

**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  
BERRO (*Nasturtium officinale* R. Br.) EXPENDIDO EN LOS DIFERENTES  
MERCADOS DEL DISTRITO METROPOLITANO DE QUITO**

**AUTORA:  
SANDY ANDREA CABASCANGO CABEZAS**

**TUTOR:  
LUIS ALBERTO VALDÉS SILVERIO**

**Quito, marzo de 2016**

### Cesión de derechos de autor

Yo, Sandy Andrea Cabascango Cabezas, con documento de identificación N° 1721889978, manifiesto mi voluntad y cedo a la Universidad Politécnica Salesiana la titularidad sobre los derechos patrimoniales en virtud de que soy autora del trabajo intitulado: “DETERMINACIÓN MICROBIOLÓGICA Y DE METALES PESADOS EN BERRO (*Nasturtium officinale* R. Br.) EXPENDIDO 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 que hago entrega del trabajo final en formato impreso y digital a la Biblioteca de la Universidad Politécnica Salesiana.

(f) 

Sandy Andrea Cabascango Cabezas

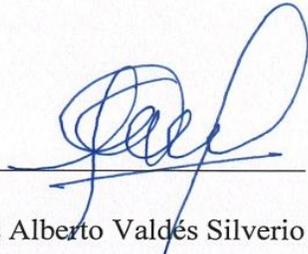
C.I: 1721889978

Quito, marzo de 2016

### **Declaratoria de coautoría del docente tutor**

Yo, declaro que bajo mi dirección y asesoría fue desarrollado el trabajo de titulación “DETERMINACIÓN MICROBIOLÓGICA Y DE METALES PESADOS EN BERRO (*Nasturtium officinale* R. Br.) EXPENDIDO EN LOS DIFERENTES MERCADOS DEL DISTRITO METROPOLITANO DE QUITO.” realizado por Sandy Andrea Cabascango Cabezas, obteniendo un producto que cumple con todos los requisitos estipulados por la Universidad Politécnica Salesiana para ser considerado como trabajo final de titulación.

Quito, marzo de 2016

(f) 

Luis Alberto Valdés Silverio  
CI: 1754572822

## **Dedicatoria**

Este trabajo lo dedico a Dios, porque gracias a él siempre me salieron bien las cosas, así sea a última hora. A mis papis Rosa y Segundo, por apoyarme hasta las últimas. A mis hermanos y a mi gordito Ness, por ser mi alegría y confiar en mí y a Alejito Núñez por haberme ayudado full todo este tiempo y sobre todo, por soportar mi hermoso carácter.

## **Agradecimiento**

Agradezco a todos quienes de alguna manera me ayudaron a culminar este trabajo. Un especial agradecimiento a la Ing. Elena Coyago, a la Ing. Diana Calero y a mi tutor Luis Valdés quienes me ayudaron de diferente manera durante el proceso de mi trabajo de titulación. A todos ustedes muchísimas gracias.

## Índice

Introducción .....	1
Capítulo 1 .....	3
Marco teórico .....	3
1.1 Generalidades del berro.....	3
1.2 Microorganismos en alimentos .....	4
1.2.1 Microbiota de hortalizas y verduras.....	5
1.2.1.1 Microorganismos patógenos en hortalizas frescas .....	5
1.2.2 Enfermedades transmitidas por alimentos y su situación en Ecuador .....	8
1.2.3 Criterios microbiológicos para verduras y hortalizas .....	9
1.3 Metales pesados en alimentos .....	10
1.3.1 Plomo (Pb) .....	11
1.3.2 Cadmio (Cd) .....	12
1.3.3 Enfermedades transmitidas por alimentos contaminados con metales pesados y su situación en Ecuador .....	12
1.3.4 Técnicas para detección de metales pesados en alimentos .....	13
1.3.5 Nivel máximo de concentración de metales pesados en hortalizas de hoja.....	14
1.4 Mercados del Distrito Metropolitano de Quito (DMQ) .....	15
Capítulo 2 .....	17
Metodología .....	17
2.1 Localización .....	17
2.2 Materiales y Métodos .....	20
2.2.1 Obtención y homogenización del material vegetal.....	20
2.2.2 Análisis físico y sensorial del material vegetal.....	20

2.2.2.1 Color y Olor .....	21
2.2.2.2 Tamaño y Peso .....	21
2.2.3 Caracterización fisicoquímica.....	21
2.2.3.1 Determinación de Humedad.....	21
2.2.3.2 Determinación de Cenizas .....	21
2.2.3.3 Determinación de Sólidos Solubles .....	22
2.2.3.4 Determinación de pH y Acidez Titulable.....	22
2.2.4 Análisis microbiológico.....	23
2.2.4.1 Bacteriología .....	23
2.2.4.1.1 Recuento de aerobios mesófilos .....	23
2.2.4.2 Parasitología.....	24
2.2.4.2.1 Detección de quistes de parásitos .....	24
2.2.5 Determinación de metales pesados .....	25
2.2.5.1 Pre-tratamiento de muestras .....	25
2.2.5.2 Digestión de muestras .....	25
2.2.5.3 Medición por espectrofotometría de absorción atómica de llama .....	26
2.3 Tratamientos .....	26
2.4 Diseño experimental.....	26
Capítulo 3 .....	28
Resultados y Discusión .....	28
3.1 Análisis físico y sensorial.....	28
3.2 Caracterización fisicoquímica .....	31
3.2.1 Humedad.....	32
3.2.2 Cenizas.....	32

3.2.3 Sólidos Solubles.....	33
3.2.4 pH y Acidez Titulable.....	34
3.3 Análisis microbiológico.....	35
3.3.1 Bacteriología.....	35
3.3.1.1 Aerobios mesófilos .....	35
3.3.2 Parasitología.....	39
3.4 Determinación de metales pesados Pb y Cd.....	41
Conclusiones .....	43
Recomendaciones.....	44
Referencias .....	45
Anexo .....	58

## Índice de tablas

Tabla 1. Clasificación taxonómica de <i>N. officinale</i> R. Br.....	3
Tabla 2. Patógenos aislados sobre hortalizas causantes de enfermedades alimentarias ....	7
Tabla 3. Criterios microbiológicos para verduras y hortalizas .....	10
Tabla 4. Límites máximos de metales pesados en hortalizas de hoja .....	14
Tabla 5. Ubicación y coordenadas de los mercados del DMQ .....	17
Tabla 6. Tamaño y Peso de hojas del berro de los diferentes mercados del DMQ.....	30
Tabla 7. Tamaño y peso de hojas pertenecientes a muestras de berro recolectadas en los diferentes mercados del DMQ .....	31
Tabla 8. Caracterización fisicoquímica de <i>N. officinale</i> R. Br. de los diferentes mercados del DMQ .....	32

## Índice de figuras

Figura 1. Puntos de localización de las administraciones zonales del Distrito Metropolitano de Quito.....	15
Figura 2. Coloración de hojas de berro <i>N. officinale</i> R. Br.....	28
Figura 3. UFC/g de aerobios mesófilos en muestras de berro de diferentes mercados del DMQ.....	36
Figura 4. Diagrama de dispersión de datos de UFC/g, pH, Humedad y °Brix en muestras de berro de los diferentes mercados del DMQ.....	38
Figura 5. Quistes de parásitos encontrados en berro <i>Nasturtium officinale</i> R. Br observados a 100X.....	40
Figura 6. Concentración de metales pesados Pb y Cd en muestras de berro de los mercados del DMQ.....	41

## Resumen

El berro es una hortaliza cuyo consumo se ha ido incrementando con el pasar del tiempo en la Sierra ecuatoriana, debido a su gran aporte nutricional. Según estudios realizados en otros países el berro es muy propenso a ser afectado por bacterias, parásitos y acumular metales pesados. En esta investigación se llevó a cabo la determinación microbiológica y de metales pesados en berro *Nasturtium officinale* R. Br. expendido en 30 mercados del Distrito Metropolitano de Quito. Las muestras frescas fueron analizadas en función de su color, olor, tamaño y peso de hojas (largo: 9.51-18.62 cm, ancho: 3.02-7.61 cm y peso: 0.33-1.90 g). Luego se realizó la caracterización fisicoquímica, donde el valor promedio de todas las muestras fue: 92.78% de humedad, 1.28% de cenizas, 3.78 °Brix (sólidos solubles), pH de 6.78 y 0.07% de acidez titulable (ácido oxálico). Los metales pesados analizados fueron plomo y cadmio; estos estaban dentro del nivel máximo de concentración en hortalizas de hoja establecido por el CODEX, mientras que las UFC/g (Unidades Formadoras de Colonias por gramo) de aerobios mesófilos de todas las muestras sobrepasaron los límites microbiológicos establecidos en la normativa propuesta por Moragas y De Pablo, a excepción de un mercado. Los aerobios mesófilos no estaban correlacionados directamente con los parámetros pH, humedad y °Brix.

En parasitología, todas las muestras presentaron al menos un quiste, concluyéndose así que el berro expendido en los mercados de Quito carece de salubridad pudiendo ser peligroso para la salud humana.

Palabras clave: Berro, caracterización fisicoquímica, metales pesados, aerobios mesófilos, parasitología.

## Abstract

Watercress is a vegetable whose consumption has been increasing over time in the Ecuadorian highlands, because of its high nutritional value. According to studies from other countries, watercress is highly susceptible to bacteria, parasites and heavy metals accumulate. In this investigation it carried out microbiological and heavy metal determination in watercress *Nasturtium officinale* R. Br. sold in 30 markets of the Metropolitan District of Quito. Fresh samples were analyzed according to the color, odor, size and weight of leaves (length: 9.51-18.62 cm, width: 3.02-7.61 cm and weight: 0.33-1.90 g). Then, it was performed the physicochemical characterization, where the average value of all samples was: 92.78% moisture, 1.28% ash, 3.78 °Brix (soluble solids), pH 6.78 and 0.07% titratable acidity (oxalic acid). Heavy metals analyzed were lead and cadmium; these were within the maximum level of concentration in leafy vegetables established by CODEX, while CFU/g (Colony-Forming Units per gram) of aerobic mesophilic bacteria in all samples exceeded the microbiological limits established in the regulations proposed by Moragas and De Pablo, except for one market. Aerobic mesophilic bacteria were not correlated directly with the parameters pH, moisture and °Brix. In parasitology, all samples had at least a cyst and concluded that watercress sold in Quito markets lacks health and it may be dangerous to human health.

Keywords: Watercress, physicochemical characterization, heavy metals, aerobic mesophilic bacteria, parasitology.

## **Introducción**

Los vegetales son una parte fundamental de nuestra alimentación diaria, ya sean por las vitaminas, minerales o fibras que ellos proporcionan y al ser comprados generalmente en los mercados, el consumidor está propenso a contraer enfermedades debido a una posible contaminación microbiana del producto, siendo uno de los principales problemas de salud pública, de igual manera es posible que los vegetales acumulen metales pesados en su estructura, debido a la contaminación ambiental, por lo que puede resultar tóxico a largo plazo para el consumidor, dependiendo de la concentración de estos metales en el vegetal con la frecuencia y cantidad con que se los ingiera.

Uno de los vegetales ancestrales que con el tiempo ha resurgido en la gastronomía moderna es el berro. “Su consumo y cultivo en Ecuador es muy antiguo, especialmente en localidades como Cotacachi” (Villacís, 2014). A partir de este vegetal es posible realizar innovadores platillos como ensaladas, sopas, etc. y debido a que crece sin problema cerca de ríos se lo puede encontrar fácilmente “a la venta en los mercados de las ciudades y pueblos serranos” (Ramírez & Williams, 2003, pág. 37).

Por la importancia que tiene el berro en la comida ecuatoriana y debido a que no existe un estudio de la inocuidad del berro en la ciudad de Quito, se ha visto la necesidad de determinar la presencia de microorganismos y de metales pesados en éste alimento expendidos en los diferentes mercados del Distrito Metropolitano de Quito (DMQ) para dar a conocer si su consumo es seguro y no representa un riesgo para la salud humana. Para cumplir con este objetivo principal se planteó los siguientes objetivos secundarios: identificar los diferentes mercados del DMQ, caracterizar fisicoquímicamente las

muestras de berro, determinar microbiológicamente estas muestras según parámetros internacionales establecidos para hortalizas de hoja y determinar la concentración de plomo y cadmio según el CODEX.

# Capítulo 1

## Marco teórico

### 1.1 Generalidades del berro

*Nasturtium officinale* R. Br. conocido comúnmente como berro, mastuerzo de agua o `watercress` en inglés es una planta procedente de Europa y Asia Central usada desde la antigüedad por la medicina tradicional para calmar problemas respiratorios y enfermedades cutáneas (Fernández M. A., 2013). Según el Instituto Nacional de Estadísticas y Censos INEC (2012), el berro es una planta acuática que se la puede encontrar en las fuentes, riachuelos y en aguas limpias de arroyos, pero asimismo se la puede cultivar; por lo tanto, esta planta siempre requerirá de un nivel de inundación aceptable en agua dulce.

#### Tabla 1.

Clasificación taxonómica de *N. officinale* R. Br.

<b>Reino</b>	Plantae
<b>División</b>	Magnoliophyta
<b>Clase</b>	Magnoliopsida
<b>Orden</b>	Brassicales
<b>Familia</b>	Brassicaceae
<b>Género</b>	<i>Nasturtium</i>
<b>Especie</b>	<i>N. officinale</i> R. Br.

Nota: Adaptado de Padilla, M. (2003)

En cuanto a su descripción botánica, esta hortaliza presenta tallos cilíndricos con raíces adventicias en los nudos, sus hojas son de color verde oscuro, sus flores son blancas y

pequeñas y su fruto consiste en una silicua corta, con semillas pequeñas y oscuras. Su sabor es fuerte y picante, agradable al paladar (Ramos, 2006).

En lo referente a su valor nutricional y usos, el berro contiene sales minerales como: sodio, potasio, calcio, hierro y azufre. Además, contiene vitamina A y es una fuente muy rica de fibra y vitamina C (Fanutrición, 2009). Sus hojas y tallos se consumen en ensaladas y puede utilizarse también para sopas (Mendiola & Montalbán, 2009, pág. 43).

## **1.2 Microorganismos en alimentos**

Los microorganismos son seres vivos microscópicos que se los pueden encontrar en todas partes. Estos pueden actuar como agentes de deterioro de alimentos. Entre los principales se encuentran las levaduras, bacterias y hongos filamentosos; siendo estos dos últimos los más importantes y causantes de hasta un 15% de las alteraciones vegetales poscosecha, conllevando a pérdidas económicas importantes; sin embargo, la mayor importancia recae en las posibilidades de que la salud de los consumidores se vea perjudicada después de la ingesta de vegetales contaminados por gérmenes patógenos (Deheco, 2010). Generalmente, las patologías más usuales son los trastornos gastrointestinales, no obstante pueden dar paso a cuadros más amplios en el organismo, pudiendo llegar a septicemias (UPNA, 2008).

La vida de los microorganismos está muy influenciada por las condiciones físicas y químicas del medio donde estos se desarrollan. Una de ellas es la temperatura que interviene sobre el crecimiento y la supervivencia de los microorganismos (Leyva, Martino, & Puig, 2008, pág. 44).

De acuerdo a la temperatura óptima de desarrollo, los microorganismos se dividen en:

- Psicrófilos: se desarrollan a temperaturas bajas, como por ejemplo la temperatura a la que se refrigeran comúnmente los alimentos (0 – 5 °C) (Leyva, Martino, & Puig, 2008, pág. 23).
- Mesófilos: se desarrollan a temperaturas medianas que se encuentran entre 15 - 45 °C. La presencia de mesófilos aerobios en los alimentos indica la calidad de estos (Buñay & Peralta, 2015).
- Termófilos: pueden crecer a temperaturas mayores a 45 °C (Rubiano, 2006).

### **1.2.1 Microbiota de hortalizas y verduras**

Cada vegetal cuenta con una microbiota muy diversa a partir de la cual se puede producir la alteración de este. La microbiota depende de varios factores como: “las características del vegetal, factores ambientales (sequía, humedad, radiación solar), proximidad o contacto con el suelo, agua de riego, etc.” (POMIF, 2012). Entre las principales bacterias se encuentran: Corineformes, *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Leuconostoc* y Lactobacilos (microbiota superficial), *Clostridium*, *Bacillus*, etc. y entre los principales hongos están: *Penicillium*, *Alternaria*, *Fusarium*, *Botrytis*, *Rhizopus*, *Trichoderma*, y otros (Bejarano & Carrillo, 2007, págs. 71-72).

#### ***1.2.1.1 Microorganismos patógenos en hortalizas frescas***

Entre los microorganismos que pueden contaminar las hortalizas frescas y provocar enfermedades en los seres humanos se encuentran ciertos virus, bacterias y algunos protozoarios de vida parasitaria (Chaidez, 2002).

Según Osorio, Torres y Sánchez (2011, pág. 170) algunas de las bacterias que se encuentran en ensaladas de vegetales y pueden constituir una fuente de patógenos para el

consumo humano son *Salmonella*, *E. coli O157:H7* o *Shigella*, debido a que generalmente son sometidos a procesos mínimos de desinfección, en el cual no se reducen los niveles de los microorganismos patógenos hasta niveles adecuados y seguros para el consumidor.

En cuanto a protozoarios, entre los más comunes se encuentran: *Cryptosporidium parvum*, *Giardia lamblia* y *Cyclospora cayetanesis* los cuales producen quistes que durante su fase son muy resistentes y son los causantes de la transmisión del microorganismo. Los quistes tienen la posibilidad de subsistir en el medio ambiente por períodos largos de tiempo y perdurar viables o en perfectas condiciones y así ocasionar enfermedades (Chaidez, 2002).

Hablando específicamente del berro, en las hojas y tallos de este a menudo se pueden encontrar pequeñas babosas que son hospederas de varios parásitos como *Fasciola hepatica* conocida comúnmente como la duela del hígado (Ramos, 2006).

Según Carrada-Bravo (2007) las principales fuentes de infección humana por *F. hepatica*, a más de los berros frescos están la alfalfa y las lechugas y con un solo huevo fértil se pueden producir miles de formas infectantes y así se dispersan por medios acuáticos como acequias y canales de riego, adhiriéndose sobre las hojas de las plantas.

En la siguiente tabla se muestran los principales patógenos presentes en hortalizas que pueden causar enfermedades alimentarias:

**Tabla 2.**

Patógenos aislados sobre hortalizas causantes de enfermedades alimentarias

<b>PATÓGENO</b>	<b>HORTALIZAS</b>
<i>Aeromonas</i> spp.	Brotes de alfalfa, espárrago, brócoli, coliflor, lechuga, pimienta.
<i>Bacillus cereus</i>	Brotes de distintas especies
<i>Escherichia coli</i> 0157:H7	Repollo, apio, cilantro, lechuga(*), brotes de alfalfa(*)
<i>Listeria monocytogenes</i>	Repollo, pepino, repollo cortado(*), papa, rabanito, ensaladas(*), tomates y otras hortalizas
<i>Salmonella</i> spp.	Alcaucil, tomate(*), brotes de alfalfa(*), coliflor, apio, berenjena, endivias, pimienta, lechuga, rabanito y diversas hortalizas
<i>Clostridium botulinum</i>	Repollo cortado(*)
<i>Shigella</i> spp.	Perejil, hortalizas de hoja, lechuga cortada(*)
<i>Cyclospora</i> spp.	Albahaca(*), lechuga(*)
<i>Hepatitis A</i>	Lechuga(*)

Nota: (\*) Enfermedades reportadas. Nombres científicos: alfalfa (*Medicago sativa* L.), espárrago (*Asparagus officinalis* L.), brócoli (*Brassica oleracea* var. *italica* Plenck), coliflor (*Brassica oleracea* var. *botrytis* L.), lechuga (*Lactuca sativa* L.), pimienta (*Capsicum annuum* L.), repollo (*Brassica oleracea* var. *capitata* L.), apio (*Apium graveolens* L.), cilantro (*Coriandrum sativum* L.), pepino (*Cucumis sativus* L.), papa (*Solanum tuberosum* L.), rabanito (*Raphanus sativus* L.), tomate (*Solanum lycopersicum* L.), alcaucil (*Cynara scolymus* L.), berenjena (*Solanum melongena* L.), endivias (*Cichorium endivia* L.), perejil (*Petroselinum sativum* Hoffm.) y albahaca (*Ocimum basilicum* L.).

Adaptado de Brackett y Harris (1998), citado en el *Manual para la preparación y venta de frutas y hortalizas. Del campo al mercado*. FAO (2003), por Cabascango S. (2016).

### **1.2.2 Enfermedades transmitidas por alimentos y su situación en Ecuador**

Las Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETA) “pueden generarse a partir de un alimento o de agua contaminada. Se las conoce así, porque el alimento actúa como vehículo de transmisión de microorganismos nocivos y sustancias tóxicas al cuerpo humano” (AGC, 2011, pág. 2).

Las enfermedades parasitarias transmitidas por alimentos se han vuelto más comunes en los últimos tiempos debido a la falta de saneamiento, crecimiento de la urbanización, carencia de hábitos de higiene y a la prioridad por alimentos crudos. Las hortalizas cumplen un papel importante en la dieta diaria ya que son ricas en vitaminas, minerales, fibra dietética y algunas en antioxidantes. Las hortalizas tienen como desventaja ser las principales fuentes de parásitos y el consumo de estas crudas o poco cocidas constituye el principal medio de transmisión de parásitos. Las principales fuentes de contaminación de estos vegetales son debido a la irrigación de cultivos con agua contaminada por materia fecal, esto quiere decir, a un inadecuado manejo de los vegetales durante la fase de cultivo y en fase de poscosecha, pudiendo darse durante el transporte o por una incorrecta manipulación de los vegetales en los locales de comercialización (Loza, 2012).

*Fasciola hepatica* es un trematodo responsable de la enfermedad conocida como fasciolosis, una zoonosis que afecta a animales y a seres humanos. Para adquirir la infección es necesario que se ingieran vegetales crudos de origen acuático, terrestres o fuentes de agua contaminadas con metacercarias, que es la forma infectante (Unibarren, 2014). Es por eso que el berro, en la mayoría de infecciones humanas producidas por el

parásito *F. hepatica*, es citado como la planta portadora de metacercarias (Dreyfuss, Vignoles, & Rondelaud, 2005).

En Ecuador, según el *Anuario de Vigilancia Epidemiológica del Ministerio de Salud Pública* (MSP, 2014), los casos de ETAS desde el año 1994 hasta el 2012 han ido aumentando considerablemente, pero en los últimos años se ha podido apreciar una disminución importante en comparación a los años 2010 y 2012 en los que se registran los números más altos de casos 705.475 y 717.125 respectivamente. En el año 2014 se reportó 542.569 casos de enfermedades ETAS a nivel nacional, estas comprenden: enfermedades diarreicas, fiebre tifoidea y paratifoidea, hepatitis A, infecciones debido a salmonela, intoxicación alimentaria, shigelosis y síndrome diarreico agudo con deshidratación. En lo que corresponde a la provincia de Pichincha, esta se encuentra en segundo lugar con 61.457 casos sólo detrás de la provincia del Guayas en el que se han informado 103.579 casos (MSP, 2014). Como se puede apreciar en los datos, la inocuidad de los alimentos tiene una gran importancia en la salud humana.

### **1.2.3 Criterios microbiológicos para verduras y hortalizas**

Según el trabajo realizado por Vélez y Ortega (2013) “en Ecuador las normas INEN no establecen criterios microbiológicos para verduras y hortalizas” (pág. 31), por lo que para esta investigación se consideró como normativa a la *Recopilación de Normas Microbiológicas de los Alimentos y Asimilados* (superficies, aguas diferentes de consumo, aire, subproductos) y otros *Parámetros Físico-químicos de interés sanitario* de Moragas y De Pablo (2015). Dentro de esta normativa los criterios establecidos para bacterias son los que se mencionan en la siguiente tabla:

**Tabla 3.**

Criterios microbiológicos para verduras y hortalizas

MICROORGANISMO	LÍMITES
Aerobios mesófilos	$10^2 - 10^5$ UFC/g
Coliformes	$10^2 - 10^4$ UFC/g
<i>E. coli</i>	$10 - 10^2$ UFC/g
<i>Salmonella</i>	Ausencia/25 g
Mohos y levaduras	Mohos/Levaduras: $10 - 10^4$ UFC/g Mohos: Cepas no toxigénicas

Nota: Adaptado de *Recopilación de Normas Microbiológicas de los Alimentos y Asimilados (superficies, aguas diferentes de consumo, aire, subproductos) y otros Parámetros Físico-químicos de interés sanitario*. Moragas y De Pablo (2015) por Cabascango S. (2016)

### 1.3 Metales pesados en alimentos

De acuerdo a Núñez y otros (2008): “el término “metal pesado” suele referirse a metales cuyo peso específico es superior a  $5 \text{ g.cm}^{-3}$  y que tiene un número atómico por encima de 20” (pág. 3).

Los metales, en cantidades mínimas son esenciales para la vida, siempre y cuando sean en concentraciones menores al 0.01% de la masa total del organismo, ya que si existe un aumento pueden provocar varios efectos desde nocivos hasta letales para los seres vivos (Jimenez, 2012).

Garrido y otros (2013) mencionan que en general, los metales suelen acumularse con frecuencia en los cultivos por medio de la absorción de agua de riego contaminada, así como a través de las raíces o por la deposición de partículas aerotransportadas en las hojas.

Refiriéndose específicamente a los metales pesados, la capacidad de bioacumulación de estos en una planta depende de la especie vegetal y de sus mecanismos de selectividad (Garrido, y otros, 2013).

De acuerdo a investigaciones realizadas por Kara (2005) existen muchas plantas acuáticas que tienden a acumular metales como cadmio, selenio y cobre en sus tejidos y en su estudio en *Nasturtium officinale* R. Br. determinó que esta planta, a dosis bajas puede soportar la exposición a ciertos metales pesados a largo plazo.

El cadmio, plomo, arsénico y mercurio son los metales pesados que producen mayor contaminación ambiental y son mundialmente conocidos por ser altamente tóxicos para el ser humano debido a que producen una serie de cuadros clínicos crónicos por la gran capacidad de acumulación y afinidad por grupos sulfhidrilos que intervienen en los sistemas enzimáticos (Prieto, 2011).

### **1.3.1 Plomo (Pb)**

Según la Autoridad Europea en Seguridad Alimentaria EFSA (2013), el plomo es un metal que se produce de forma natural y por actividades antropogénicas. En los alimentos, el plomo se encuentra principalmente en agua de grifo, verduras y cereales (Gimferrer, 2010), que a niveles bajos de concentración no representa un alto riesgo para la salud, pero a largo plazo puede ocasionar daños en la salud, sobre todo en fetos, bebés y niños (EFSA, 2013).

### **1.3.2 Cadmio (Cd)**

El cadmio es un metal, que se lo puede encontrar en el ambiente a partir de fuentes naturales o por medio de industrias y agricultura. Este puede acumularse en plantas y animales a partir del suelo y agua (Chavarrías, 2009).

Las principales fuentes de exposición al cadmio lo encontramos en cigarrillos y alimentos. Los principales alimentos que contienen altas concentraciones de cadmio son mariscos, riñones e hígado. Además, se puede también encontrar cadmio en productos de cereales integrales, papa y ciertas hortalizas de hoja (National Library of Medicine, 2015).

### **1.3.3 Enfermedades transmitidas por alimentos contaminados con metales pesados y su situación en Ecuador**

Existen diferentes maneras para que los metales pesados estén presentes en alimentos, como por ejemplo: proceder de un suelo contaminado, el uso de fertilizantes químicos, plaguicidas, etc. que con el tiempo pueden causar enfermedades en el ser humano debido a una intoxicación por estos agentes químicos. Entre algunos de los síntomas que producen están: náuseas, vómito, dolores abdominales, espasmos y en situaciones extremas estado de coma y la muerte (Orquera & Sánchez, 2012). Pero se constituyen como riesgo para la salud humana si su ingesta excede los límites permisibles y uno de los inconvenientes hoy en día es la falta de información de casos de problemas de salud, relacionadas a dicha contaminación. Sin embargo, aunque los efectos de la ingesta de alimentos contaminados con metales pesados, que superan los límites permitidos son menos drásticos que los causados por agentes biológicos, pueden llegar a ser tan

peligrosos como éstos, por lo tanto no hay que tomarlo a la ligera ya que las consecuencias en la salud pueden presentarse a largo plazo (OMS, 1989).

En cuanto a datos de casos sobre enfermedades transmitidas por alimentos contaminados con metales pesados en Ecuador, no existe información suficiente ya sea por lo mencionado anteriormente, que para conocer los efectos tóxicos del metal es necesario una ingesta exagerada del metal y sobre todo se requiere de tiempo para que se manifiesten las enfermedades.

### **1.3.4 Técnicas para detección de metales pesados en alimentos**

Existen diferentes técnicas para detectar metales pesados como plomo, cadmio, mercurio y otros en alimentos. Principalmente para estos metales se utilizan las espectrométricas de emisión atómica, que son muy sensibles para detectar límites muy bajos como 1 ppm (AINIA, 2011). Según la Norma Oficial Mexicana *NOM-117-SSA1-1994* (Secretaría de Salud de México, 2016).

El método de absorción atómica se basa en hacer pasar un haz de luz monocromática de una frecuencia tal que puede ser absorbido por el analito que se encuentra presente en forma de vapor atómico. La medida de la intensidad luminosa antes y después de su paso por el vapor atómico permite determinar el porcentaje de absorción (pág. 2).

El espectrofotómetro de absorción atómica de llama (FAAS) es utilizado para detectar metales en muestras de cualquier tipo, siendo su límite de detección en ppm y permitiendo determinar la presencia de elementos alcalinos, metales pesados y otros (SCAI, 2011).

### 1.3.5 Nivel máximo de concentración de metales pesados en hortalizas de hoja

Según el *CODEXSTAN 193-1995/ CL 2014/11-CF* (FAO, 2014), los parámetros establecidos para metales pesados en hortalizas de hoja son los que se presentan a continuación:

**Tabla 4.**

Límites máximos de metales pesados en hortalizas de hoja

<b>Metal</b>	<b>Nombre</b>	<b>Nivel máximo (NM) mg/kg</b>	<b>Parte del producto a la que se aplica el NM</b>	<b>Notas/observaciones</b>
<b>Cadmio</b>	Hortalizas de hoja	0.2	Todo el producto que se comercializa normalmente, después de eliminar las hojas claramente descompuestas o marchitas.	El NM también es aplicable a las hortalizas de hoja brasicáceas
<b>Plomo</b>	Hortalizas de hoja	0.3	Todo el producto como se comercializa comúnmente, después de retirarse las hojas evidentemente descompuestas o marchitas.	El NM se aplica a las brasicáceas de hoja pero no se aplica a las espinacas.

Nota: Adaptado de FAO/CODEX (2014) por Cabascango S. (2016)

De igual manera, en el *Reglamento Técnico MERCOSUR sobre Límites Máximos de Contaminantes Inorgánicos en Alimentos* (ANMAT, 2011), los límites máximos aplicables para hortalizas de hoja son los mismos reportados por el CODEX.

## 1.4 Mercados del Distrito Metropolitano de Quito (DMQ)

El Distrito Metropolitano de Quito se encuentra localizado en la provincia de Pichincha al centro norte de Ecuador. Este cuenta con 65 parroquias: 33 rurales y 32 urbanas, con una gran variedad de recursos naturales, pisos climáticos y otros. Se encuentra a 2.815 m.s.n.m con una temperatura de 14 °C y tiene una población de aproximadamente 2'239.191 habitantes, el cual corresponde el 86.9% de la población de la provincia de Pichincha y el 15.5% de la población nacional; de los cuales el 68.7% vive en el área urbana del DMQ (Consejo Metropolitano de Planificación, 2011).

El DMQ se encuentra distribuido en 9 administraciones zonales: “Calderón, Eloy Alfaro, Eugenio Espejo, Los Chillos, La Delicia, Manuela Sáenz, Quitumbe, Tumbaco y Especial Turística La Mariscal” (Municipio del Distrito Metropolitano de Quito, 2013).



A medida que la población se ha incrementado, las necesidades de los habitantes también; es por eso que se han expandido los mercados y ferias, sin que se pierdan los de mayor abastecimiento en el DMQ como lo son el mercado de San Roque y Chiriyacu “El Camal”. La diferencia entre los mercados y ferias de Quito radica en ciertos aspectos como las características físicas del lugar, las especialidades de sus giros, la calidad de sus productos y otros (Cazamajor, 1988, pág. 177 y 179).

Cada administración zonal cuenta con varios mercados y ferias libres, donde la gente puede realizar sus compras. Según el INEC (2013) el porcentaje de gasto mensual de la población en mercados y ferias libres es del 27% en el área urbana y del 37% en área rural, representando una cantidad alta de visitas a estos sitios de expendio.

## Capítulo 2

### Metodología

#### 2.1 Localización

Las muestras de berro fueron tomadas de 30 mercados que corresponden a las siguientes administraciones zonales del DMQ:

**Tabla 5.**

Ubicación y coordenadas de los mercados del DMQ

Zona	N°	Parroquia	Mercado	Ubicación/ calles	Coordenadas
<b>LA DELICIA</b>	1	San Antonio de Pichincha	San Antonio de Pichincha	13 de Junio e Inty ñan	0°0'13.895"S 78°26'37.69"O
	2	Comité del Pueblo	Comité del Pueblo	Av. Jorge Garcés y Baltazar Carrión	0°7'22.281"S 78°27'59.472"O
	3	Pomasqui	Pomasqui	Gabriel García Moreno y 24 de Mayo	0°3'24.938"S 78°27'14.538"O
	4	Cotocollao	Cotocollao	De los Molles y Bellavista	0°6'57.506"S 78°29'25.041"O
<b>CALDERÓN</b>	5	Calderón	Calderón	Calle Carapungo y Quitus	0°06'09.1"S 78°25'26.7"O
	6	Calderón	Carapungo	Calle Jaime Roldós Aguilera y Río Cayambe	0°5'45.293"S 78°27'2.115O
	7	Calderón	Llano Grande	Av. García Moreno y Eduardo Racines	0°07'05.1"S 78°26'01.0"O

	8	Kennedy	Kennedy	Los Pinos y Gonzalo Zaldumbide	0° 08'22.1"S 78°28'40.4"O
<b>EUGENIO ESPEJO</b>	9	Iñaquito	Iñaquito	Iñaquito y Juan José Villalengua	0°10'20.22"S 78°29'10.94"O
	10	Belisario Quevedo	Santa Clara	Calle Antonio de Ulloa y Ramírez Dávalos	0°11'58.7"S 78°29'57.7"O
	11	San Juan	América	Avenida América y Calle Buenos Aires	0°12'34.6"S 78°30'16.9"O
<b>CENTRO MANUELA SÁENZ</b>	12	Centro Histórico	San Roque	Calle Cumandá y La Libertad	0°13'11.895"S 78°31'17.123"O
	13	Itchimbía	Central	Avenida Pichincha y Calle Esmeraldas	0°13'12.2"S 78°30'25.7"O
	14	La Magdalena	La Magdalena	Cacha y Puruhá	0°14'31.16"S 78°31'46.94"O
	15	Solanda	Solanda	Juan Barreiro y Bonifacio Aguilar	0°16'7.687"S 78°32'33.889"O
	16	Solanda	Mayorista	Teniente Hugo Ortíz y Salvador Bravo	0°16'15.943"S 78°32'5.496"O
<b>ELOY ALFARO</b>	17	San Bartolo	San Bartolo	Calle Palenque y Toachi	0°16'13.307"S 78°31'32.342"O
	18	San Bartolo	El Calzado	Calle San Luis y Quevedo	0°15'17.023"S 78°31'45.73"O
	19	La Ferroviaria	Chiriyacu	Andrés Pérez y Calvas	0°15'3.32"S 78°31'11.42"O

	20	La Ecuatoriana	La Ecuatoriana	Av. Ecuatoriana y Lecumberry	0°18'27.339"S 78°33'42.702"O
<b>QUITUMBE</b>	21	Quitumbe	Ciudadela Ibarra	Av. Martha Bucaram de Roldós y Calle 4	0°17,675'S 78°33,778'O
	22	Chillogallo	Las Cuadras	Av. Mariscal Sucre y Matilde Álvarez	0°16'59.143"S 78°33'17.654"O
	23	Puembo	Puembo	Santiago Apóstol y 25 de Julio	0°10'33.3"S 78°21'33.9"O
	24	Cumbayá	Cumbayá	Vía del Ferrocarril e Interoceánica	0°12'2.785"S 78°26'0.232"O
<b>TUMBACO</b>	25	Tumbaco	Tumbaco Centro	Interoceánica y Rita Lecumberry	0°12'50.2"S 78°24'31.1"O
	26	El Quinche	El Quinche	E 35 y Cayambe	0°06'36.753"S 78°50.205"O
	27	Yaruquí	Yaruquí	Interoceánica 35Km y Calle Eugenio Espejo	0°09'47.1"S 78°19'15.9"O
	28	Alangasí	Alangasí	Paralela a la calle Abdón Calderón	0°18'07.3"S; 78°24'45.3"O
<b>LOS CHILLOS</b>	29	Conocoto	Conocoto	Entre las calles Rocafuerte y García Moreno (son paralelas)	0°17'51.468"S; 78°28'49.631"O
	30	Amaguaña	Amaguaña	Calles Juan José Flores e Isidro Ayora	0°22'36.816"S 78°30'28.67"O

Nota: Se seleccionó al menos tres mercados por cada administración zonal

Tomado de GPS Google Maps (2016). Elaborado por Cabascango S. (2016)

## **2.2 Materiales y métodos**

A continuación se detallan los materiales y métodos utilizados en cada etapa de la presente investigación.

### **2.2.1 Obtención y homogenización del material vegetal**

La toma de muestras en los mercados del DMQ se llevó a cabo bajo la normativa *NTE INEN 1750:1994* (INEN, 1994). De cada mercado se seleccionó dos puestos de venta al azar y se compró 1 kg de berro en cada uno, obteniendo una muestra final de 2 kg. Las muestras fueron colocadas en bolsas de plástico con cierre zip, etiquetadas, refrigeradas y llevadas a los laboratorios de Ciencias de la Vida de la Universidad Politécnica Salesiana, Campus El Girón, Sede Quito, donde se realizó la respectiva homogenización y cuarteo hasta obtener la muestra compuesta.

Para el análisis microbiológico se tomó 20 g de berro por cada mercado, seleccionando sólo las hojas que estaban en la intemperie, de igual manera se las colocó etiquetadas en bolsas de plástico con cierre zip y fueron almacenadas en el congelador a -80 °C para su posterior uso.

### **2.2.2 Análisis físico y sensorial del material vegetal**

Son análisis subjetivos, que permiten determinar las características básicas de un alimento por ejemplo: color, olor, peso y tamaño y sirven como indicador de calidad (Matute & Tirado, 2013).

### **2.2.2.1 Color y olor**

El color y olor de las muestras fueron realizadas por percepción.

### **2.2.2.2 Tamaño y peso**

De cada muestra se separaron ramas de berro al azar y se escogieron varias hojas, se pesaron y tomaron las medidas de estas: largo y ancho.

## **2.2.3 Caracterización fisicoquímica**

### **2.2.3.1 Determinación de Humedad**

Este análisis fue realizado de acuerdo al método *AOAC 925.10 (32.1.03)* (2000) en una estufa Selecta, Modelo Digitheat. Los cálculos se realizaron mediante la fórmula:

$$\% \text{ Humedad} = \frac{(\text{Peso caja vacía} + \text{Peso muestra}) - (\text{Peso caja con residuo})}{\text{Peso de la muestra húmeda}} * 100$$

Nota: Adaptado de García, E. y Fernández, I. (2012) por Cabascango S. (2016)

### **2.2.3.2 Determinación de Cenizas**

Para este análisis se utilizó el método *AOAC 923.03 (32.1.05)* (2000) y se realizó en una mufla Thermo Scientific, Modelo F48010. Los cálculos se realizaron a partir de la fórmula:

$$\text{Contenido cenizas \%} = \frac{\text{Peso de cenizas (g)}}{\text{Peso de la muestra (g)}} * 100$$

Nota: Tomado de Muñoz, A. y Vega, J. (2014)

### **2.2.3.3 Determinación de sólidos solubles**

Para este análisis se siguió el método *AOAC 932.12 (37.1.15)* (2000). La muestra fresca se trituró en un mortero con ayuda del pistilo y el extracto líquido fue analizado inmediatamente. Se ajustó el refractómetro Atago, Modelo NAR-1T Liquid a 20 °C y se colocó una gota de muestra en el prisma. Se procedió a tomar los datos de °Brix.

### **2.2.3.4 Determinación de pH y Acidez Titulable**

Para este análisis se pesó 10 g de la muestra y se procedió a licuar con 200 ml de agua destilada por 2 minutos a velocidad máxima. Inmediatamente se armó el equipo de filtrado (embudo de büchner con algodón acoplado al kitasato mediante un corcho y el kitasato conectado a la bomba de vacío), el jugo obtenido se filtró y se colocó en dos matraces, 100 ml en cada uno. Se midió el pH de ambas soluciones con el pHmetro Mettler Toledo, Modelo SevenEasy y se tituló de acuerdo al método *AOAC 942.15 (37.1.37)* (2000). La acidez titulable se expresó como porcentaje del ácido predominante en vegetales de hojas verdes: ácido oxálico 0.045. Los cálculos se realizaron siguiendo la ecuación:

$$\% \text{ acidez} = \frac{V_{\text{NaOH}} * N_{\text{NaOH}} * \text{meq}_{\text{ácido}} * 100}{V}$$

Nota: Tomado de Flores, E. (2004)

Dónde:

$V_{\text{NaOH}}$  = volumen de NaOH usado para la titulación

$N_{\text{NaOH}}$  = normalidad del NaOH

$meq_{\text{ácido}}$  = miliequivalentes de ácido predominante

V = volumen de la muestra utilizada (Flores, 2004).

## **2.2.4 Análisis microbiológico**

La determinación microbiológica se realizó en dos partes: bacteriología y parasitología.

### **2.2.4.1 Bacteriología**

Para bacteriología, se tomó en cuenta únicamente a los aerobios mesófilos totales.

#### *2.2.4.1.1 Recuento de aerobios mesófilos*

Se utilizó la técnica de extensión superficial en caja (Camacho, y otros, 2009) con las siguientes modificaciones:

En la licuadora previamente esterilizada se colocó 10 g de muestra y se licuó con aproximadamente 500 ml de agua estéril. Se tomó 1 ml del jugo y se realizaron las diluciones en serie hasta la dilución  $10^{-7}$  para luego proceder a la siembra según la técnica ya mencionada utilizando el medio TSA BBL™ Soybean-Casein Digest Agar. Todo el procedimiento se realizó en la cámara de flujo con las respectivas medidas asépticas. Una vez que las placas fueron colocadas en la incubadora por 48 horas se hizo el conteo de colonias y los resultados fueron reportados como unidades formadoras de colonias por gramo de muestra (UFC/g) mediante la siguiente ecuación:

$$UFC/g = (NC * 1/FD * 1/V) / (P * FH)$$

Nota: Tomado de Fernández y otros (2006)

Dónde:

UFC/ g = unidades formadoras de colonias / g de muestra

NC = número de colonias en una caja (aplica de 30-300 colonias)

FD = factor de dilución que corresponde a la dilución de donde se tomó la muestra con la que se inocula la caja ( $10^{-2}$  a  $10^{-7}$ )

V= volumen inoculado en la caja = 0.1 ml

P = peso de la muestra utilizada = 10 g

FH = factor de corrección de humedad ( $1-(\% \text{ humedad}/100)$ ) (Fernández, y otros, 2006).

#### ***2.2.4.2 Parasitología***

Para parasitología, se realizó únicamente la observación de quistes de parásitos en el microscopio, indistintamente de cada especie.

##### *2.2.4.2.1 Detección de quistes de parásitos*

La normativa INEN no cuenta con análisis microbiológico para parásitos, por lo que se tomó como referencia las técnicas de sedimentación de Hoffman, Pons y Janer (HPJ) y la técnica centrífugo-flotación de Faust (F) (Sena, y otros, 2010) con las respectivas modificaciones que se detallan a continuación:

Los tubos de las diluciones realizadas para recuento de aerobios mesófilos fueron refrigeradas a 2 °C por 24 horas. Se centrifugaron a 15 000 rpm durante 10 minutos y con un gotero de vidrio se desechó el sobrenadante hasta que quedó únicamente el pellet. Éste fue colocado en tubos eppendorf con 0.5 ml de agua de la misma dilución y refrigerados hasta su posterior uso. Antes de realizar la observación microscópica, los tubos eppendorf fueron centrifugados en la micro-centrifuga Labnet, Modelo C2400-B a

5 000 rpm durante 2 minutos. Inmediatamente se tomó 2 µl de muestra y se colocó en el lado izquierdo del portaobjetos y una segunda repetición en el lado derecho. De igual manera, se colocó 2 µl del colorante safranina en cada gota de muestra. Se colocó el cubreobjetos y posteriormente una gota de aceite de inmersión en ambas repeticiones. Se observó en el microscopio óptico a 100X y se procedió a buscar quistes en 5 campos. Los resultados fueron reportados como ausencia o presencia de quistes.

### **2.2.5 Determinación de metales pesados**

Los metales pesados a cuantificar fueron plomo y cadmio.

#### ***2.2.5.1 Pre-tratamiento de muestras***

Las muestras de berro fueron colocadas en bolsas de papel y secadas en una cámara climática Binder, Modelo KBF 240 a una temperatura de 70 °C por 24 horas (Sadzawka, y otros, 2007). Una vez secas se las colocó en la licuadora y se procedió a pulverizarlas.

#### ***2.2.5.2 Digestión de muestras***

Para la digestión se siguió el método *AOAC 999.10 (9.1.08)* (2002) con las siguientes modificaciones: se pesó aproximadamente 250 mg de muestra pulverizada y se colocó dentro del digestor de teflón. Se añadió 1.5 ml de ácido nítrico concentrado y 1.5 ml de ácido sulfúrico y se procedió a cerrar herméticamente para llevarlo al microondas digestor Berghof Speed wave 2, Modelo HB43-S por 40 minutos, según lo establecido por el Manual del equipo para muestras de plantas secas. Una vez terminada la digestión, se dejó enfriar los digestores en la sorbona por 20 minutos y se procedió a abrirlos cuidadosamente, se trasvasó el líquido a un balón de 25 ml y se aforó con agua desionizada. Las digestiones fueron colocadas en tubos de vidrio y etiquetados.

### ***2.2.5.3 Medición por espectrofotometría de absorción atómica de llama (FAAS)***

Se prepararon los estándares a partir de la solución patrón, siendo para plomo y cadmio las siguientes concentraciones: 0.5, 1.0, 2.0, 4.0 ppm. La preparación de los estándares se realizó el mismo día del análisis.

La lectura de metales pesados se realizó de acuerdo al Manual del Espectrofotómetro de Absorción Atómica Varian, Modelo SpectrAA-55 y se guió de igual manera en el método *AOAC 999.10* (9.1.08) (2002). Se esperó un determinado tiempo hasta que se estabilice el equipo, verificando que las longitudes de onda (217.0 nm para Pb y 228.8 nm para Cd) correspondan a los metales que se seleccionaron. Se encendió con agua desionizada y se realizaron las respectivas curvas de calibración con las absorbancias de las soluciones estándares. Cada cierto número de muestras se volvió a leer las soluciones estándares para verificar el buen funcionamiento del equipo. Con los resultados obtenidos se calculó la concentración del metal utilizando la ecuación establecida por el mismo método.

## **2.3 Tratamientos**

Todos los análisis se realizaron por triplicado y se trabajó con el promedio final de cada muestra.

## **2.4 Diseño experimental**

Para el análisis estadístico, promedios aritméticos y gráficos se utilizaron el programa Microsoft Excel 2010 y el software INFOSTAT versión 2009. A todos los análisis se les realizó un análisis de varianza ANOVA y posteriormente la prueba de TUKEY con un

nivel de significancia  $p < 0.05$  y 95% de confiabilidad. Además, se realizó un análisis de dispersión para la determinación de correlación entre las UFC/g y las variables de los análisis proximales, utilizando el software R Project versión 3.2.4.

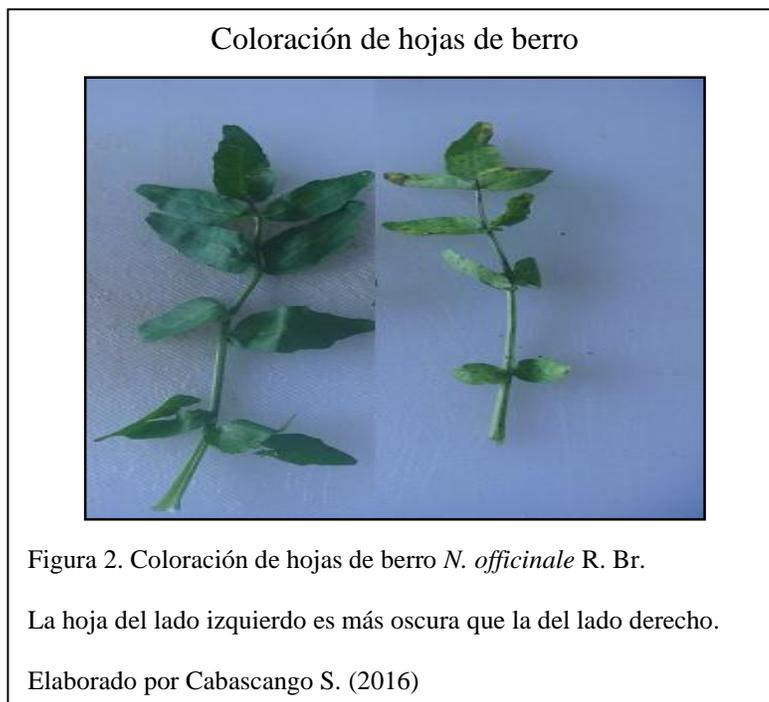
## Capítulo 3

### Resultados y Discusión

Para la selección de los mercados se tuvo en cuenta la distribución zonal del DMQ. De cada administración zonal se trabajó con el 50% de las parroquias, para tener una muestra representativa y de cada parroquia se eligió un mercado. La Administración Zonal de La Mariscal fue excluida de este estudio, debido a que el material vegetal de interés no estaba a la venta; porque no lo expenden con frecuencia. Además, también quedaron excluidas las parroquias, que no cuentan con mercado alguno, por lo tanto, los mercados seleccionados para esta investigación representan más del 50% del total de mercados existentes en el DMQ.

#### 3.1 Análisis físico y sensorial

Todas las muestras presentaron principalmente dos coloraciones (figura 2): verde oscuro (frescas) y verde amarillento (maduras), con un olor característico del berro.



En cuanto al tamaño y peso de las hojas, los valores de las muestras fueron muy variables (tabla 6). Del grupo total, las muestras que presentaron un menor tamaño y peso fueron las pertenecientes a los mercados La Magdalena y Mayorista, mientras que la muestra del mercado Alangasí fue la de mayor tamaño y peso de todo el grupo. Estas diferencias pueden corresponder, principalmente a que para realizar este análisis se seleccionaron al azar las hojas del berro, independientemente de la ubicación, siendo las hojas inferiores más grandes que las superiores. Pero además, las diferencias entre muestras pueden también deberse a varios factores, como la disponibilidad de nutrientes en el agua que es directamente proporcional a su crecimiento (Márquez, 2013), luz solar, enemigos naturales como: plagas, virus, artrópodos terrestres, trematodos hepáticos y algunos áfidos (Smith, 2007), el tiempo de cosecha, etc. e incluso el tiempo que pasa entre la distribución del producto en los diferentes mercados y la compra de este por los consumidores, esto debido a que el vegetal puede perder su frescura y empezar a descomponerse con el transcurso de los días (Patiño & Ocampo, 2014).

**Tabla 6.**

Tamaño y Peso de hojas del berro de los diferentes mercados del DMQ

MERCADOS	HOJA		
	Largo (cm)	Ancho (cm)	Peso (g)
Cumbayá	13.56	5.40	0.94
Tumbaco	12.60	4.25	0.63
Puembo	11.27	4.18	0.58
América	16.64	3.79	1.58
Central	12.28	6.42	0.91
San Roque	12.38	5.15	0.73
El Calzado	11.38	5.05	1.00
Mayorista	<b>10.08</b>	<b>3.10</b>	<b>0.38</b>
Solanda	13.95	4.50	0.84
La Magdalena	<b>9.51</b>	<b>3.02</b>	<b>0.33</b>
Chiriyacu	14.38	5.07	0.85
San Bartolo	12.79	3.94	0.77
Yaruquí	14.46	4.29	0.82
Quinche	11.91	3.96	0.57
La Ecuatoriana	11.45	6.05	0.78
Las Cuadras	14.28	5.96	0.94
Ciudadela Ibarra	15.14	4.75	0.65
Conocoto	13.47	4.89	0.73
Alangasí	<b>18.62</b>	<b>7.61</b>	<b>1.90</b>
Amaguaña	14.99	5.22	0.72
Comité del Pueblo	12.82	4.89	0.61
Cotocollao	10.92	5.00	0.62
Calderón	14.44	4.95	0.64
Carapungo	16.90	5.64	0.91
Llano Grande	10.69	3.73	0.57
La Kennedy	16.06	5.57	1.09
Iñaquito	16.03	6.37	1.62
Santa Clara	15.03	6.14	1.15
San Antonio de Pichincha	13.98	5.63	0.70
Pomasqui	10.95	4.67	0.58

Nota: El menor y mayor valor de cada parámetro de los mercados se encuentra en negrita

Elaborado por Cabascango S. (2016)

En la tabla 7 se pueden apreciar los promedios totales y los rangos de las muestras analizadas, donde el promedio general de las hojas de berro difiere al rango propuesto por Maroto (1992, pág. 568) en el cual indica que las hojas del berro son de 15 a 20 cm de largo, mientras que Barker (2009) reporta que las hojas de *N. officinale* R. Br. son de entre 12 a 14 cm de largo, siendo este rango al que pertenece el promedio total de las 30 muestras analizadas; por otro lado, en el caso del ancho de las hojas, el promedio general no entra en el rango de 5 a 15 cm que reporta Fernández (2013), simplemente se acerca a dicho valor.

**Tabla 7.**

Tamaño y peso de hojas pertenecientes a muestras de berro recolectadas en los diferentes mercados del DMQ

<b>Parte de la planta</b>	<b>Medidas</b>	<b>Rango</b>	<b>Promedio Total</b>
<b>HOJA</b>	Largo (cm)	9.51-18.62	13.43
	Ancho (cm)	3.02-7.61	4.97
	Peso (g)	0.33-1.90	0.68

Nota: Los valores que se presentan en la tabla corresponden al total de los 30 mercados analizados

Elaborado por Cabascango S. (2016)

### **3.2 Caracterización fisicoquímica**

En la tabla 8 se presenta un resumen de los resultados de la caracterización fisicoquímica, realizada en las 30 muestras de berro de cada mercado seleccionado, mientras que en la tabla 9 en anexos se puede apreciar los valores de los parámetros analizados de cada uno de los mercados estudiados.

**Tabla 8.**

Caracterización fisicoquímica de *N. officinale* R. Br. de los diferentes mercados del DMQ

<b>Parámetro</b>	<b>Resultados*</b>	<b>Promedio Total</b>
Humedad (%)	92.8 ± 1.5	92.78
Cenizas (%)	1.56 ± 0.53	1.28
Sólidos Solubles (°Brix)	4 ± 1	3.78
pH	6.8 ± 0.73	6.68
Acidez titulable (% ácido oxálico)	0.065 ± 0.025	0.07

Nota: \* Variación de los valores de los 30 mercados

Elaborado por Cabascango S. (2016)

### **3.2.1 Humedad**

La variación del contenido de humedad en los diferentes mercados del DMQ es mínima (tabla 8), siendo la muestra de berro del mercado El Calzado la de menor porcentaje (91.30%) y la del mercado Mayorista la de mayor porcentaje (94.30%), el resto del grupo no presenta diferencia significativa. El promedio total de humedad de todas estas muestras es similar a los valores reportados en la literatura: 94.60% (Patiño & Ocampo, 2014) y 92.20% (INCAP/OPS, 2012, pág. 33), por lo tanto todas las muestras de berro van a ser susceptibles a la presencia de microorganismos especialmente de bacterias, debido a que estas crecen favorablemente a niveles altos de humedad (In Food Quality, 2009).

### **3.2.2 Cenizas**

En cuanto al contenido de cenizas, el promedio total de las muestras (tabla 8) coincide con el valor de 1.30 propuesto por el Instituto de Nutrición de Centroamérica y Panamá INCAP (2012, pág. 33) para berros crudos, mientras que relacionándolo con otro vegetal

similar como la acelga, la cantidad de cenizas de éste es de  $2.0\pm 0.2$  (Costa, y otros, 2003) siendo también semejante al berro; esto podría deberse a que a pesar de pertenecer a diferentes familias, ambos son hortalizas de hojas verdes. La muestra del mercado que presenta menor cantidad de cenizas es la de Solanda (1.03%), seguida de la muestra de Conocoto, Carapungo y La Magdalena, (1.05, 1.07 y 1.08% respectivamente) mientras que la muestra que presenta una mayor cantidad de cenizas es la muestra del mercado San Antonio de Pichincha (2.08%), en el resto de mercados no hay diferencia significativa.

### 3.2.3 Sólidos Solubles

Las muestras de berro que presentan menor cantidad de °Brix corresponden a los mercados de Puembo y Tumbaco (3 y 3.03 °Brix respectivamente), mientras que las muestras provenientes de San Bartolo y Comité del Pueblo representan los valores más altos (5 °Brix). El promedio total de sólidos solubles fue de 3.78 °Brix (tabla 8) y comparando con otros vegetales como la espinaca de Nueva Zelanda *Tetragonia expansa* Murray, la autora reporta que los °Brix van de 3.66 a 4.66 (Ísturiz, 1990), mientras que en la especie *Spinacia oleracea* L. Chuquitarco (2014) reporta un valor de 2 °Brix, por lo tanto las muestras de berro estarían dentro del rango de la primera especie mencionada. Según la tabla de °Brix propuesta por Reams (2015) en ciertos vegetales como apio, perejil o lechuga un valor de 4 °Brix es considerado como pobre en porcentaje de sacarosa, mientras que 6 °Brix es considerado como regular, 10 °Brix como óptimo y 12 °Brix, como excelente y comparando estos valores con las muestras trabajadas se puede inferir que el berro tiene una cantidad pobre de sacarosa. Este valor °Brix es sobre todo muy importante en frutas debido a que al tener un valor más alto

tendrá un mayor contenido de azúcar, minerales, proteínas y menor contenido de agua y nitratos (Reams, 2015). Deduciéndose así que el berro al tener una gran cantidad de agua tenga un porcentaje de sacarosa y minerales (cenizas) bajo.

### **3.2.4 pH y Acidez Titulable**

La muestra del mercado La Ecuatoriana presenta el pH más bajo (pH=6.07) mientras que el mayor pH lo tiene la muestra proveniente del mercado América (pH=7.53), el resto de muestras están dentro de estos valores. El promedio total de pH de todas las muestras (tabla 8) se encuentra dentro de los valores establecidos por Vílchez (2008) que es de 6.0 a 6.8. De igual manera Kendrick y Drost (2008) indica que el berro tiene un rango de pH de 6.5 a 7.5, por lo tanto todas las muestras de berro tienden a acercarse a la neutralidad. Esta información resulta importante al momento de relacionarlo con la proliferación microbiana, ya que el crecimiento óptimo de estos microorganismos, especialmente de bacterias, está en un pH de 6.6 a 7.5, es decir acercándose al nivel neutro (Edid, 2012). En cuanto a la acidez en hortalizas frescas, Nielsen (2003, pág. 220) indica que los vegetales de hojas pueden contener cantidades significativas de ácido oxálico es por eso que los valores obtenidos en este estudio se expresaron en función al ácido mencionado. La muestra del mercado El Calzado es la que presentó el valor más bajo de ácido oxálico (0.04%), mientras que las muestras de mercados que presentaron los valores más altos del grupo fueron Cotocollao, Alangasí, Carapungo y San Antonio de Pichincha (0.09%). El promedio total del porcentaje de ácido oxálico del berro (tabla 8) es muy bajo comparado al valor reportado en la *Tabla de Contenido de Ácido Oxálico en Vegetales Selectos* de Haytowitz y Matthews (1984) que corresponde a 0.31 (g/100g), mientras que en la misma tabla, las hojas de nabo (0.05%) presentan un valor similar a

las muestras de berro de este estudio. Esta diferencia de ácido oxálico entre berros podría deberse a que son diferentes especies y/o a que este ácido en general tiende a aumentar a medida que el vegetal va madurando. Deduciéndose así que la mayoría de las muestras de berro analizadas fueron generalmente frescas (Guinea Lynx, 2000-2016).

### **3.3 Análisis microbiológico**

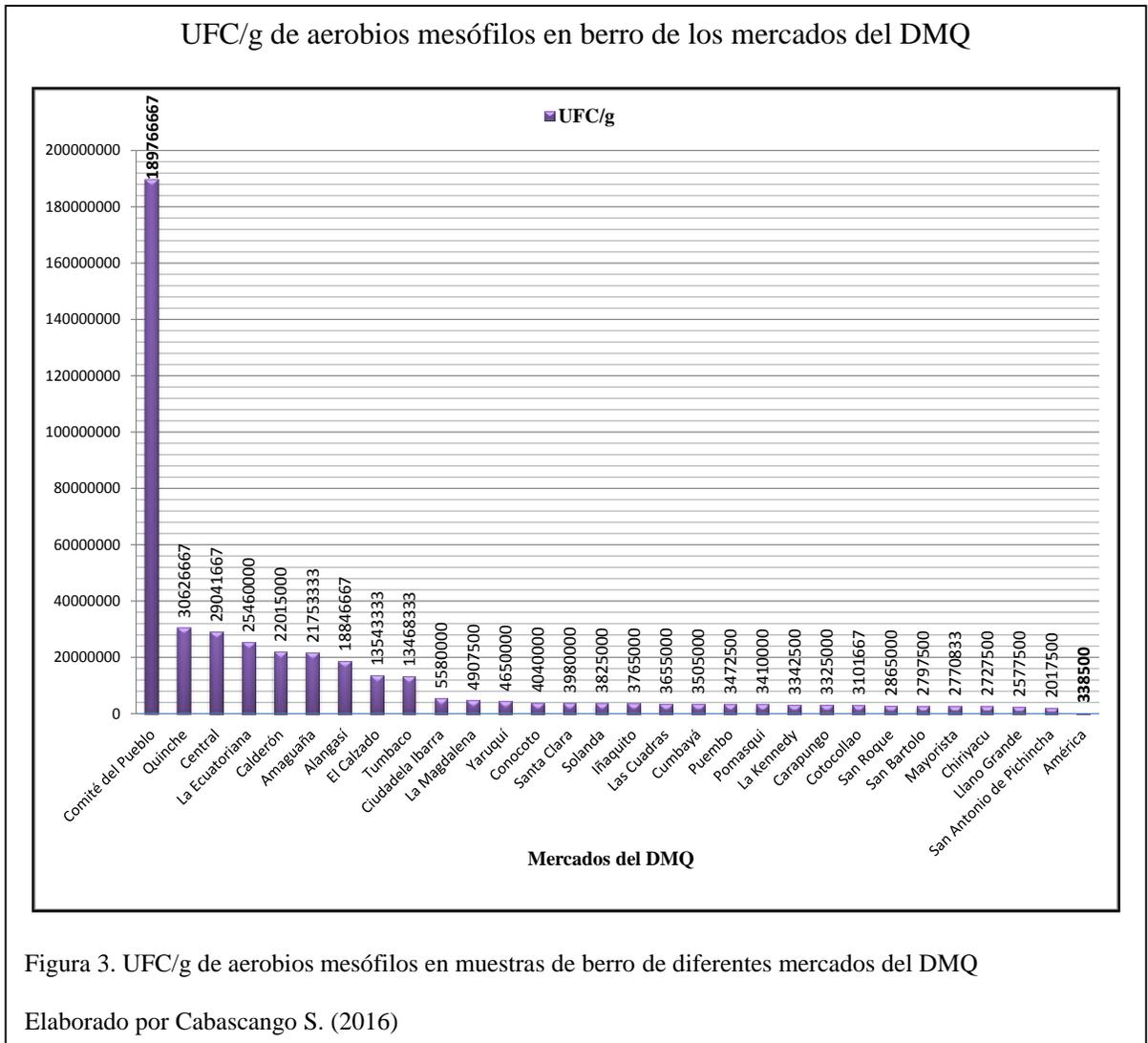
Los resultados obtenidos en bacteriología y parasitología son los que se presentan a continuación:

#### **3.3.1 Bacteriología**

Los resultados obtenidos en bacteriología están expresados como UFC/g.

##### ***3.3.1.1 Aerobios mesófilos***

Se realizó un análisis de datos exploratorios a las UFC de las 30 muestras, donde se confirmó que no existe una distribución normal, debido a un dato atípico que está fuera de los límites normales, alejándose así del grupo total. Este dato corresponde al mercado del Comité del Pueblo.



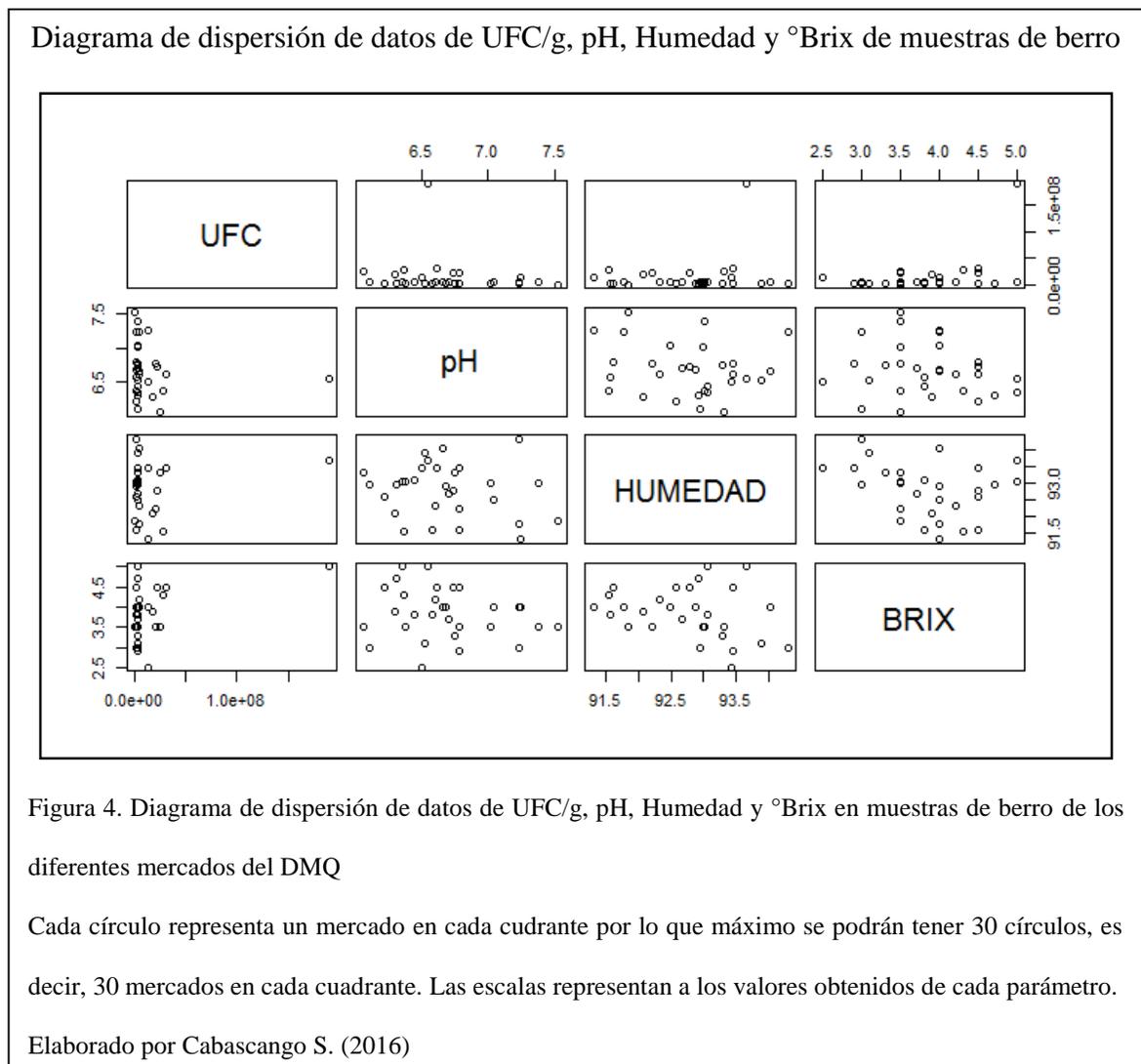
Como se puede observar en la figura 3 las UFC de la muestra del mercado del Comité del Pueblo es la que sobresale de todo el grupo con un valor de 189'766.667 UFC/g. Comparando todas las muestras con los criterios microbiológicos para verduras y hortalizas establecidos por Moragas y De Pablo (2015) que reportan como límite máximo permisible para aerobios mesófilos de 1.000 a 1'000.000 UFC/g, se puede observar que la única muestra que se encuentra dentro de los límites permitidos es la que pertenece al mercado América (338.500 UFC/g), mientras que el resto de mercados sobrepasan los límites y sobre todo la muestra del mercado del Comité del Pueblo,

siendo esta muestra la que mayor contaminación bacteriana presenta. La razón por la cual el mercado América se encuentra dentro de los límites permitidos; posiblemente se deba a una aceptable manipulación del vendedor y del sitio de expendio, mientras que en el resto de mercados no se refleja eso y mucho menos en el mercado del Comité del Pueblo.

Por otro lado, comparando con otros estudios, el valor reportado de 11'000.000 UFC/g por Erkan y Vural (2008) en berro, no es similar a ningún valor de las muestras obtenidas en este estudio; las muestras que más se acercan a dicho valor son las del mercado Tumbaco y El Calzado, pero a pesar de no ser similares se puede observar que los valores reportados por dicho autor, también sobrepasan los límites máximos de aerobios mesófilos. Una de las razones por la cual la contaminación de estas muestras fue muy alta, puede ser debido a la gran capacidad de proliferación que tienen los microorganismos en tejidos vegetales externos; en este caso las hojas, debido a una mayor exposición al aire, suelo, agua y otras fuentes de microorganismos (In Food Quality, 2009). Además, otra de las razones fundamentales es que los pH reportados en las muestras de berro tuvieron un valor promedio de 6.68 y por lo general las bacterias tienden a crecer con mayor facilidad en pH que se acercan a la neutralidad, entonces es evidente que haya un significativo crecimiento bacteriano, ya que los mohos y levaduras por lo general toleran pH que se alejen de la neutralidad (Edid, 2012). De igual manera, la humedad es un parámetro importante para la proliferación bacteriana, por lo que esta es otra razón por la cual las muestras de berro presentaron altos niveles de UFC/g.

Como se reportó anteriormente, la humedad promedio de las muestras de berro fue de 92.78% y la humedad óptima para las bacterias es de 92% o más y al igual que el pH, los mohos y levaduras prefieren humedades menores a 92% (Edid, 2012). Por lo tanto el

berro es una hortaliza muy propensa a contaminación por bacterias y cabe señalar que además la alta carga bacteriana en las muestras de berro, también puede estar ligada a otros factores, como la madurez del vegetal, puesto que al tener un tiempo de conservación limitado va a ser más sensible a la acción microbiana, mientras aumente su proceso de maduración; otros factores son la manipulación del vegetal durante la cosecha, las medidas de salubridad durante el transporte de estas hasta su llegada a los centros de expendio, el lugar donde se los coloque para su expendio y junto a qué otras verduras o frutas se encuentre, las medidas higiénicas del vendedor, etc.



Adicionalmente, para saber si los aerobios mesófilos se relacionaban con ciertos parámetros como la humedad, pH y °Brix se realizó un diagrama de dispersión (figura 4), donde se puede observar que no hay una correlación significativa entre los parámetros mencionados con los aerobios mesófilos totales ya que el valor  $r^2$  de cada correlación fue de 0.033 para humedad, 0.01 para pH y 0.14 para °Brix, siendo no significantes e indicando que las variables tienden a ser independientes.

### **3.3.2 Parasitología**

Todas las muestras dieron positivo para parásitos. Se encontró al menos un quiste en cada campo analizado independientemente de género y especie al que pertenezca (figura 5). La safranina utilizada en el análisis fue útil para diferenciar quistes de bacterias, dado que estos últimos se tiñeron, mientras que los quistes no. La presencia de estos quistes, en todas las muestras es un indicativo de que no hay una correcta manipulación de la hortaliza, ya sea por parte de los cosechadores, distribuidores o de los mismos vendedores. No obstante puede también que la presencia de parásitos, se deba a la calidad de agua donde crece el berro, ya sea porque cerca de los ríos es muy común ver a gente pastando al ganado, pudiéndose así contaminarse el agua con las heces de estos animales. A más de eso, el berro al estar expuesto a un medio húmedo es un blanco fácil para las babosas y caracoles, que al pegarse al vegetal pueden traer consigo algún tipo de parásito. También, dependiendo de la viabilidad de los quistes que se encontraron en las muestras de berro, estos podrían haber sido considerados de mayor o menor riesgo, así lo reportan Cook y otros (2007), donde en una muestra que analizaron de ensalada fresca de berros, espinacas y rúcula encontraron un quiste de Giardia, pero la morfología de

este quiste indicó que no era viable, por lo que si se hubiera consumido la ensalada no habría presentado un riesgo.

Uno de los parásitos que es muy común en el berro y que también pudo estar presente en las muestras analizadas es *F. hepatica*, responsable de la fasciolosis y que en Ecuador, según Goldman y Schafer (2016, pág. 2156) ha sido el causante de infecciones intestinales en aproximadamente 20.000 personas.



### 3.4 Determinación de metales pesados Pb y Cd

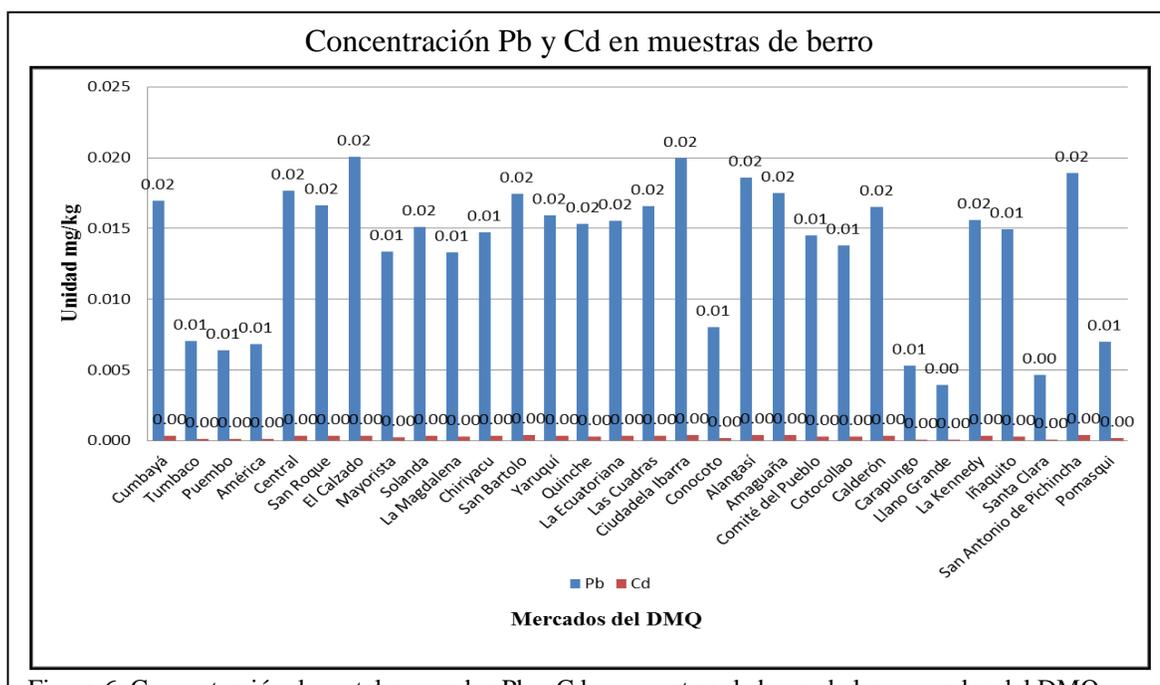


Figura 6. Concentración de metales pesados Pb y Cd en muestras de berro de los mercados del DMQ

En azul se encuentran los valores pertenecientes a plomo y en rojo a cadmio. Los valores están reportados en base húmeda y con 2 cifras decimales.

Elaborado por Cabascango S. (2016)

Como se puede apreciar en la figura 6, ninguna de las 30 muestras analizadas sobrepasa el límite máximo permisible de plomo y cadmio establecido por el CODEX (0.3 y 0.2 mg/kg respectivamente). La prueba de Tukey aplicada al grupo de muestras, tanto para la variable plomo, como para cadmio indica que sí existe diferencia significativa ( $p < 0.05$ ), siendo el rango, en el caso del plomo, 0.004 a 0.02 mg/kg, mientras que en cadmio, los rangos son mucho más pequeños de 0.0001 a 0.0004 mg/kg. En el caso del plomo, todas las muestras son inferiores a 0.02 mg/kg, siendo las muestras de Llano Grande y Santa Clara las más bajas del grupo y las muestras de El Calzado y Ciudadela Ibarra las más altas. El valor promedio total de contenido de plomo de las muestras

estudiadas (0.01 mg/kg) comparado con el valor del berro analizado por Phillips y otros (2011) que fue de 0.05 mg/kg es muy inferior, sin embargo, los valores obtenidos por Edmonds (2001) en las especies *Rorippa microphylla* y *Rorippa nasturtium-aquaticum* de la región de Wellington, Nueva Zelanda son iguales a los obtenidos en este estudio, lo que hace pensar que las diferencias y semejanzas entre resultados se deba a la fisiología de cada especie y a la calidad de agua en la que se desarrollan. Con respecto al cadmio, como ya se mencionó los valores obtenidos fueron demasiado bajos (<0.01 mg/kg) y comparando con los obtenidos por Edmonds (2001) en las mismas especies ya mencionadas (0.01 y 0.02 ppm respectivamente), los resultados de *N. officinale* R. Br. siguen siendo aún muy inferiores. Al estar todas las muestras de berro dentro de los límites permitidos en cuanto a plomo y cadmio se refiere, se puede presumir que en los sitios de donde provinieron originalmente las muestras no existe contaminación de aguas, esto podría deberse principalmente a la ausencia de actividades industriales aledañas a la zonas de crecimiento vegetal que son las principales causas de contaminación ambiental.

## Conclusiones

Se pudo concluir que las muestras analizadas de 30 mercados del Distrito Metropolitano de Quito presentaron diferente tamaño y peso de hoja (largo: 9.51-18.62, ancho: 3.02-7.61 y peso: 0.33-1.90), pero en cuanto a la caracterización fisicoquímica presentaron resultados con muy poca diferencia entre muestras, el valor promedio de todas las muestras fue: 92.78% de humedad, 1.28% de cenizas, 3.78 °Brix (sólidos solubles), pH de 6.78 y 0.07% de acidez titulable (ácido oxálico). Con respecto a la determinación microbiológica, se llegó a la conclusión de que todas las muestras presentaron parásitos y su grado de contaminación bacteriana sobrepasó los límites máximos permitidos (1.000 a 1'000.000 UFC/g). La única excepción fue el mercado América, que en cuanto a aerobios mesófilos presentó un nivel bacteriano aceptable (338.500 UFC/g), no obstante, en cuanto a parásitos dio positivo. La presencia de bacterias y quistes en este y otros estudios, sólo ayudan a corroborar que la contaminación por alimentos sigue siendo un problema de seguridad alimentaria ya que de por sí este vegetal es muy propenso a este tipo de contaminación por el lugar donde crece. Por otra parte, la presencia de plomo y cadmio (promedio general: 0.01 mg/kg Pb y <0.01 mg/kg Cd) en este estudio no fue significativa, por lo tanto, en ese aspecto, no existiría un mayor riesgo por acumulación de metales pesados en el organismo si se consumiera este vegetal. Concluyendo así que el berro expendido en el DMQ no es recomendable si se lo consume crudo, porque podría ocasionar trastornos gastrointestinales, si no se realiza una previa desinfección y si se lo ingiere con mucha frecuencia; mientras que la cocción del vegetal ayudaría a mermar el riesgo que conlleva.

## **Recomendaciones**

Se recomienda que los alimentos expendidos en los mercados sean inspeccionados de manera regular, sometiéndolos a análisis similares a los realizados en este estudio para estimar cuan contaminados pueden estar los alimentos que llegan a los hogares día a día. También se plantea realizar programas de capacitación para los comerciantes, donde se les concientice sobre los riesgos que conlleva la incorrecta manipulación de frutas y verduras, así como las medidas asépticas que deberían adoptar todos quienes estén involucrados en la producción y comercialización de alimentos para asegurar un producto de calidad al consumidor.

En cuanto al estudio del berro, se sugiere continuar con la siguiente fase que consiste en investigar el lugar de procedencia de todas las muestras de los mercados, así como buscar si existen cultivos en Ecuador que apliquen la agroecología en esta hortaliza, con el fin de que a las nuevas muestras se les realice los respectivos análisis y así se evalúe el grado de contaminación. También se sugiere averiguar si en los supermercados se expende ésta hortaliza y así evaluar su grado de contaminación ya que al estar en refrigeración se esperaría tener un alimento más seguro. De igual manera, se sugiere investigar a los enemigos naturales de esta hortaliza que son las babosas y caracoles, para identificar las especies de parásitos predominantes en el berro que se comercializa en Ecuador.

Adicionalmente, se propone evaluar la capacidad de bioacumulación y fitorremediación del berro en Ecuador puesto que en otros países se han realizado estudios que demuestran que esta planta es muy tolerante a ciertos metales pesados.

## Referencias

- AGC. (2011). *Agencia Gubernamental de Control de Buenos Aires*. Obtenido de <http://www.agcontrol.gob.ar/pdf/Que-son-las-ETA.pdf>
- AINIA. (2011). *AINIA Actualidad*. Obtenido de <http://actualidad.ainia.es/web/ainiaactualidad/calidad-y-seguridad-alimentaria/-/articulos/Tc11/content/metales-pesados-en-alimentos-como-se-analizan>
- ANMAT. (2011). *Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica*. Obtenido de [http://www.anmat.gov.ar/alimentos/codigoa/Capitulo\\_III.pdf](http://www.anmat.gov.ar/alimentos/codigoa/Capitulo_III.pdf)
- Barker, D. J. (7 de Diciembre de 2009). *University of Washington*. Recuperado el 24 de Febrero de 2016, de [https://depts.washington.edu/oldenlab/wordpress/wp-content/uploads/2013/03/Nasturtium-officinale\\_Barker.pdf](https://depts.washington.edu/oldenlab/wordpress/wp-content/uploads/2013/03/Nasturtium-officinale_Barker.pdf)
- Bejarano, N. V., & Carrillo, L. (2007). Frutas y Hortalizas. En L. Carrillo, M. C. Audisio, N. V. Bejarano, S. E. Gómez, E. Ancasi, & M. R. Benítez, *Manual de Microbiología de los Alimentos* (Primera ed., págs. 71-83). San Salvador de Jujuy: Asociación Cooperadora de la Facultad de Ciencias Agrarias.
- Buñay, N., & Peralta, F. (2015). *Determinación del recuento de aerobios mesófilos en leche cruda que ingresa a Industrias Lacto Ochoa- Fernández CIA. LTDA*. Tesis de pregrado, Universidad de Cuenca, Cuenca.
- Camacho, A., Giles, M., Ortigón, A., Palao, M., Serrano, B., & Velázquez, O. (2009). Cuenta en placa de bacterias. *Técnicas para el Análisis Microbiológico de*

*Alimentos, Segunda*. México: Facultad de Química, UNAM. Obtenido de Facultad de Química, UNAM. México.

Carrada-Bravo, T. (2007). Fasciola hepatica: Ciclo biológico y potencial biótico. *Revista México Patología Clínica*, 54(1), 21-27.

Cazamajor, P. (1988). La red de mercados y ferias de Quito. En L. Mckee, & S. Argüello, *Nuevas investigaciones antropológicas ecuatorianas*. Quito: Abya-Yala.

Chaidez, C. (2002). *Agua Latinoamérica*. Obtenido de <http://www.agualatinoamerica.com/docs/pdf/5-6-02quiroz.pdf>

Chavarrías, M. (2009). *EROSKI CONSUMER*. Obtenido de <http://www.consumer.es/seguridad-alimentaria/sociedad-y-consumo/2009/04/01/184364.php>

Chuquitarco, M. (2014). *Aplicación de aceites esenciales de orégano (Origanum vulgare) y tomillo (Thymus vulgaris) en cuatro tipos de hortalizas: col de repollo (Brassica oleracea var. capitata cv. bronco), col morada (Brassica oleracea var. capitata f. rubra), lechuga Iceberg t.* Tesis de pregrado, Universidad Técnica de Ambato, Ambato.

Consejo Metropolitano de Planificación. (2011). *EMASEO*. Obtenido de [http://www.emaseo.gob.ec/documentos/lotaip\\_2012/s/plan\\_de\\_desarrollo\\_2012\\_2014.pdf](http://www.emaseo.gob.ec/documentos/lotaip_2012/s/plan_de_desarrollo_2012_2014.pdf)

Cook, N., Nichols, R. A., Wilkinson, N., Paton, C. A., Barker, K., & Smith, H. V. (2007). Development of a Method for Detection of *Giardia duodenalis* Cysts on Lettuce and for Simultaneous Analysis of Salad Products for the Presence of *Giardia* Cysts and *Cryptosporidium* Oocysts. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(22), 7388-7391.

Costa, S. M., Montenegro, M. A., Arregui, T., Pinto, M. I., Nazareno, M. A., & Mishima, B. L. (2003). Caracterización de acelga fresca de Santiago del Estero (Argentina). Comparación del contenido de nutrientes en hoja y tallo. Evaluación de los carotenoides presentes. *Food Science and Technology (Campinas)*, 23(1), 33-37.

Decheco, A. (2010). *Guía de Laboratorio. Microbiología II. Práctica N° 8: Análisis microbiológico de hortalizas y frutas*. Obtenido de <http://es.scribd.com/doc/39929949/PRACTICA-8-ANALISIS-MICROBIOLOGICO-DE-HORTALIZAS-Y-FRUTAS>

Dreyfuss, G., Vignoles, P., & Rondelaud, D. (2005). *Fasciola hepatica*: epidemiological surveillance of natural watercress beds in central France. *Parasitology Research*, 95(4), 278-282.

Edid, M. (2012). *Nutrición Personalizada*. Obtenido de [https://nutricionpersonalizada.wordpress.com/2010/01/18/microorganismos\\_crecan/](https://nutricionpersonalizada.wordpress.com/2010/01/18/microorganismos_crecan/)

- Edmonds, C. (2001). *Microbiological & Heavy Metal Contamination of Watercress in the Wellington Region*. Diplomado, Victoria University of Wellington, Wellington.
- EFSA. (2013). *Food Safety International Network*. Obtenido de <http://www.safefoodnetwork.com/espanol/espanol/noticias/articulos/3189-metales-como-contaminantes-en-los-alimentos.html>
- Erkan, M. E., & Vural, A. (2008). Investigation of Microbial Quality of Some Leafy Green Vegetables. *Journal of Food Technology*, 6(6), 285-288.
- Fanutrición. (2009). *Fundación Argentina de Nutrición*. Obtenido de <http://www.fanutricion.org.ar/shop/detallenot.asp?notid=12>
- FAO. (2003). *Depósito de documentos de la FAO*.
- FAO. (2014). *CODEXSTAN 193-1995/ CL 2014/11-CF*. Obtenido de [ftp://ftp.fao.org/codex/Reports/Reports\\_2014/REP14\\_CFs.pdf](ftp://ftp.fao.org/codex/Reports/Reports_2014/REP14_CFs.pdf)
- Fernández, L., Rojas, N., Roldán, T., Ramirez, M., Zegarra, H., Uribe, R., . . . Arce, J. (2006). *Manual de técnicas de análisis de suelos aplicadas a la remediación de sitios contaminados* (Primera ed.). México: INECC. Obtenido de Análisis microbiológicos:  
<http://www2.inecc.gob.mx/publicaciones/libros/509/analisis2.pdf>
- Fernández, M. A. (2013). *Efecto de diferentes niveles de aireación de la solución nutritiva sobre el crecimiento y la calidad de canónigos y berros cultivados en*

*bandejas flotantes*. Tesis de pregrado, Universidad Politécnica de Cartagena, Cartagena.

Flores, E. (2004). *Desarrollo de una Bebida Funcional de Maracuyá (Passiflora edulis f. flavicarpa)*. Puebla: Universidad de las Américas Puebla.

García, E., & Fernández, I. (28 de Junio de 2012). Determinación de la humedad de un alimento por un método gravimétrico indirecto por desecación. Valencia, España: Universitat Politècnica de València.

Garrido, M., Veitia, S., de Armas, T., Collazo, O., Jiménez, J., Castro, D., . . . González, R. (2013). Procedimiento analítico para la determinación de metales pesados en zanahoria y espinaca cultivadas en organopónicos urbanos. *Ciencias Técnicas Agropecuarias*, 22(1), 20-26.

Gimferrer, N. (2010). *EROSKI CONSUMER*. Obtenido de <http://www.consumer.es/seguridad-alimentaria/ciencia-y-tecnologia/2010/05/03/192787.php>

Goldman, L., & Schafer, A. I. (2016). *Goldman-Cecil Medicine* (25 ed., Vol. I). Philadelphia, United States of America: Elsevier Saunders.

GPS Google Maps. (2016). *Coordenadas Geográficas en Google Maps*. Obtenido de <http://www.coordenadas-gps.com/>

Guinea Lynx. (2000-2016). Obtenido de Guinea Lynx: <http://www.guinealynx.info/charts.html>

- Haytowitz, D. B., & Matthews, R. H. (1984). *United States Department of Agriculture. Agricultural Research Service*. (N. M. Division, Editor) Obtenido de <http://www.ars.usda.gov/Main/docs.htm?docid=9444>
- In Food Quality. (2009). *Epralima*. Obtenido de [http://www.epralima.com/infoodquality/materiais\\_espanhol/Manuais/3.Microorganismos\\_y\\_alimentos.pdf](http://www.epralima.com/infoodquality/materiais_espanhol/Manuais/3.Microorganismos_y_alimentos.pdf)
- INCAP/OPS. (2012). *Tabla de Composición de Alimentos de Centroamérica* (Segunda ed.). (M. T. Menchú, & H. Méndez, Edits.) Guatemala: Serviprensa, S.A.
- INEC. (2012). *Instituto Nacional de Estadísticas y Censos*. Obtenido de [http://www.inec.gob.ec/estadisticas/SIN/co\\_agricola.php?id=01219.00.02](http://www.inec.gob.ec/estadisticas/SIN/co_agricola.php?id=01219.00.02)
- INEC. (3 de Mayo de 2013). *Instituto Nacional de Estadísticas y Censos*. Obtenido de <http://www.ecuadorencifras.gob.ec/inec-presenta-resultados-de-la-encuesta-de-ingresos-y-gastos/>
- INEN. (1994). *Instituto Ecuatoriano de Normalización*. Obtenido de <http://normaspdf.inen.gob.ec/pdf/nte/1750-C.pdf>
- Ísturiz, R. (1990). *Research Gate*. Obtenido de [https://www.researchgate.net/publication/48221253\\_Algunos\\_avances\\_sobre\\_la\\_deshidratacion\\_de\\_hojas\\_de\\_espinaca\\_de\\_Nueva\\_Zelanda\\_Tetragonia\\_expansa](https://www.researchgate.net/publication/48221253_Algunos_avances_sobre_la_deshidratacion_de_hojas_de_espinaca_de_Nueva_Zelanda_Tetragonia_expansa)
- Jimenez, D. (2012). *Cuantificación de Metales Pesados (Cadmio, Cromo, Níquel y Plomo) en Agua Superficial, Sedimentos y Organismos (Crassostrea*

*Columbiensis*) *Ostión de Mangle en el Puente Portete del Estero Salado (Guayaquil)*. Tesis de pregrado, Universidad de Guayaquil, Guayaquil.

Kara, Y. (2005). Bioaccumulation of Cu, Zn and Ni from the wastewater by treated *Nasturtium officinale*. *International Journal of Environment Science and Technology*, 2(1), 63-67.

Kendrick, T., & Drost, D. (2008). *Utah State University Extension*. Obtenido de [https://extension.usu.edu/files/publications/publication/HG\\_Garden\\_2008-03pr.pdf](https://extension.usu.edu/files/publications/publication/HG_Garden_2008-03pr.pdf)

Leyva, V., Martino, T., & Puig, Y. (2008). Control microbiológico de los alimentos. En Á. Caballero, *Tema de Higiene de los Alimentos* (págs. 20-28). La Habana: Ciencias Médicas.

Leyva, V., Martino, T., & Puig, Y. (2008). Factores que influyen en el crecimiento y supervivencia de los microorganismos. En Á. Caballero, *Temas de Higiene de los Alimentos* (págs. 43-54). La Habana: Ciencias Médicas.

Loza, M. (2012). *Scribd*. Obtenido de <http://es.scribd.com/doc/89234724/FRECUENCIA-DE-PARASITOS-EN-HORTALIZAS#scribd>

Maroto, J. V. (1992). *Horticultura herbácea especial*. Madrid, España: Ediciones Mundi-Prensa.

Márquez, J. (noviembre de 2013). *Desarrollo, optimización e integración de tecnologías sustentables a base de un biorreactor empacado de flujo ascendente y un*

*humedal artificial de flujo horizontal, sub-superficial para el tratamiento de agua contaminada con Cromo y Plomo.* Tesis doctoral, Universidad Autónoma de Nuevo León, San Nicolás de los Garza.

Matute, L., & Tirado, B. (2013). *Análisis bromatológico de Vasconcellea pulchra V.M. Badillo y Vasconcellea x heilbornii V.M. Badillo procedentes de la provincia Bolívar, Ecuador.* Tesis pegrado, Universidad Politécnica Salesiana, Quito. Obtenido de <http://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/6008/1/UPS-QT04153.pdf>

Mendiola, M. Á., & Montalbán, J. M. (2009). *Plantas aromáticas gastronómicas.* Madrid: Ediciones Mundi-Prensa.

Moragas, M., & De Pablo, M. B. (2015). *Osakidetza.* Obtenido de [http://www.osakidetza.euskadi.eus/contenidos/informacion/sanidad\\_alimentaria/es\\_1247/adjuntos/Normas%20microbiol%C3%B3gicas%20de%20los%20alimentos%20\(Enero%202014\).pdf](http://www.osakidetza.euskadi.eus/contenidos/informacion/sanidad_alimentaria/es_1247/adjuntos/Normas%20microbiol%C3%B3gicas%20de%20los%20alimentos%20(Enero%202014).pdf)

MSP. (2014). *Ministerio de Salud Pública.* Recuperado el 20 de Agosto de 2015, de <https://public.tableau.com/profile/vvicentee80#!/vizhome/ETAS-2014/ANUARIO>

Municipio del Distrito Metropolitano de Quito. (2013). *Evaluación presupuestaria del Distrito Metropolitano de la ciudad de Quito y su incidencia en el nivel de cumplimiento de sus metas propuestas del periodo 2013.* Quito, Pichincha, Ecuador.

- Muñoz, A., & Vega, J. (2014). *Determinación de Sólidos Solubles en alimentos*.  
Universidad Nacional del Santa, Chimbote.
- National Library of Medicine. (2015). *Tox Town*. (U. Bethesda, Editor, & NLM)  
Obtenido de <http://toxtown.nlm.nih.gov/espanol/chemicals.php?id=64>
- Nielsen, S. S. (2003). *Food Analysis* (Tercera ed.). Indiana, Estados Unidos: Kluwer  
Academic/Plenum Publishers.
- Núñez, A. M., Cárdenas, M., García, G., Hernández, J., Rodríguez, A., & Castillo, I.  
(2008). Determinación de metales pesados (aluminio, plomo, cadmio y níquel)  
en rábano (*Raphanus sativus* L.), brócoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*) y  
calabacín (*Cucurbita pepo* L. var. *italica*). *Universidad Autónoma de Nuevo León*  
(UANL), 1-8.
- Official Methods of Analysis of AOAC International. (2000). AOAC 925.10 (32.1.03).  
*II, 7*. (W. Horwitz, Ed.) Gaithersburg, MD, USA.
- Official Methods of Analysis of AOAC International. (2000). AOAC 932.12 (37.1.15).  
(W. Horwitz, Ed.) Gaithersburg, MD, USA.
- Official Methods of Analysis of AOAC International. (2000). AOAC 942.15 (37.1.37).  
(W. Horwitz, Ed.) Gaithersburg, MD, USA.
- Official Methods of Analysis of AOAC International. (2000). AOAC 923.03 (32.1.05).  
(W. Horwitz, Ed.) Gaithersburg, MD, USA.
- Official Methods of Analysis of AOAC International. (2002). AOAC 999.10 (9.1.08).  
USA.

- OMS. (1989). *World Health Organization*. (Ginebra, Ed.) Obtenido de [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/38173/1/9243542478\\_spa.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/38173/1/9243542478_spa.pdf)
- Orquera, A., & Sánchez, R. (2012). *Prevalencia de las enfermedades transmitidas por alimentos en la ciudad de Cuenca en los años 2009 al 2011*. Tesis de pregrado, Universidad del Azuay, Cuenca, Ecuador. Obtenido de <http://dspace.uazuay.edu.ec/handle/datos/1374>
- Osorio, F., & Torres, J. C. (2011). *Tratamiento de aguas para la eliminación de microorganismos y agentes contaminantes: Aplicación de procesos industriales a la reutilización de aguas residuales*. Madrid, España: Ediciones Díaz de Santos.
- Padilla, M. (2003). *Evaluación del potencial nutritivo y nutracéutico de galletas elaboradas con berro (*Nasturtium officinale*) deshidratado como colorante y saborizante*. Tesis de pregrado, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba.
- Patiño, C., & Ocampo, J. (2014). *Diseño y Construcción de un equipo reductor de tamaño de Berro, Espinaca y Zanahoria*. Tesis de pregrado, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba.
- Phillips, N., Stewart, M., Olsen, G., Hickey, C., Hamilton, N., & Associates, G. T.–T. (2011). *Risk assessment of contaminants in kai from the Arowhenua rohe – Summary report*. Nueva Zelanda: NIWA.

- POMIF. (2012). *Prácticas Online de Microbiología para Farmacéuticos*. Obtenido de Universidad de Granada: [http://www.pomif.com/pages/microbiologiaalimentos/imagenes-201213/t1005alimtosvegetales/!](http://www.pomif.com/pages/microbiologiaalimentos/imagenes-201213/t1005alimtosvegetales/)
- Prieto, M. C. (2011). *Determinación de metales pesados en hortalizas distribuidas en plazas de mercado, centros de abasto e hipermecados de la ciudad de Bogotá D.C.* Tesis de pregrado, Universidad para la Cooperación Internacional, San José, Costa Rica.
- Quito Alcaldía. (2016). *Servicios Ciudadanos*. Obtenido de Municipio del Distrito Metropolitano de Quito: <https://pam.quito.gob.ec/SitePages/Inicio.aspx>
- Ramírez, M., & Williams, D. (2003). *Guía Agro-Culinaria de Cotacachi, Ecuador y Alrededores*. Cali: IPGRI-Américas.
- Ramos, H. (2006). *Estudio de Mercado del Berro (Nasturtium Officinale R. Br. in Ait. Hort. kew) en el Municipio de Antigua Guatemala, Sacatepéquez*. Tesis de pregrado, Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.
- Reams, C. (2015). *High Brix Gardens*. Obtenido de <http://highbrixgardens.com/>
- Rubiano, C. (2006). *Aislamiento y caracterización de microorganismos termofílicos anaerobios lipolíticos, proteolíticos y amilolíticos de manantiales termominerales de Paipa e Iza (Boyacá)*. Tesis de pregrado, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá.

- Sadzawka, A., Carrasco, M. A., Demanet, R., Flores, H., Grez, R. M., & Neaman, A. (2007). *Métodos de análisis de tejidos vegetales* (Segunda ed.). Santiago, Chile: Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Serie Actas INIA N° 40.
- SCAI. (2011). *Servicios Centrales de Apoyo a la Investigación: Unidad de Espectrometría Atómica*. Obtenido de <http://www.scai.uma.es/servicios/aqcm/eat/eat.html>
- Secretaría de Salud de México. (2016). *Salud*. Obtenido de <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/117ssa14.html>
- Sena, A., Nogueira, R., de Carvalho, E., Ferreira, R., Brassea, T., Zabeu, M., . . . Lara, C. (2010). Análisis comparativo de los métodos para la detección de parásitos en las hortalizas para el consumo humano. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 62(1), 24-34. Obtenido de [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0375-07602010000100004&lng=es&nrm=iso](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0375-07602010000100004&lng=es&nrm=iso). ISSN 1561-3054
- Smith, E. N. (2007). *Watercress (Nasturtium officinale) Production Utilizing Brook Trout (Salvelinus fontinalis) Flow-through Aquaculture Effluent*. Tesis de maestría, Davis College of Agriculture, Forestry, and Consumer Sciences at West Virginia University, Morgantown, West Virginia.
- Unibarren, T. (2014). *Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina*. Recuperado el 15 de diciembre de 2015, de UNAM: <http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/parasitologia/fasciolosis.html>

UPNA. (2008). *Universidad Pública de Navarra*. Obtenido de <http://www.unavarra.es/genmic/curso%20microbiologia%20general/001-introduccion%20micro%20alimentos%202.htm>

Vélez, A., & Ortega, J. (2013). *Determinación de coliformes totales y E. coli en muestras de lechuga expandidas en cuatro mercados de la ciudad de Cuenca*. Tesis de pregrado, Universidad de Cuenca, Cuenca.

Vílchez, H. (2008). *Evaluación Económica de Berros (Nasturtium officinale) Hidropónicos a través del estudio de casos de productores de la Región Metropolitana*. Universidad de Talca, Talca.

Villacís, D. (25 de Agosto de 2014). *El Comercio*. Obtenido de <http://www.elcomercio.com/tendencias/melloco-berro-amaranto-alimentos-ancestrales.html>

## Anexo

Caracterización fisicoquímica del berro de cada mercado estudiado del DMQ

<b>MERCADO</b>	<b>HUMEDAD (%)</b>	<b>CENIZAS (%)</b>	<b>SÓLIDOS SOLUBLES (°Brix)</b>	<b>pH</b>	<b>ACIDEZ TITULABLE (Ácido oxálico)</b>
Cumbayá	92.48	1.10	3.67	7.04	0.06
Tumbaco	93.43	1.19	3.03	6.50	0.06
Puembo	93.44	1.13	3.00	6.78	0.07
América	91.84	1.54	3.50	7.53	0.08
Central	91.54	1.51	3.93	6.37	0.06
San Roque	92.57	1.23	4.33	6.23	0.06
El Calzado	91.30	1.23	3.73	7.25	0.04
Mayorista	94.30	1.24	3.17	7.23	0.06
Solanda	93.06	1.04	3.77	6.45	0.06
La Magdalena	94.02	1.08	3.83	6.66	0.06
Chiriyacu	93.02	1.21	3.33	6.38	0.06
San Bartolo	91.60	1.46	5.00	6.79	0.07
Yaruquí	92.32	1.38	3.90	6.61	0.07
Quinche	93.45	1.37	4.00	6.62	0.07
La Ecuatoriana	93.31	1.57	3.33	6.07	0.06
Las Cuadras	92.66	1.32	3.70	6.71	0.08
Ciudadela Ibarra	91.78	1.23	3.83	7.23	0.07
Conocoto	93.05	1.05	4.67	6.36	0.08
Alangasí	92.07	1.22	3.77	6.30	0.09
Amaguaña	92.20	1.20	3.33	6.78	0.06
Comité del Pueblo	93.67	1.58	5.00	6.55	0.07
Cotocollao	93.88	1.14	3.20	6.53	0.09
Calderón	92.78	1.09	4.33	6.74	0.05
Carapungo	92.98	1.07	3.33	7.02	0.09
Llano Grande	92.88	1.29	4.50	6.68	0.05
La Kennedy	92.93	1.18	4.57	6.31	0.05
Iñaquito	93.01	1.35	3.67	7.38	0.07
Santa Clara	92.94	1.20	3.17	6.11	0.07
San Antonio de Pichincha	91.57	2.08	3.50	6.58	0.09
Pomasqui	93.29	1.16	3.27	6.75	0.08

Nota: Elaborado por Cabascango S. (2016)