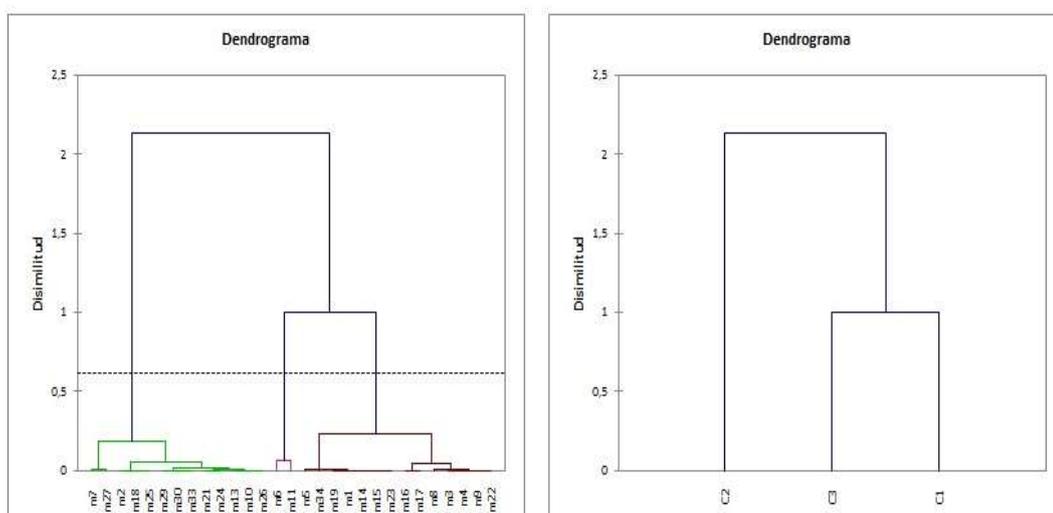


Figura 5. Dendrograma de la variable pH Diagrama generado por el Software XLSTAT Versión

2015.6.01.25539

Tabla 9.
Agrupación de datos de acuerdo a la variable pH

Clase	1	2	3
pH	5,644	6,140	4,752
	m1	m2	m6
	m3	m7	m11
	m4	m10	
	m5	m13	
	m8	m18	
	m9	m21	
Muestras	m14	m24	
	m15	m25	
	m16	m26	
	m17	m27	
	m19	m29	
	m22	m30	
	m23	m33	
	m34		

Nota: Agrupación mediante distancias de los objetos centrales. Generado por el Software XLSTAT Versión 2015.6.01.25539 Realizado por: (K. Quishpe 2016).

El pH se establece como un punto crítico en la conservación de los alimentos; de acuerdo a lo planteado en el texto de Barreiro & Sandoval de (2006), los alimentos con pH de 6 y más cercanos a la neutralidad son más propicios para el crecimiento bacteriano, no así valores inferiores a estos. Por tanto según lo referido, las muestras que se encuentran en el grupo de pH 6, serían más propicias al crecimiento

bacteriano y por tanto deben analizarse con mayor detenimiento en la evaluación de los parámetros microbiológicos.

Al ser el valor de pH crítico en lo que respecta a la estabilidad del alimento se encuentra regulado, a nivel nacional según la norma INEN NTE INEN 2 337:2008 de Jugos, Pulpas, Concentrados, Néctares, Bebidas de Frutas y Vegetales, el pH para bebidas de fruta debe ser inferior a 4,5 (INEN, 2008). Se tomó este valor como referencial debido a que el jugo natural de alfalfa es utilizado para la preparación de batidos con fruta (Ríos, Koziol, Pedersen, & Granda, 2007, p. 190); y al compararlo con los valores observados, ninguna de las muestras cumple con este requerimiento.

3.2.6 Contenido de Azúcar

El contenido de azúcar de la muestra es bajo debido a que no se añade durante la preparación del jugo según lo descrito en la bibliografía (Ríos, Koziol, Pedersen, & Granda, 2007, p. 190), y se analiza el aporte único de la alfalfa. La media es de 0,569 g/100g y el contenido máximo de azúcar es de 1,5g por cada 100g de jugo.

Extractos puros de alfalfa como el elaborado por Pico, y otros en (2011) reportan el contenido de azúcar como bajo, resaltando otras características de la planta como el contenido de hierro y nitrógeno; es por ello que en preparaciones menos concentradas como los jugos analizados, su contenido es también poco significativo.

La norma INEN utilizada para evaluar las características del jugo plantea que el aporte de azúcar medido en grados Brix debe ser proporcional al aporte de la fruta y/o vegetal utilizado en la elaboración del mismo (INEN, 2008), como el bajo contenido de azúcar del jugo se debe a las características de la alfalfa; los valores reportados son normales para esta preparación.

3.2.7 Contenido de ácido tartárico

El contenido de ácidos en preparaciones con frutas y vegetales es importante ya que algunas características como la acidez y el sabor dependen de su presencia (Badui, 1999), a pesar de ello la norma INEN utilizada para evaluar las características del jugo en estudio no contempla esta variable.

De forma general el contenido de ácido tartárico por muestra es bajo, la media es de 0,042g por 100mL de jugo. El valor máximo es de 0,195 g/mL de la muestra “Mercado de Llano Grande”, mientras que el mínimo fue de 0,015 g/100mL del “Mercado Tumbaco centro”.

En otros jugos como el de mortiño cuyo sabor es característicamente ácido, el valor de esta variable es también bajo y se reporta bajo los límites de detección (Tupuna, 2012); sin embargo cuenta con otros ácidos orgánicos que aportan al sabor como: ácido cítrico 1185,99 mg/100g, ácido málico 451,52mg/100g, además de su contenido de vitamina C (pág. 60). Así, en el caso de la alfalfa no se han encontrado más ácidos que puedan aportar al sabor y acidificar el mismo (Pico, y otros, 2011).

3.2.8 Generalidades de la caracterización bromatológica de los jugos naturales de alfalfa

De acuerdo a la norma INEN NTE INEN 2 337:2008 se puede decir que la evaluación organoléptica de los jugos es aceptable y está exenta de sabores y/u olores extraños.

La densidad de los jugos es adecuada para el tipo de preparación, al igual su contenido de cenizas y materia seca; este último parámetro a pesar de ser bajo varía de acuerdo a la preparación de la bebida de alfalfa (Ríos, Koziol, Pedersen, & Granda, 2007).

En lo que respecta al contenido de azúcar, el aporte de la alfalfa es muy pobre por lo que depende completamente de la preparación y de la fruta que se le añade en caso de ser un batido, la misma situación ocurre con el contenido de ácido tartárico; pues al ser muy bajo no influye propiedades de acidez al preparado. El pH es una variable crítica en jugos y demás preparaciones bebibles, a pesar de ello ninguna de las muestras estudiadas cumplió con la regulación de la norma INEN anteriormente citada; por lo que puede influir en la estabilidad del alimento.

3.3 Determinación de metales pesados

En este apartado primero se analizarán los resultados obtenidos en cada una de las fases del ensayo y después se discutirá la situación general de contaminación por metales pesados de las muestras de los mercados incluidos en el estudio.

3.3.1 Preparación de las muestras

Para la determinación de metales pesados en la alfalfa como alimento, han sido realizadas pruebas de digestión y Espectrofotometría de Absorción Atómica de llama en el jugo y en el precipitado del producto, obteniendo resultados en el segundo. Para ello han sido procesados entre 300 y 600mL de cada una de las 29 muestras como consta en el procedimiento y se muestra en el anexo 2, obteniendo un precipitado de color verde pastoso.

El peso de precipitado obtenido de cada jugo varió de acuerdo a la cantidad de materia seca y el proceso tuvo que repetirse hasta obtener la cantidad de precipitado en mg necesaria para la digestión ácida, la tabla 10 muestra las cantidades obtenidas en una repetición. Esta observación aporta mayor evidencia para suponer que la cantidad de metales podría estar relacionada con la cantidad planta en el jugo.

Tabla 10.
Precipitados obtenidos mediante centrifugación

Identificación muestras	m1	m2	m3	m4	m5	m6	m7	m8	m9	m10	m11	m13	m14	m15	m16
Peso precipitado	650,00	512,90	401,30	535,60	600,00	600,00	350,90	329,00	600,00	610,00	600,00	296,30	600,00	600,00	515,50
	mg														
Volumen centrifugado	300	600	600	600	300	300	600	600	300	300	300	600	300	300	600
	mL														
Identificación muestras	m17	m18	m19	m21	m22	m23	m24	m25	m26	m27	m29	m30	m33	m34	
Peso precipitado	600,00	600,00	447,50	600,00	600,00	600,00	509,00	600,00	600,00	600,00	365,10	600,00	600,00	600,00	
	mg														
Volumen centrifugado	300	300	600	300	300	300	600	300	300	300	600	300	300	300	
	mL														

Nota: las muestras que presentaron bajas cantidades de materia seca en el análisis de humedad y materia seca, son las mismas cuyo precipitado requirió centrifugar mayor cantidad de muestra. Realizado por: (K. Quishpe, 2016).

3.3.2 Digestión ácida

Se siguieron dos procedimientos, el procedimiento 1 corresponde al planteado por el equipo Berghof Modelo: Speedwave Two del (2006), para plantas secas. En este se empleó únicamente 5mL de ácido nítrico, esta cantidad ha reportado resultados favorables en las investigaciones de Tam Y. & Yao Y., de (1999), Carqueija Amorim & Almeida Bezerra de (2007), y Ghaedi, Shokrollahi, Niknam, Niknam, & Soylak, de (2009), entre otras; realizadas en diversos tipos de muestras.

El procedimiento 2 fue el proceso *Official Method 999.10(2000)* de AOAC de (2000), empleando 2,5mL de ácido sulfúrico y 2,5mL de ácido nítrico, de manera que fuera más agresivo con el material vegetal. Esto debido a que en el texto de Ríos, Koziol, Pedersen, & Granda de (2007), se manifiesta que los licuados pueden contener además de las hojas, otras estructuras aéreas como los tallos, que son más fibrosos que las otras partes de la planta. Estudios y revisiones como los de Momen, Zachariadis, Anthemidis, & Stradis en (2008) enuncian que la combinación de los

ácidos antes señalados, son más efectivas y significativas en la extracción de varios metales, incluidos los metales pesados de esta investigación.

La incidencia de cada tratamiento en la disponibilidad de los metales en estudio se ampliará a continuación durante el análisis del contenido de metales pesados.

3.3.3 Lectura de metales pesados

3.3.3.1 Cadmio

Tabla 11.
Resultados EAA de Cadmio

Informe de Ensayo	Espectrofotometría de absorción atómica de llama	
Método de muestreo	No aleatorio	
Metal	Cadmio	
Tratamiento	Procedimiento 1	Procedimiento 2
Identificación muestra	Resultado (ug/mL)	Resultado (ug/mL)
m1	0,01	0,07
m2	0,01	0,07
m3	0,01	0,08
m4	0,01	0,08
m5	0,01	0,08
m6	0,01	0,08
m7	0,01	0,07
m8	0,01	0,07
m9	0,01	0,03
m10	0,01	0,08
m11	0,01	0,07
m13	0,01	0,05
m14	0,01	0,08
m15	0,01	0,07
m16	0,01	0,07
m17	0,01	0,07
m18	0,01	0,08
m19	0,01	0,07
m21	0,01	0,08
m22	0,01	0,08
m23	0,01	0,08
m24	0,01	0,08
m25	0,02	0,09
m26	0,01	0,09
m27	0,01	0,08
m29	0,01	0,07
m30	0,01	0,08
m33	0,01	0,08
m34	0,01	0,08

Nota: Los resultados mostrados corresponden a la cantidad de cadmio total detectada en el digestado de 300mg de precipitado de jugo puro de alfalfa. Realizado por: (K.Quishpe, 2016).

Estudios evidencian que la alfalfa (*Medicago sativa*), puede absorber Cadmio y acumularlo en función del pH del suelo en el que se desarrolla (Peralta - Videa, y otros, 2002); así los resultados de la tabla 11 evidencian la presencia de este elemento en las muestras. Los datos del tratamiento 1 se encuentran bajo los límites de detección por lo que el cálculo aproximado del contenido de cadmio de cada mercado muestreado se realiza con los valores del tratamiento 2, los resultados se muestran en la tabla 12.

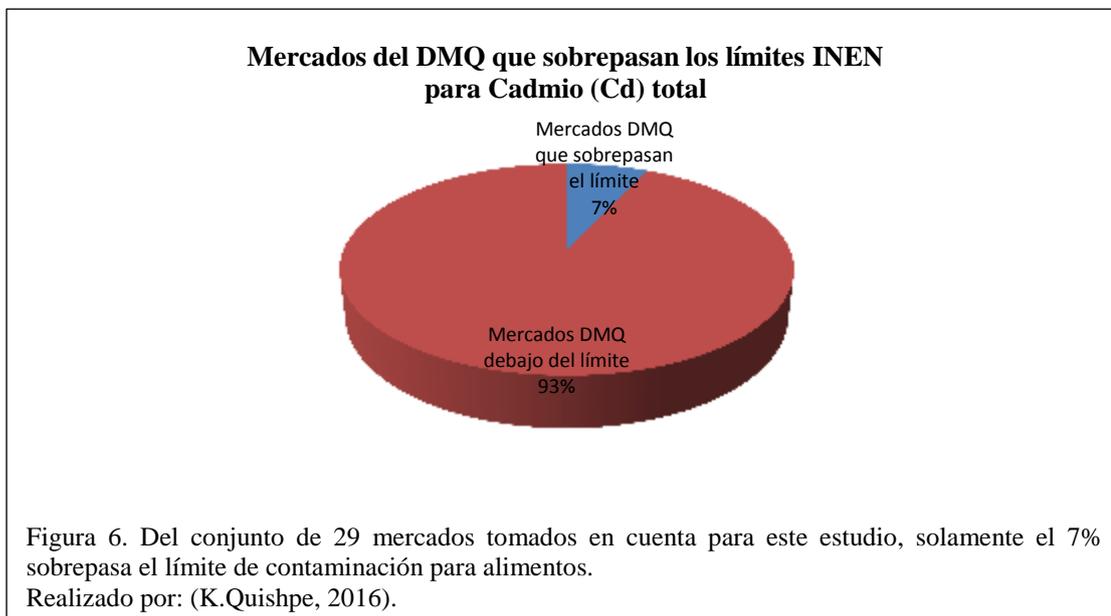
Tabla 12.
Contenido aproximado de cadmio total por muestra

Identificación muestra		Cálculo aproximado por muestra (mg/kg)
m1	Mercado cumbayá	0,1309
m2	Mercado Tumbaco centro	0,0718
m3	Mercado Puenbo	0,1021
m4	Mercado américa	0,0806
m5	Mercado central	0,0813
m6	Mercado de san roque	0,0838
m7	Mercado del calzado	0,0707
m8	Mercado mayorista	0,0719
m9	Mercado solanda	0,0304
m10	Mercado la magdalena	0,0812
m11	Mercado chiriyacu	0,0712
m13	Mercado tumbaco "El arenal"	0,0497
m14	Mercado yaruqui	0,0807
m15	Mercado del quinche	0,0702
m16	Mercado Quito Sur	0,0746
m17	Mercado las cuadras	0,0820
m18	Mercado de la ciudadela ibarra	0,0915
m19	Mercado la floresta	0,0799
m21	Mercado Rumiñahui	0,0838
m22	Mercado Comité del Pueblo	0,0828
m23	Mercado de carcelén	0,0829
m24	Mercado cotocollao	0,0918
m25	Mercado de calderón	0,0922
m26	Mercado de carapungo	0,0928
m27	Mercado de llano grande	0,0827
m29	Mercado la kennedy	0,0720
m30	Mercado ñaquito	0,0850
m33	Mercado de santa clara	0,0822
m34	Mercado san antonio pichincha	0,0820

Nota: la cantidad aproximada de metal se calculó aproximando el valor de la lectura a la cantidad total de cada muestra recolectada que fue 1000mL y en función de la densidad aparente calculada. Realizado por: (K.Quishpe, 2016).

Al ser el cadmio un metal pesado pernicioso para la salud está regulado, los valores calculados se contrastaron con el límite de cadmio total, que es de 0,1mg/kg

establecido en la norma INEN para contaminantes y toxinas presentes en alimentos y piensos (INEN, 2013); concluyendo que únicamente los mercados “Cumbaya” y “Puembo” sobrepasan el límite; la figura 6 ejemplifica mejor este resultado.



3.3.3.2 Cobre

Tabla 13.

Resultados EAA de Cobre

Informe de Ensayo	Espectrofotometría de absorción atómica de llama	
	Cobre	
Metal	Cobre	
Tratamiento	Procedimiento 1	Procedimiento 2
Identificación muestra	Resultado (ug/mL)	Resultado (ug/mL)
m1	0,29	0,29
m2	0,40	0,19
m3	0,5	0,26
m4	0,24	0,23
m5	0,79	0,68
m6	0,19	0,23
m7	0,23	0,14
m8	0,51	0,34
m9	0,41	0,14
m10	0,32	0,30
m11	0,13	0,14
m13	0,27	0,25
m14	0,13	0,12
m15	0,14	0,12
m16	0,22	0,24
m17	0,24	0,22
m18	0,26	0,26
m19	0,21	0,18
m21	0,31	0,26
m22	0,62	0,54
m23	0,39	0,31
m24	0,22	0,12
m25	0,16	0,25
m26	3,02	3,64
m27	1,77	2,14
m29	0,18	0,008
m30	0,33	0,10
m33	0,23	0,26
m34	0,18	0,16

Nota: Los resultados mostrados corresponden a la cantidad de cobre total detectada en el digestado de 300mg de precipitado de jugo puro de alfalfa. Realizado por: (K.Quishpe, 2016).

La planta de alfalfa (*Medicago sativa*) cuenta con estudios que reportan su acumulación de cobre (Peralta - Videa, y otros, 2002), así los resultados mostrados en la tabla 13 evidencian la presencia de este metal en las muestras.

Ambas lecturas son válidas pues están sobre el límite de detección del equipo que es de 0,03ug/mL de cobre total como consta en la tabla 5; por lo que se aplicó la prueba de Normalidad Shapiro – Wilk en el software Statistix 8.0, además de un histograma para determinar el grupo cuenta con una distribución más homogénea. El procedimiento 1 tiene una desviación típica de 0,585 y del procedimiento 2 de 0,725; escogiendo el procedimiento 1. Con estos datos se realizó el cálculo aproximado del contenido de cobre de cada mercado muestreado, los valores se muestran en la tabla 14.

Tabla 14.
Contenido aproximado de cobre total por muestra

Identificación muestra		Cálculo aproximado por muestra (mg/Kg)
m1	Mercado cumbayá	0,5421
m2	Mercado Tumbaco centro	0,4105
m3	Mercado Puembo	0,6381
m4	Mercado américa	0,2418
m5	Mercado central	0,8029
m6	Mercado de san roque	0,1990
m7	Mercado del calzado	0,2322
m8	Mercado mayorista	0,5235
m9	Mercado solanda	0,4160
m10	Mercado la magdalena	0,3246
m11	Mercado chiriyacu	0,1322
m13	Mercado tumbaco "El arenal"	0,2684
m14	Mercado yaruqui	0,1311
m15	Mercado del quinche	0,1405
m16	Mercado Quito Sur	0,2345
m17	Mercado las cuadras	0,2813
m18	Mercado de la ciudadela ibarra	0,2974
m19	Mercado la floresta	0,2397
m21	Mercado Rumiñahui	0,3246
m22	Mercado Comité del Pueblo	0,6421
m23	Mercado de carcelén	0,4043
m24	Mercado cotocollao	0,2525
m25	Mercado de calderón	0,1640
m26	Mercado de carapungo	3,1135
m27	Mercado de llano grande	1,8306
m29	Mercado la kennedy	0,1851
m30	Mercado ñaquito	0,3506
m33	Mercado de santa clara	0,2363
m34	Mercado san antonio pichincha	0,1844

Nota: la cantidad aproximada de metal se calculó aproximando el valor de la lectura a la cantidad total de cada muestra recolectada que fue 1000mL y en función de la densidad aparente calculada. Realizado por: (K.Quishpe, 2016).

La presencia de cobre es perjudicial para la salud por lo que está regulada, en la norma INEN para jugos y bebidas utilizada para contrastar los contaminantes en estudio (INEN, 2013), fija el límite en 5mg/Kg de cobre total, comparando este límite con los resultados obtenidos, ninguna muestra lo sobrepasa. A pesar de ello es notable que el contenido de este metal en la muestra “Carapungo” 3,1135mg/Kg es muy superior al de todos los demás mercados estudiados.

3.3.3.3 Cromo

Tabla 15.
Resultados EAA de Cromo

Informe de Ensayo	Espectrofotometría de absorción atómica de llama	
Método de muestreo	No aleatorio	
Metal	Cromo	
Tratamiento	Procedimiento 1	Procedimiento2
Identificación muestra	Resultado (ug/mL)	Resultado (ug/mL)
m1	0	0
m2	0	0
m3	0	0
m4	0	0
m5	0,08	0,05
m6	0	0
m7	0	0
m8	0	0,16
m9	0,37	0
m10	0	0
m11	0	0
m13	0	0
m14	0	0
m15	0	0
m16	0	0
m17	0	0
m18	0	0
m19	0	0
m21	0	0
m22	0,06	0
m23	0,16	0
m24	0	0
m25	0	0
m26	0,06	0,06
m27	0,09	0,06
m29	0	0
m30	0	0
m33	0	0
m34	0	0

Nota: Los resultados mostrados corresponden a la cantidad de níquel total detectada en el digestado de 300mg de precipitado de jugo puro de alfalfa. Realizado por: (K.Quishpe, 2016).

Para esta lectura el límite de detección inferior según los parámetros del equipo es de 0,06 ug/mL como se enuncia en la tabla 5, por ello los datos sugieren que este elemento no se encuentra en las muestras.

En estudios de biorremediación de suelos contaminados por metales pesados, se reporta que la alfalfa (*Medicago sativa*) es sensible a los efectos producidos por el cromo, especialmente el Cr (VI) en sus etapas primarias de desarrollo ralentizando su crecimiento en concentraciones de 5 a 10 ppm (Peralta - Vide, y otros, 2002). Otras investigaciones en alimentos como la de Ibnu Hajar, Bin Sulaiman, & Mimi Sakinah en (2014) mencionan que varias especies vegetales no poseen mecanismos para el transporte de cromo y por ello este elemento no es común en vegetales comestibles (pág. 390). Este hecho aporta a la conclusión de que el contenido de cromo en plantas de alfalfa es poco habitual y por tanto es prácticamente nulo en las muestras estudiadas.

3.3.3.4 Níquel

Tabla 16.
Resultados EAA de Níquel

Informe de Ensayo	Espectrofotometría de absorción atómica de llama	
	No aleatorio	
Método de muestreo	Níquel	
Metal	Níquel	
Tratamiento	Procedimiento 1	Procedimiento 2
Identificación muestra	Resultado (ug/mL)	Resultado (ug/mL)
m1	0,12	0,52
m2	0,11	0,46
m3	0,12	0,46
m4	0,14	0,41
m5	0,16	0,45
m6	0,12	0,41
m7	0,1	0,46
m8	0,12	0,43
m9	0,12	0,1
m10	0,12	0,61
m11	0,14	0,5
m13	0,05	0,37
m14	0,18	0,6
m15	0,16	0,53
m16	0,6	0,6
m17	0,04	0,5
m18	0,04	0,52
m19	0,2	0,55
m21	0	0,5
m22	0	0,44
m23	0	0,44
m24	0	0,42
m25	0,03	0,56
m26	0	0,58
m27	0,04	0,5
m29	0	0,4
m30	0	0,56
m33	0	0,57
m34	0	0,44

Nota: Los resultados mostrados corresponden a la cantidad de níquel total detectada en el digestado de 300mg de precipitado de jugo puro de alfalfa. Realizado por: (K.Quishpe, 2016).

El níquel es un metal pesado que puede ser removido del suelo por la alfalfa (*Medicago sativa*) según lo reportado por Peralta - Videa, y otros en (2002), así las lecturas de níquel de la Tabla 16 reportan su presencia en los jugos. El límite inferior de detección para este metal es de 0,1 ug/mL (tabla 5), por lo que ambas lecturas son válidas. Para determinar cuál de los grupos de datos tiene una distribución homogénea, se aplicó la prueba de Normalidad Shapiro – Wilk en el software Statistix 8.0, además de un histograma. La desviación típica del procedimiento 1 fue de 0,117 y del procedimiento 2 0,099; por lo que se utilizan los datos del procedimiento dos para el cálculo aproximado del contenido de níquel que se muestra en la tabla 17.

Tabla.17
Contenido aproximado de níquel total por muestra

Identificación muestra	Cálculo aproximado por muestra (mg/Kg)	
m1	Mercado cumbayá	0,9720
m2	Mercado Tumbaco centro	0,4721
m3	Mercado Puenbo	0,5871
m4	Mercado américa	0,4131
m5	Mercado central	0,4574
m6	Mercado de san roque	0,4294
m7	Mercado del calzado	0,4643
m8	Mercado mayorista	0,4414
m9	Mercado solanda	0,1015
m10	Mercado la magdalena	0,6188
m11	Mercado chiriyacu	0,5086
m13	Mercado tumbaco "El arenal"	0,3679
m14	Mercado yaruqui	0,6052
m15	Mercado del quinche	0,5319
m16	Mercado Quito Sur	0,6397
m17	Mercado las cuadras	0,5861
m18	Mercado de la ciudadela ibarra	0,5949
m19	Mercado la floresta	0,6279
m21	Mercado Rumiñahui	0,5235
m22	Mercado Comité del Pueblo	0,4557
m23	Mercado de carcelén	0,4561
m24	Mercado cotocollao	0,4821
m25	Mercado de calderón	0,5738
m26	Mercado de carapungo	0,5980
m27	Mercado de llano grande	0,5171
m29	Mercado la kennedy	0,4114
m30	Mercado ñaquito	0,5950
m33	Mercado de santa clara	0,5855
m34	Mercado san antonio pichincha	0,4508

Nota: la cantidad aproximada de metal se calculó aproximando el valor de la lectura a la cantidad total de cada muestra recolectada que fue 1000mL y en función de la densidad aparente calculada. Realizado por: (K.Quishpe, 2016).

A pesar de que el níquel es un metal potencialmente perjudicial para la salud, la norma INEN que establece los límites de tolerancia para metales pesados (INEN, 2013) no contempla este elemento. Regulaciones de otros países del continente como la Argentina tampoco establecen un límite de tolerancia en jugos o zumos envasados (Dpto. de Salud Pública, 2016), mientras que en Brasil el límite de tolerancia en zumos de frutas y jarabes naturales es de 3 ppm (Ministerio de agricultura y Abastecimiento del Brasil, 1999). Tomando en cuenta este último, ninguna de las muestras analizadas sobrepasa la regulación.

3.3.3.5 Plomo

Tabla 18.
Resultados EAA de Plomo

Informe de Ensayo		Espectrofotometría de absorción atómica de llama	
Método de muestreo	No aleatorio		
Metal	Plomo		
Tratamiento	Procedimiento 1	Procedimiento 2	
Identificación muestra	Resultado (ug/mL)	Resultado (ug/mL)	
m1	0,4	2,7	
m2	0,4	2,4	
m3	0,3	2,6	
m4	0,3	2,5	
m5	0,4	2,5	
m6	0,7	2,7	
m7	0,5	2,5	
m8	0,3	2,8	
m9	0,3	1,4	
m10	0,4	2,6	
m11	0,5	2,3	
m13	0,4	1,6	
m14	0,4	2,8	
m15	0,9	2,4	
m16	0,6	2,6	
m17	0,8	2,4	
m18	0,6	2,5	
m19	0,6	2,6	
m21	0,5	2,5	
m22	0,3	2,6	
m23	0,5	2,5	
m24	0,7	2,7	
m25	0,3	2,5	
m26	0,6	2,8	
m27	0,7	2,6	
m29	0,5	2,4	
m30	0,5	2,5	
m33	0,3	2,6	
m34	0,4	2,2	

Nota: Los resultados mostrados corresponden a la cantidad de plomo total detectada en el digestado de 300mg de precipitado de jugo puro de alfalfa. Realizado por: (K.Quishpe, 2016).

Algunos metales como el plomo pueden ser removidos del suelo por la alfalfa (*Medicago sativa*) y dependiendo el pH del sustrato este elemento puede acumularse en razón de 80ppm en las raíces (Peralta - Videar, y otros, 2002). Las lecturas de las muestras de jugo evidencian la presencia de dicho metal. Ambos tratamientos cuentan con lecturas válidas ya que se encuentran por encima del límite de detección de 0,1 ug/mL (tabla 5). Sin embargo se puede observar una diferencia considerable entre ambos reportes; la bibliografía plantea que en casos como estos las digestiones que utilizan la combinación de los ácidos nítrico y sulfúrico muestran una mayor disponibilidad de metales en el digestado (Momen, Zachariadis, Anthemidis, & Stradis, 2008). Por ello se utilizan los datos del procedimiento 2 para el cálculo aproximado del contenido de plomo que se muestra en la tabla 19.

Tabla.19
Contenido aproximado de plomo total por muestra

Identificación muestra		Cálculo aproximado por muestra (mg/Kg)
m1	Mercado cumbayá	5,0471
m2	Mercado Tumbaco centro	2,4631
m3	Mercado Puenbo	3,3182
m4	Mercado américa	2,5188
m5	Mercado central	2,5409
m6	Mercado de san roque	2,8275
m7	Mercado del calzado	2,5235
m8	Mercado mayorista	2,8742
m9	Mercado solanda	1,4204
m10	Mercado la magdalena	2,6375
m11	Mercado chiriyacu	2,3395
m13	Mercado tumbaco "El arenal"	1,5907
m14	Mercado yaruqui	2,8245
m15	Mercado del quinche	2,4085
m16	Mercado Quito Sur	2,7718
m17	Mercado las cuadras	2,8130
m18	Mercado de la ciudadela ibarra	2,8600
m19	Mercado la floresta	2,9681
m21	Mercado Rumiñahui	2,6176
m22	Mercado Comité del Pueblo	2,6925
m23	Mercado de carcelén	2,5914
m24	Mercado cotocollao	3,0989
m25	Mercado de calderón	2,5618
m26	Mercado de carapungo	2,8867
m27	Mercado de llano grande	2,6890
m29	Mercado la kennedy	2,4681
m30	Mercado ñaquito	2,6563
m33	Mercado de santa clara	2,6709
m34	Mercado san antonio pichincha	2,2539

Nota: la cantidad aproximada de metal se calculó aproximando el valor de la lectura a la cantidad total de cada muestra recolectada que fue 1000mL y en función de la densidad aparente calculada. Realizado por: (K.Quishpe, 2016).

El contenido de plomo es elevado en todas las muestras y al ser perjudicial para la salud está regulado, los límites de tolerancia se establecen en las normas NTE INEN 2 337:2008 de jugos y bebidas; y la Norma general para los contaminantes y toxinas presentes en los alimentos y piensos CODEX STAN 193-1995 adoptada por el INEN. En el primer caso el límite es de 0,05 mg/Kg y en el segundo de 0,2 un poco más flexible debido a que es una norma general; sin embargo los datos quintuplican ambos límites.

3.3.3.6 *Análisis de la efectividad de los tratamientos para la digestión del material vegetal*

A manera de resumen la figura 7 nos ilustra los elementos con datos válidos extraídos con cada uno de los tratamientos propuestos para este análisis.



Se puede determinar a partir de los resultados obtenidos, que el parámetro crítico para la digestión del material vegetal de alfalfa está relacionado directamente con los ácidos empleados para la misma, puesto que la temperatura, potencia, tiempo y ciclos de calentamiento fueron los mismos para cada tratamiento.

En el caso del tratamiento 1 que constaba solamente de ácido nítrico y agua desionizada, está bien documentado su uso en gran cantidad de muestras que van desde varias de tipo biológicas (Ghaedi, Shokrollahi, Niknam, Niknam, & Soylak, 2009), sedimentos (Tam Y. & Yao Y., 1999), y material vegetal (Carqueija Amorim & Almeida Bezerra, 2007), entre otros. Sin embargo para el material vegetal de alfalfa, el único ácido empleado en el procedimiento no fue suficiente. El único resultado obtenido, es decir la extracción de cobre, coincide con la investigación de Ghaedi, Shokrollahi, Niknam, Niknam, & Soylak de (2009) donde utilizan este procedimiento para la digestión específica de material biológico para la lectura de este metal.

El procedimiento 2 tiene la mezcla de los ácidos nítrico y sulfúrico; y además se modificó aumentando la cantidad de los mismos con el fin de potenciar su mezcla y destruir por completo el material vegetal que pudiera considerarse más fibroso. Los resultados obtenidos apoyan la conclusión de que la mezcla es efectiva y mejora la liberación de los metales que se estudiaron. Estos resultados coinciden con lo descrito por Momen, Zachariadis, Anthemidis, & Stradis en (2008), donde se determinó que el uso de los ácidos nítrico y sulfúrico, además de la variable temperatura; son los parámetros más significativos en lo que respecta a la digestión del material en este tipo de procedimientos.

Así podemos decir que el procedimiento más adecuado para la digestión de material vegetal de alfalfa fue el tratamiento más agresivo, el tratamiento 2; pues se sabe que en los jugos se emplean además de las hojas, otras partes aéreas de la planta como los tallos, que pueden ser más fibrosos y más difíciles de destruir por su contenido de celulosa.

3.3.3.7 Análisis general de la contaminación de metales pesados de los jugos naturales de alfalfa

Estudios a nivel mundial como los de Aldjain, Al-Whaibi, Al-Showiman, & Siddiqui en (2010), Ali & Khairia en (2012), Nasser & Almohisen en (2013), y Ibnu Hajar, Bin Sulaiman, & Mimi Sakinah en (2014); concuerdan en que la presencia de metales pesados en vegetales de consumo humano se debe principalmente a las actividades industriales intensivas, entre otras de origen antropogénico que liberan efluentes con estos contaminantes.

Todas las muestras correspondientes a cada mercado incluido en este estudio tienen trazas de metales pesados, estos elementos pueden provenir de las fuentes ya mencionadas; sin embargo en el texto de Sigh & Fulekar de (2009) se manifestó que la planta por si misma puede bioacumular varios metales pesados, el proceso que realiza es la inmovilización por medio de las raíces para su posterior acumulación (Al - Rashd & Sulaiman, 2013).

En el mismo contexto, la investigación de Ali & Khairia en (2012) menciona que debido al contacto que tienen las hojas de los vegetales con el ambiente, estas presentan mayor acumulación de metales que otras estructuras de la planta; especialmente cadmio, plomo y cobre, este último en cantidades superiores a los límites permisibles (pág. 38). Estos hallazgos aportan la conclusión de que otra parte de la contaminación presente en las muestras puede absorberse a partir de las partes aéreas de la planta. Estos fenómenos ya descritos y estudiados, trasladados a esta investigación pueden explicar el contenido de metales pesados en los jugos, pues como se sabe estos se realizan con las estructuras aéreas de la planta de alfalfa. La tabla 20 muestra el cumplimiento de los límites de tolerancia para cada metal analizado en cada muestra de acuerdo a la normativa nacional.

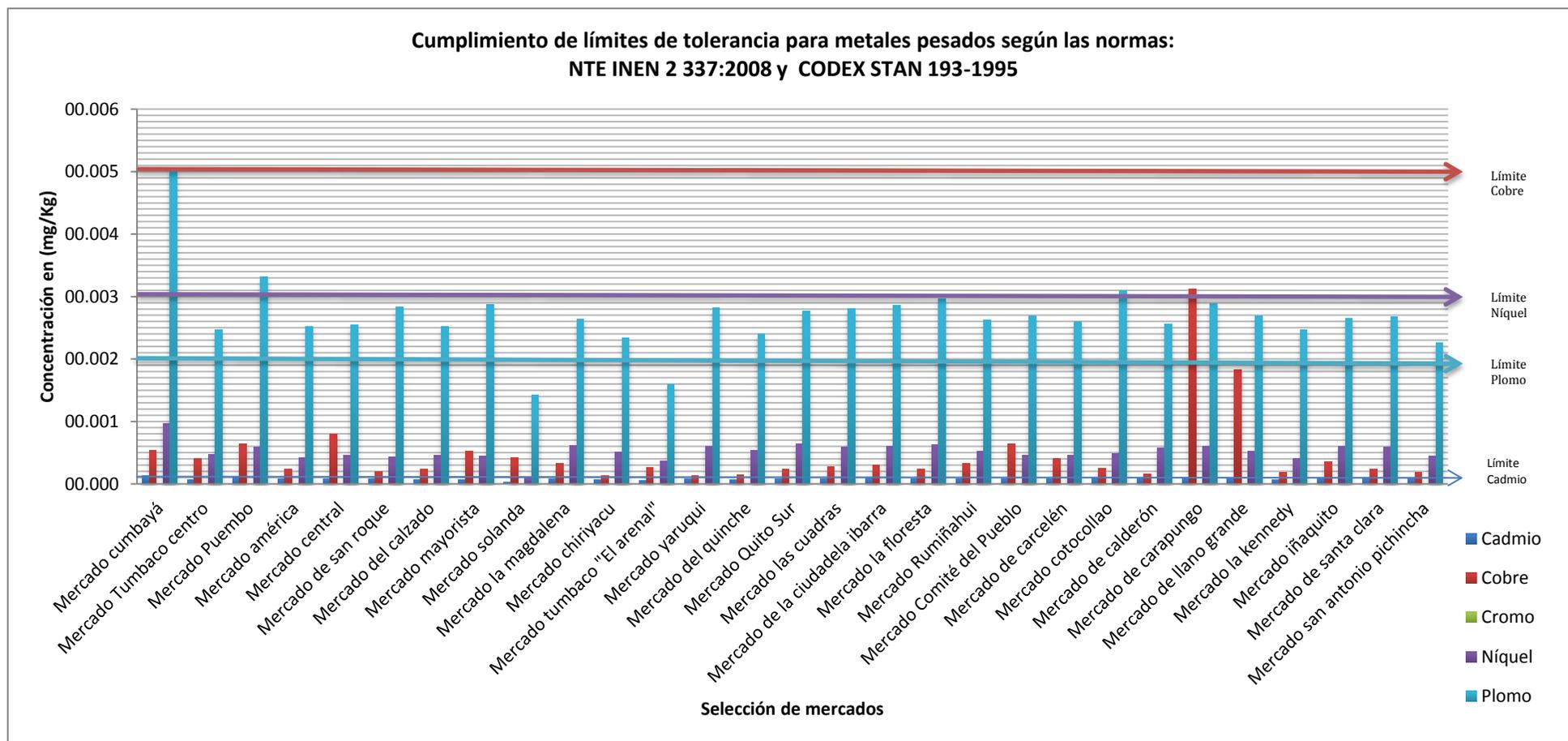


Figura 8. Comparativa de los resultados del cumplimiento de la reglamentación de metales pesados por cada mercado estudiado. No existen normas para jugos naturales sin envasado, por esto se emplearon las regulaciones INEN para jugos y demás concentrados envasados; y alimentos y piensos. Tampoco existen límites de tolerancia para níquel por lo que se compararon los resultados con normas internacionales. Realizado por: (K. Quishpe, 2016).

Se tiene evidencia de que algunos de los metales encontrados en el estudio de Peralta - Videa, y otros en (2002) son comunes a este estudio como el cadmio, cobre y níquel; y que ciertamente la planta no tolera concentraciones de cromo para su desarrollo (p. 76), coincidiendo de alguna manera con el resultado negativo obtenido en esta investigación para la lectura de cromo total y en otras realizadas en alimentos también reportadas negativas (Ibnu Hajar, Bin Sulaiman, & Mimi Sakinah, 2014).

En lo que respecta al grado de contaminación de cada mercado, no se puede hacer una afirmación categórica pues depende de muchos factores; además no existe una relación clara entre el contenido de material vegetal y la cantidad de metales pesados encontrados en cada mercado.

En todas las investigaciones citadas los metales sobrepasan los límites, en el caso de la presente investigación solamente el plomo total supera el límite marcado, y su presencia puede aducirse a la actividad de industrias de cemento, porcelana, plástico, madera, entre otras, cuyas emisiones contienen este elemento (Aldjain, Al-Whaibi, Al-Showiman, & Siddiqui, 2010) y pueden ser aledañas a las zonas de cultivo (Nasser & Almohisen, 2013) de este vegetal.

De esta manera se puede concluir que la alfalfa (*Medicago sativa*) es susceptible a la acumulación de metales pesados, siendo esta contaminación perniciosa para la salud especialmente en el caso del plomo. Otra preocupación que resalta ante este resultado es la introducción de los metales pesados acumulados en la planta a la cadena alimenticia, pues como es conocido, esta forrajera es ampliamente utilizada para la alimentación pecuaria (Dammer Bustamante & Izquierdo, 2004).

3.3.4 Análisis microbiológico

3.3.4.1 Determinación de microorganismos mesófilos

Tabla 20.

Presencia de microorganismos mesófilos por muestra de mercado

Informe de Ensayo	Determinación de microorganismos mesófilos
Método de muestreo	No aleatorio
Identificación muestra	Resultado N microorganismos/mL
m1	3,510E+03
m2	3,511E+03
m3	3,508E+03
m4	3,508E+03
m5	3,508E+03
m6	3,511E+03
m7	3,499E+03
m8	3,505E+03
m9	3,513E+03
m10	3,510E+03
m11	3,513E+03
m13	3,505E+03
m14	3,505E+03
m15	3,507E+03
m16	3,508E+03
m17	3,504E+03
m18	3,503E+03
m19	3,506E+03
m21	3,506E+03
m22	3,503E+03
m23	3,513E+03
m24	3,507E+03
m25	3,507E+03
m26	3,511E+03
m27	3,505E+03
m29	3,508E+03
m30	3,515E+03
m33	3,509E+03
m34	3,506E+03

Nota: los microorganismos mesófilos son microorganismos que se desarrollan a temperatura ambiente cuya presencia está regulada por la norma para jugos y concentrados NTE INEN 2 337:2008. Realizado por: (K. Quishpe, 2016).

La colonización de los alimentos por microorganismos es muy frecuente y puede suceder de forma natural, en el origen del alimento o durante su procesamiento (Gamazo, López, & Díaz, 2005). Por ello la concentración de aerobios mesófilos está normada, de acuerdo al INEN la concentración de microorganismos en el recuento estándar en placa debe estar entre $1,0E+2$ y $1,0E+3$ microorganismos por mililitro (INEN, 2008), a pesar de ello ninguno de los jugos de alfalfa cumple con esta especificación.

El recuento de mesófilos es conocido como un indicador de la calidad de la materia prima y del proceso de elaboración (Ávila & Fonseca, 2008), siendo las cifras altas indicadores de alteraciones en el alimento (Gamazo, López, & Díaz, 2005, pág. 151), como en el caso de los jugos de alfalfa.

Otros jugos procesados reportan en este parámetro: caña de azúcar <1,0 UFC/ml (Aguirre & Poveda, 2010), y coco enriquecido <10 UFC/mL (Gálvez, 2015), y a pesar de que son preparaciones bebibles obtenidas a partir de materias primas vegetales naturales al igual que los jugos de alfalfa; los jugos citados al ser envasados cuentan con procesos aseptia en toda su elaboración, que disminuyen los riesgos de contaminación microbiológica. Por el contrario, las muestras estudiadas se preparan al momento de ser expandidas y por lo general no están refrigeradas (Ríos, Koziol, Pedersen, & Granda, 2007) aumentando su riesgo de contaminación.

En el análisis de calidad microbiológica de jugos naturales de consumo popular de Ávila & Fonseca en (2008), se obtienen valores de microorganismos mesófilos similares a los de esta caracterización, esto debido a que los jugos tienen similitudes en su preparación poco tecnificada, además los autores resaltan la falta de higiene en su preparación (pág. 24).

Entre los factores que pueden influir en la contaminación del producto por microorganismos están: las superficies corporales de los manipuladores, descargas de cavidades aéreas, materia fecal animal y/o humana, agua, superficies, entre otros (Borchers & Teuber, 2010); condicionando la evolución de la población de microorganismos (Gamazo, López, & Díaz, 2005, pág. 149).

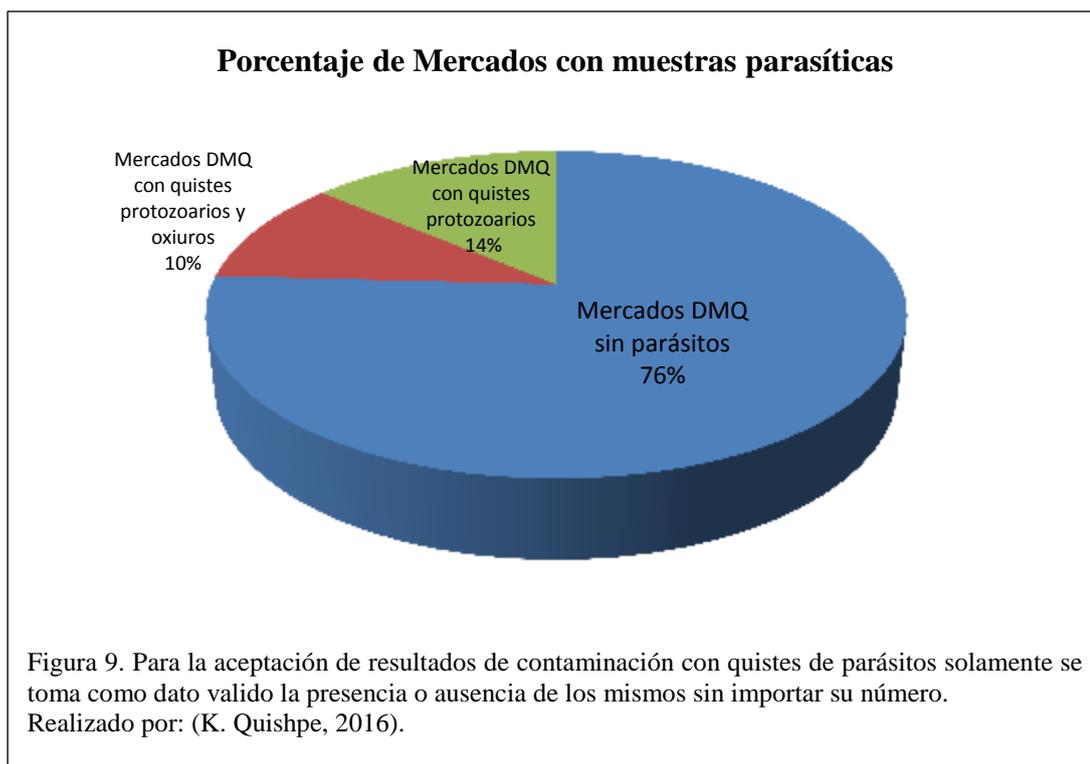
3.3.4.2 Determinación de parásitos

Tabla 21.
Presencia de quistes por muestra de mercado

Informe de Ensayo		Determinación de quistes protozoarios
Método de muestreo		No aleatorio
Identificación muestra		Resultado (N quistes total)
m1	Mercado cumbayá	0
m2	Mercado Tumbaco centro	4
m3	Mercado Puembo	5
m4	Mercado américa	0
m5	Mercado central	0
m6	Mercado de san roque	0
m7	Mercado del calzado	0
m8	Mercado mayorista	1
m9	Mercado solanda	0
m10	Mercado la magdalena	2
m11	Mercado chiriyacu	0
m13	Mercado tumbaco "El arenal"	0
m14	Mercado yaruqui	2
m15	Mercado del quinche	0
m16	Mercado Quito Sur	0
m17	Mercado las cuadras	0
m18	Mercado de la ciudadela ibarra	0
m19	Mercado la floresta	0
m21	Mercado Rumiñahui	0
m22	Mercado Comité del Pueblo	1
m23	Mercado de carcelén	0
m24	Mercado cotocollao	2
m25	Mercado de calderón	0
m26	Mercado de carapungo	0
m27	Mercado de llano grande	0
m29	Mercado la kennedy	0
m30	Mercado ñaquito	0
m33	Mercado de santa clara	0
m34	Mercado san antonio pichincha	0

Nota: las normas nacionales no contemplan regulaciones para quistes de parásitos pero son indicadores de sanidad alimenticia. Realizado por: (K. Quishpe, 2016).

De acuerdo con el ciclo de vida de los parásitos recopilado por Zhou, Ohtsuka, Qiaolan, Zhou, & Dickson en (2012), estos se transmiten a través de las heces fecales infestadas de huevos, que luego eclosionan por la acción de los fluidos calientes y ácidos del estómago ingresando al organismo huésped. Es este mecanismo el que determina que su presencia en los alimentos sea perjudicial para la salud, y no existan límites de tolerancia. En las muestras observadas se encontraron quistes de protozoarios y en algunas de ellas helmintos (gusanos intestinales), estas son las muestras: “Mercado central”, “Mercado yaruqui” y “Mercado cotocollao”; la figura 8 muestra una apreciación global de este resultado.



La presencia de parásitos es relativamente baja considerando que son 7 mercados del número total de muestras analizadas, a pesar de eso no puede dejar de considerarse que la presencia de estos organismos es un indicador indiscutible de falta de higiene (Singh & Sharma, 2014). Por ello, otros estudios de calidad microbiológica de jugos preparados artesanalmente como el de Ávila & Fonseca en (2008) no toman en cuenta su presencia, pues inadmisibles.

3.3.4.3 Generalidades de la contaminación microbiológica de los jugos

Para determinar si existe alguna relación entre un parámetro crítico del análisis bromatológico de los jugos de alfalfa, como el pH y el contenido de microorganismos y parásitos, se realizó el análisis de correlación de Pearson. Los valores del coeficiente R para las 2 comparaciones, fueron menores a uno; R^2 para la relación pH – contenido de microorganismos igual a 0,105 y R^2 para la relación pH – contenido de parásitos igual a 0,008 Generado por el Software XLSTAT Versión

2015.6.01.25539; por lo que se aceptó la hipótesis nula (Yanez, 2007), es decir que no existe relación entre ninguna de ellas.

A pesar de ello, el pH continúa siendo un factor decisivo para la conservación del producto, ya que valores más cercanos a 7 como los reportados por las muestras de jugo de alfalfa, según lo planteado por Barreiro & Sandoval en (2006), favorecen la proliferación microbiana. Otro parámetro relacionado con la estabilidad es la actividad acuosa, productos con un contenido de agua mayor al 50% en base húmeda propician el crecimiento de hongos, levaduras y bacterias (Badui, 1999). Los jugos de alfalfa tienen una humedad media mayor al 90% que junto con el pH antes descrito, influyen en la estabilidad de los mismos dando lugar a un ambiente favorable para el desarrollo de microorganismos (pág. 34).

Los jugos de caña de azúcar y coco enriquecido, referidos anteriormente cuentan con los siguientes valores para los parámetros en discusión; el primero tiene un pH de 3,76 y menos de 1 UFC por mililitro (Aguirre & Poveda, 2010) mientras que el segundo reporta un pH de 6,57 y menos de 10 UFC por mililitro (Gálvez, 2015). Estos reportes muestran una ligera relación entre el contenido de microorganismos y el pH de estos jugos, reforzando la importancia de un pH ácido en preparaciones bebibles (INEN, 2008).

De la misma manera, a pesar de que no existe una relación específica entre el número de bacterias por centímetro cúbico y la presencia/ausencia de quistes de parásitos, las muestras que tienen quistes revelan mayores deficiencias en el procesamiento del producto, pues como refiere la investigación de Singh & Sharma en (2014), la falta de higiene personal de los operarios que elaboran alimentos tienden a su contaminación con parásitos.

Otras investigaciones en jugos como la de Ávila & Fonseca en (2008), tienen un perfil microbiológico bastante parecido al encontrado en los jugos estudiados y atribuyen esta contaminación a su preparación poco tecnificada. Esto coincide con lo planteado por Cameán & Repetto (2006) y Borchers & Teuber en (2010) que resaltan a la falta de higiene del personal y en la elaboración del alimento, como vectores de contaminación microbiológica. Así, se puede deducir que los jugos naturales de alfalfa contaron con las mismas falencias que los jugos citados en su preparación, que influyeron en la proliferación microbiana informada.

Conclusiones

- En el 50% del territorio del Distrito Metropolitano de Quito entre las parroquias urbanas y rurales, se identificaron 29 mercados municipales que expenden jugo de alfalfa; esta preparación es parte de la gastronomía local y se considera como parte del patrimonio contemporáneo de la ciudad.
- El jugo natural de alfalfa presenta las características sensoriales de la planta de alfalfa *Medicago sativa L.*. Al igual que sus características fisicoquímicas están de acuerdo al tipo de preparación; sin embargo su pH está entre 5 y 6, muy cercano al neutro por tanto hace a esta preparación susceptible a la contaminación microbiana.
- Los jugos de alfalfa estudiados tienen contaminantes de origen antropogénico en su constitución. Se encontraron trazas de cobre, níquel y cadmio en cantidades dentro de la normativa vigente, no contienen cromo; y la presencia de plomo anormalmente alta.
- Todos los jugos naturales de alfalfa tienen una alta concentración microorganismos por centímetro cúbico, algunas muestras poseen además parásitos; denotando falencias en la higiene y manejo del producto en su elaboración.

Recomendaciones

- Se recomienda realizar una investigación que determine la procedencia de las plantas de alfalfa empleadas en los jugos, de manera que se encuentren las posibles fuentes de contaminación de metales pesados.
- Ante la notable acumulación de metales pesados de la *Medicago sativa L.* podrían realizarse investigaciones que tomen a esta planta como biosensor de contaminación ambiental.
- Para determinar el grado de contaminación microbiana exacto, se recomienda una caracterización que identifique coliformes y demás microorganismos, de manera que se conozcan las insolvencias en la preparación que conducen a la proliferación de patógenos.

Anexos

Caracterización bromatológica



Anexo 1. Caracterización bromatológica de izquierda a derecha: a. identificación de muestras, b. determinación de densidad relativa, c. determinación de materia seca, d. determinación de cenizas, e. medición de pH, f. titulación ácido – base para determinación de ácido tartárico, g. obtención de precipitados y h. digestados según tratamientos 1 y 2.

Realizado por: K. Quishpe, (2016).

Determinación de metales pesados



Anexo 2. Determinación de metales pesados de izquierda a derecha: a. reactivos utilizados para determinación de contenido de metales, b. curva de calibración de cadmio, c. curva de calibración de cromo, d. curva de calibración de cobre y e. curva de calibración de níquel.

Realizado por: K. Quishpe (2016).

Caracterización microbiológica



Anexo 3. Determinación de microorganismos de izquierda a derecha: a. generalidades del proceso de cultivo, b. conteo de colonias en cuenta colonias y c. campos observados en microscopio óptico objetivo 100X de parásitos y helmintos. Realizado por: K. Quishpe (2016).

Referencias

- Adzitey, F., & Huda, N. (2013). Molecular techniques for detecting and typing of bacteria, advantages and applications to foodborne pathogens isolated from ducks. *Biotech*, 3,97-107.
- Agencia Española de consumo, seguridad alimentaria y nutrición. (03 de 04 de 2015). *Seguridad Alimentaria y Nutrición*. Obtenido de Normas generales de prevención: <http://www.aecosan.msssi.gob.es/>
- Aguirre, M., & Poveda, C. (2010). *Jugo de caña de azúcar envasado en vidrio*. Guayaquil: ESPOL.
- Akinyele, L., & Shokunbi, O. (2015). Comparative analysis of dry ashing and wet digestion methods for the determination of trace and heavy metals in food samples. *Food Chemistry No. 173*, 682-684.
- Al - Rashd, i. T., & Sulaiman, H. (2013). Bioconcentration of heavy metals in Alfalfa (*Medicago Sativa L.*) from farm soils around sohar industrial area in Oman. *SciVerse ScienceDirect*, 271-278.
- Aldjain, A., Al-Whaibi, M., Al-Showiman, S., & Siddiqui, M. (2010). Determination of heavy metals in the fruit of date palm growing at different locations of Riyadh. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 175-180.
- Ali, M., & Khairia., A.-Q. (2012). Assessment of some heavy metals in vegetables, cereals and fruits in Saudi Arabian markets. *Egyptian Journal of Aquatic Research*, 31-37.
- Anhwange, B., & Kagbu, J. (2009). Trace metal contents of some common vegetables grown on irrigated farms along the banks of river benue within Makurdi metropolis. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry*, 1150-1155.
- AOAC International. (2000). AOAC Official Methods of analysis of AOAC International. En *Official Method 999.10 (2000) Chapter 9* (pág. 19). Gaithersburg MD: AOAC INTERNATIONAL.
- AOAC International. (2000). Official Methods of Analysis of AOAC International. En R. Bernetti, *Official Method 932.14 (44.1.04)*. Gaithersburg MD: AOAC INTERNATIONAL.
- AOAC International. (2000). Official Methods of Analysis of AOAC International. En R. H. Lane, *Official Method 923.03(32.1.03)*. Gaithersburg MD: AOAC International.
- AOAC International. (2000). Official Methods of Analysis of AOAC International. En B. Carla, *Official Method 942.15(37.1.37)*. Gaithersburg MD: AOAC INTERNATIONAL.
- AOAC International. (2000). Official Methods of Analysis of AOAC International. En R. Bernetti, *Official Method 999.10(2000)* (págs. 16-22). Gaithersburg MD: AOAC INTERNATIONAL.
- APHA - AWWA - WPCF. (1992). *Métodos Normalizados para el análisis de Aguas Potables y Residuales*. Madrid: Díaz de Santos.

- APHA AWWA WPCF. (1989). Métodos Normalizados para el análisis de aguas potables y residuales. En *2320 Alcalinidad* (págs. 2-37-2-37). Madrid: Díaz de santos.
- Asamblea Constituyente. (2008). Constitución Política del Ecuador. En *Capítulo tercero Soberanía Alimentaria* (págs. 134-135). Montecristi: Publicación Oficial de la Asamblea Constituyente.
- Aslam, S., Sharif, F., & Khan, A. U. (2015). Effect of lead and cadmium on growth of *Medicago sativa* and their transfer to food chain. *The Journal Of Animal & Plant Sciences*, 472-477.
- Ávila, T., & Fonseca, M. (2008). *Calidad Microbiológica de jugos preparados en hogares de bienestar familiar en la zona norte de cundinamarca*. Bogotá: Universidad Javeriana.
- Azcon - Aguilar, C., & Barea, J. M. (1981). Field inoculation of *Medicago* with V-A mycorrhiza and *Rhizobium* in phosphate-fixing agricultural soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 19-22.
- Badui, S. (1999). *Química de los alimentos*. Ciudad de México: Pearson Educación.
- Barreiro M, J., & Sandoval B, A. J. (2006). Operaciones de conservación de alimentos a bajas temperaturas. En *Capítulo III Aspectos Microbiológicos* (págs. 47-50). Caracas: Editorial Equinoccio.
- Barreiro, J., & Sandoval, A. (2006). *Operaciones de conservación de alimentos por bajas temperaturas*. Caracas: Editorial Equinoccio.
- Berghof. (2006). Manual de Usuario Berghof Speedwave Two. En *Microwave digestion of dried plants* (págs. MWS - 2). Eningen: Berghof Products and Instruments.
- Berghof. (2006). Manual de Usuario Berghof Speedwave Two. En *Microwave digestion of dried plants* (págs. MWS - 2).
- Borchers, A., & Teuber, S. (2010). Food Safety. *Clinical Reviews in Allergy & Immunology*, 95-141.
- Buitrón, F. (2010). *Elaboración de una base deshidratada a partir de pulpa de tomate de árbol amarillo (Solanum betaeae) para la preparación de una bebida hidratante para deportistas*. Quito: EPN.
- Cámara, C. (2004). *Toma y tratamiento de muestras*. Madrid: Síntesis.
- Cameán, A. M., & Repetto, M. (2006). *Toxicología Alimentaria*. Madrid: Díaz de Santos.
- Carqueija Amorim, F., & Almeida Bezerra, M. (2007). Online preconcentration system for determining ultratrace amounts of Cd in vegetal samples using thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry. *Microchim*, 183-189.
- Carroll, L., & Au, A. (2014). Visualization and analytics tools for infectious disease epidemiology: a systematic review. *Journal of Biomedical Informatics*, 287-298.
- Cazamajor D'Artois, P. (1992). La red de mercados y ferias de Quito. En P. Cazamajor D'Artois, *Atlas Infográfico de Quito* (págs. 1025-1035). Quito: Instituto Panamericano de Geografía e Historia Sección Nacional del Ecuador.
- Consejo Metropolitano del DMQ. (2011). *Ordenanza Metropolitana 0082*. Quito: Publicación oficial del Consejo Metropolitano DMQ.

- Constitución Política del Ecuador Art. 281. (2008). Capítulo tercero. En *Soberanía Alimentaria* (págs. 134-135). Montecristi: Publicación Oficial de la Asamblea Nacional.
- Cordero, A., Soberón, M., Oriondo, R., & Ramos, R. (2009). Impacto de una intervención alimentaria con un concentrado proteico de Medicago sativa L (alfalfa), en niños pre escolares con desnutrición crónica. *Anales de la Facultad de Medicina*, 168-174.
- Corredor, Y. R., M., M. M., Pérez, G. A., & Campos, C. (1994). Incidencia de microorganismos mesófilos en la producción de agua envasada. *Biomédica Revista del Instituto Nacional de Salud*, 140-145.
- Dammer Bustamante, M. d., & Izquierdo, F. (2004). Adaptación de cuatro variedades de alfalfa Medicago sativa en la zona de Cananvalle - Tabacundo. *La granja*, 11-19.
- Del Pozo, M. (1983). *La Alfalfa, su cultivo y aprovechamiento*. Madrid: Mundi - Prensa. Distrito Metropolitano de Quito. (04 de 06 de 2015). *Parroquias del Distrito Metropolitano de Quito*. Obtenido de Parroquias: <http://www.quito.com.ec/parroquias/>
- Domínguez, J., Román, A., Prieto, F., & Acevedo, O. (2012). Sistema de Notación Munsell y CIELab como herramienta para la evaluación de color de suelos. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 141-155.
- Dpto. de Salud Pública. (21 de Febrero de 2016). *Gobierno de la Provincia de Santa Fe*. Obtenido de Código alimentario argentino: <https://www.santafe.gov.ar/index.php/web/content/download/35331/180907/>
- Economou - Eliopoulos, M., & Antivachi. (2012). Evaluation of the Cr(VI) and other toxic element contamination and their potential sources: The case of the Thiva basin (Greece). *GEOSCIENCE FRONTIERS*, 523-539.
- El-Kherbawy, M., Angle, J., Heggio, A., & Chaney, R. L. (1989). Soil pH, rhizobia, and vesicular-arbuscular mycorrhizae inoculation effects on growth and heavy metal uptake of alfalfa (Medicago sativa L.). *Biology and Fertility of Soils*, 61-65.
- Galván Bautista, A., Rosales Garnica, A., & Díaz Vela, J. (2011). Estudio comparativo sobre los microorganismos presentes en la carne molida proveniente de una cadena de supermercados y mercados en el Municipio de Ecatepec. *Nacameh*, 1-9.
- Gálvez, D. (2015). *Desarrollo de una bebida elaborada a base de jugo de coco enriquecida con aislado de soya*. Guayaquil: ESPOL.
- Gamazo, C., López, I., & Díaz, R. (2005). *Manual Práctico de Microbiología*. Madrid: Masson.
- Gardea - Torresdey, J., Dokken, K., Tiemann, K. J., Parsons, J., Ramos, J., Pingitore, N., & Gamez, C. (2002). Infrared and X ray absorption spectroscopic studies on the mechanism of chromium (III) binding to alfalfa biomass. *Microchemical Journal*, 157-166.
- Ghaedi, M., Shokrollahi, A., Niknam, K., Niknam, E., & Soyylak, M. (2009). Development of efficient method for preconcentration and determination of copper nickel, zinc and iron ions in environmental samples by combination of

- cloud point extraction and flame atomic absorption spectrometry. *Central European Journal of Chemistry*, 148-154.
- González, C. d. (2006). *Rastreabilidad de hortalizas para determinar su inocuidad biológica*. San Salvador: Tesis Maestría, Universidad de El Salvador.
- Gonzales, T., & Rojas, R. A. (2005). Enfermedades transmitidas por alimentos y PCR: prevención y diagnóstico. *Salud pública Méx vol.47 n.5*, 388-390.
- Gu, Z., & Wu, M. (2013). Variation of heavy metal speciation during the pyrolysis of sediment collected from the Dianchi Lake, China. *Arabian Journal of Chemistry*, 1-9.
- Hajslova, J., & Krska, R. (2012). Editorial: Recent advances in food analysis. *Recent Advances in Food Analysis*, 2795-2796.
- Hanson, L., & Zahn, E. (2012). Estimating global mortality from potentially foodborne diseases: an analysis using vital registration data. *Population Health Metrics*, 2-7.
- Ibnu Hajar, E., Bin Sulaiman, A., & Mimi Sakinah, A. (2014). Assessment of heavy metals tolerance leaves, stems and flowers of Stevia rebaudiana plant. *Procedia Environmental Sciences*, 386-393.
- INEC. (2010). *Resultados del Censo 2010 de población y vivienda en el Ecuador*. Quito: Publicación oficial INEC.
- INEN. (2008). *Jugos, pulpas, concentrados, néctares, bebidas de frutas y vegetales. REQUISITOS NTE INEN 2 337:2008*. Quito: Publicación oficial INEN.
- INEN. (2012). *Conservas vegetales, jugos de frutas. Determinación de densidad relativa NTE INEN 391:2012*. Quito: Publicación oficial INEN.
- INEN. (2012). *Control Microbiológico de Alimentos: Determinación de la cantidad de microorganismos aerobios mesófilos REP. NTE INEN 1529-5:2006*. Quito: Publicación Oficial INEN.
- INEN. (2013). *Norma general para los contaminantes y toxinas presentes en alimentos y piensos (CODEX STAN 193-1995)*. Quito: Publicación oficial INEN.
- INEN. (2013). *Productos vegetales y frutas - Determinación de acidez titulable (IDT) NTE INEN - ISO 750:2013*. Quito: Publicación oficial INEN.
- INEN. (21 de 06 de 2015). *Descarga Online de Normas*. Obtenido de Catálogo de Normas INEN: <http://apps.normalizacion.gob.ec/descarga/>
- INEN. (13 de 06 de 2015). *Servicio Ecuatoriano de Normalización*. Obtenido de Institución: <http://www.normalizacion.gob.ec/la-institucion/>
- Instituto Geográfico Militar. (01 de 03 de 2016). *Mapa del Ecuador Uso Escolar - ESCALA 1:4'000.000*. Obtenido de Mapa político del Ecuador: http://www.igm.gob.ec/work/index.php?option=com_content&view=article&id=84:mapa-del-ecuador-uso-escolar-escala-14000000&catid=41
- Instituto Metropolitano de Patrimonio. (02 de 15 de 2013). *Patrimonio contemporáneo*. Obtenido de Quito Patrimonio Digital: <http://patrimonio.elcomercio.com/patrimonio-contemporaneo/mercados-de-inaquito-y-santa-clara/historia#.VvhOpOLhDIU>
- Jawetz, Melnick, & Adelberg. (2014). *Microbiología Médica*. México: McGrawHill.

- Landeta, D. (26 de 06 de 2014). *Recorriendo a los Mercados de Quito*. Obtenido de Diario El Comercio: <http://www.elcomercio.com/tendencias/recorriendo-mercados-quito.html>
- Laverde, J. (2010). *Estudio de las condiciones óptimas para la obtención de jugo clarificado de arazá (Eugenia Stipitata), mediante procesos enzimático y membranario*. Quito: EPN.
- Lion, G., & Olowoyo, J. (2013). Population health risk due to dietary intake of toxic heavy metals from Spinacia oleracea harvested from soils collected in and around Tshwane, South Africa. *South African Journal of Botany*, 178–182.
- Malik, A., & Erginkaya, Z. (2014). *Food Processing: Strategies for Quality Assessment*. New York: Springer Science Business Media.
- Manfrino, R., & all, & e. (2014). Natural occurrence of entomophthoroid fungi of aphid pests on Mendicago sativa L. in Argentina. *Revista Argentina de Microbiología*, 49-52.
- Ministerio de agricultura y Abastecimiento del Brasil. (1999). *INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 42, DE 20 DE DEZEMBRO DE 1999*. Río de Janeiro: Publicación oficial.
- Ministerio de Salud Pública de Ecuador. (2013). *Gaceta Epidemiológica Semanal*. Quito: Publicación oficial del MSP.
- Ministerio de Salud Pública del Ecuador. (2013). *Sistema Integrado de Vigilancia Epidemiológica, Manual de procedimientos del subsistema alerta acción SIVE - ALERTA*. Quito: Publicación oficial MSP.
- Ministerio de Turismo Noticias. (14 de 11 de 2014). *La gran cocina de Quito está en los mercados, según diario El País*. Obtenido de Ministerio de Turismo: <http://www.turismo.gob.ec/la-gran-cocina-de-quito-esta-en-los-mercados-segun-diario-el-pais/>
- Missouri Botanical Garden. (01 de 07 de 2015). *Tropicos*. Obtenido de Plant research: <http://www.tropicos.org/Name/13035689>
- Momen, A., Zachariadis, G., Anthemidis, A., & Stradis, J. (2008). Optimization and comparison of two digestion methods for multi-element analysis of certifies reference plant materials by ICP-AES. Application of plackett burman and central composite desings. *Microchim Acta*, 397-403.
- Moreno, M., & Alarcón, A. (2010). Higiene alimentaria para la prevención de trastornos digestivos infecciosos y por toxinas. *Revista Médica Clínica Las Condes*, 749–755.
- Municipio del Distrito Metropolitano de Quito. (2011). *Plan de Desarrollo 2012 - 2022*. Quito: Publicación oficial del DMQ.
- Municipio del Distrito Metropolitano de Quito. (16 de 07 de 2015). *Alcaldía Metropolitana de Quito*. Obtenido de Mapas generados en la Secretaría de Territorio, Hábitat y Vivienda: http://sthv.quito.gob.ec/index.php?option=com_content&view=article&id=29:mapas-dmq&catid=15:mapas&Itemid=66

- Nabulo, G., & Black, C. (2012). Does consumption of leafy vegetables grown in peri-urban agriculture pose a risk to human health? *Environmental Pollution*, 389-398.
- Nasser, M., & Almohisen, I. (2013). Traffic and industrial activities around Riyadh cause accumulation of heavy metals in legumes: a case of study. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 167-172.
- Nielen, M., & Hajslová, J. (2014). Editorial: Advanced food analysis. *Anal Bioanal Chem*, 6765-6766.
- Nielsen, S. (1998). Food analysis. En L. Harbers, *Ash analysis*. Indiana: Aspen Publishers.
- Nielsen, S. (1998). Food Analysis. En G. Sadler, *pH and Titrable acidity* (págs. 110-112). Maryland: Aspen Publishers.
- Noticias de Quito. (24 de 01 de 2009). Santo Remedio. *La Hora*, pág. 1.
- Ocampo, R., García, L., Franco, J., & Vallejo, C. (2012). Caracterización bromatológica, fisicoquímica, microbiológica y reológica de la pulpa de borjój (Borojoa patinoi Cuartrec). *Ciencia y Tecnología*, 17-24.
- Olowoyo, J., & Van Heerden, E. (2013). Trace metals concentrations in soil from different sites in Pretoria, South Africa. *Sustainable Environment Research*, 93-99.
- Ordenanza Metropolitana No. 0253. (2008). *Ordenanza Metropolitana*. Quito: Publicación Oficial Consejo Metropolitano de Quito.
- Ordenanza Municipal No. 0059. (2001). *Ordenanza Municipal*. Quito: Publicación oficial del Consejo Metropolitano del DMQ.
- Organización Internacional del Trabajo. (2001). ENCICLOPEDIA DE SALUD Y SEGURIDAD EN EL TRABAJO. En G. Nordberg, *Metales: Propiedades Químicas y Toxicidad* (págs. 63.1-63.75). Madrid: Ministerio de Trabajo y Asuntos Sociales Subdirección General de Publicaciones.
- Organización Mundial de la Salud. (2006). Quinta Reunión del Foro Intergubernamental de Seguridad Química. *Metales pesados ¿necesidad de mas acciones globales?*, (págs. 2-16). Budapest.
- Organización Mundial de la Salud. (10 de 12 de 2015). *Inocuidad de los Alimentos*. Obtenido de Organización Mundial de la Salud: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs399/es/>
- Organización Panamericana de Salud. (23 de 12 de 2015). *Sobre OPS*. Obtenido de Organización Panamericana de Salud: http://www.paho.org/ecu/index2.php?option=com_wrapper&view=wrapper&Itemid=401
- Orquera, A., & Sánchez, R. (2012). *Prevalencia de las enfermedades transmitidas por alimentos en la ciudad de Cuenca en los años 2009 al 2011*. Cuenca.
- Oyarzabal, O., & Backert, S. (2012). Microbial Food Safety. *Food Science Text Series*, 3-10.
- Pascual Anderson, M. d., & Calderón y Pascual, V. (2000). Microbiología alimentaria. En *Capítulo 3 Recuento de microorganismos aerobios mesófilos mediante (31° +/- 1) revivificable* (págs. 13 - 15). Madrid: Diaz de Santos.

- Peña, L. M., & Arroyave, C. L. (2010). *Toxicología Clínica*. Colombia: Corporación para Investigaciones Biológicas.
- Peralta - Videar, J. R., Gardea - Torresdey, J. L., Gomez, E., Tiemann, K. L., Parsons, J. G., De la Rosa, G., & Carrillo, G. (2002). Potential of alfalfa plant to phytoremediate individually contaminated montmorillonite soils with cadmium (II), chromium (IV), copper (II), nickel (II) and zinc (II). *Environmental contamination and toxicology*, 74-81.
- Perez Silva, M. d., Belmonte Cortés, S., & Martínez Corral, J. (1998). Estudio microbiológico de alimentos elaborados en comedores colectivos de alto riesgo. *España Salud Pública*, 67-75.
- Piccini, D., & Ocampo, E. J. (1988). Possible influence of Rhizobium on VA mycorrhiza metabolic activity in double symbiosis of alfalfa plants (*Medicago sativa* L.) grown in a pot experiment. *Biology and fertility of soils*, 65-67.
- Pico, S., Gutiérrez, D., Aragón, I., Escobar, A., Ortiz, D., & Sánchez, T. (2011). Evaluación de la composición nutricional, antinutricional y biodisponibilidad in vitro de diferentes extractos foliares. *Revista Chilena de Nutrición*, 168-176.
- Régimen de la Soberanía Alimentaria. (2010). *Ley Orgánica*. Quito: Registro Oficial.
- Repetto Jiménez, M., & Repetto Kuhn, G. (2009). *Toxicología Fundamental*. Sevilla: Díaz de Santos.
- Ríos, M., & all, & e. (2007). *Plantas Útiles del Ecuador: Aplicaciones, Retos y Perspectivas*. Quito: Abya Yala.
- Ríos, M., Koziol, M., Pedersen, H., & Granda, G. (2007). *Plantas Útiles del Ecuador: Aplicaciones, Retos y Perspectivas*. Quito: Abya Yala.
- Secretaría de salud. (11 de 01 de 2016). *Municipio del DMQ*. Obtenido de Secretaría de salud: <http://www.quito.gob.ec/index.php/secretarias/secretaria-de-salud>
- Secretaría Nacional de Planificación y Desarrollo. (2009). *Plan Nacional del Buen Vivir 2009 - 2013*. Quito: Publicación Oficial SENPLADES.
- Sigh, A., & Fulekar, M. (2009). Potential of *Medicago sativa* for uptake of cadmium from contaminated environment. *Romanian Biotech Letters*, 4164-4169.
- Signorini, M., Sequeira, G., Bonazza, J., Dalla Santina, R., & Rosmini, M. (2003). Variación estacional en los principales indicadores de higiene en leche cruda de un tambo de la cuenca central. *FAVE - Ciencias Veterinarias*, 96-110.
- Singh, A., & Garber, E. A. (2014). Biotoxins and Food Safety. *Biological Toxins and Bioterrorism*, 185-209.
- Singh, P. P., & Sharma, V. (2014). Water and health. En D. K. Chhina, R. S. Chhina, & P. Suri, *Ascariasis and water: an overview* (págs. 257-273). Ludhiana: Springer India.
- Tam Y., N. F., & Yao Y., M. Y. (1999). Three digestion methods to determine concentrations of Cu, Zn, Cd, Ni, Pb, Cr, Mn and Fe in mangrove sediments from Sai Keng, Chek Keng and Sha Tau Kok, Hong Kong. *Environmental Contamination and Toxicology*, 708-716.
- Tupuna, S. (2012). *Obtención de jugo clarificado concentrado de mortiño (Vaccinium floribundum Kunth) mediante el uso de tecnología de membranas*. Quito: EPN.

- Unión Europea. (20 de Febrero de 2016). *D.G. de Comercio Internacional e Inversiones Unión Europea*. Obtenido de Legislación internacional de residuos de plaguicidas en productos vegetales: <http://plaguicidas.comercio.es/>
- Varian. (1989). *Flame Atomic Absorption Spectrometry Analytical Methods*. Australia: Varian Australia Pty Ltd.
- Yáñez, E., Mattar, S., & Durango, A. (2008). Determinación de Salmonella spp. por PCR en tiempo real y método convencional en canales de bovinos en alimentos de la vía pública de Montería, Córdoba. *Asociación colombiana de infectología*, 246-254.
- Yanez, P. (2007). *Biometría y bioestadística fundamentales*. Quito.
- Zhou, H., Ohtsuka, R., Qiaolan, L., Zhou, H., & Dickson, S. (2012). Handbook of growth and growth monitoring in health and disease. En V. R. Preedy, *Infectious diseases and growth: chinese perspectives* (págs. 1893-1909). Chengdu: Springer science and bussines media.
- Zribi, K., Djéballi, N., Mrabet, M., Khayat, N., Smaoui, A., & Mlayah, A. (2012). Physiological responses to cadmium, copper, lead, and zinc of Sinorhizobium sp. strains nodulating Medicago sativa grown in Tunisian mining soils. *Annals of Microbiology*, 1181-1188.
- Zumbado, H. (2002). *Análisis Químico de Alimentos, Métodos Clásicos*. Habana: Instituto de farmacia y alimentos.