



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO.
FACULTAD DE CIENCIAS AGRÍCOLAS.

“Calidad sanitaria de jugos elaborados a base de naranja (*Citrus sinensis* L) en los principales mercados de la localidad de Toluca.”

TESIS
QUE COMO REQUISITO PARA OBTENER EL TITULO DE
INGENIERO AGRONOMO INDUSTRIAL
GENERACION 39

PRESENTA:

LUIS DANIEL CARBAJAL ROMERO

Modalidad: Tesis Individual

Asesores:

DRA. ANA TARIN GUTIÉRREZ IBÁÑEZ

DRA. ROSA LAURA OCAÑA DE JESÚS



Campus Universitario El Cerrillo Piedras Blancas, Junio 2018.
Toluca, Edo. De México.

DEDICATORIA

Esta tesis se la dedico a mis padres Arturo Carbajal Meneses, Ofelia Romero Mireles por haberme brindado su apoyo durante toda mi formación y por qué han sido un ejemplo a seguir y que nada es imposible cuando se pone esfuerzo, dedicación y pasión por realizar cualquier idea.

A mis hermanos Enrique y Montserrat por su apoyo y amor, pero sobre todo por formar parte importante de mi vida agradezco que sigan a mi lado y que sepan que siempre los cuidare y que tendrán mi apoyo incondicionalmente.

A mis asesores de tesis la Dra. Ana Tarín Gutiérrez Ibáñez y a la Dra. Rosa Laura Ocaña de Jesús, gracias por su orientación y apoyo a la realización de este proyecto, pero ante todo por su valiosa amistad que me brindaron.

A una persona muy especial para mí que sin hacer mención de su nombre sabes que hablo de ti, te agradezco infinitamente por tu amistad por la ayuda y disposición que tuviste conmigo cuando más lo necesite pues aportaste considerablemente en mi proyecto y en mi vida personal.

AGRADECIMIENTOS

A mi alma Mater Universidad Autónoma del Estado de México, por darme la oportunidad de formarme íntegramente en sus aulas.

A mis padres por sus sacrificios y esfuerzos constantes, porque a través de sus consejos logre formar un camino, por guiarme y alentarme ante los obstáculos que se nos presentaron para lograr el éxito de mi superación como profesional.

A mis mejores y grandes amigos Alma Fabiola Araujo, Enrique Archundia, Rossy Ocaña, Tania Ambriz, Vladimir Benítez y Diego Girón, gracias por el aporte de sus conocimientos, por haberme brindado su amistad y a cada una de las personas que creyeron en mí.

A mis asesoras la Dra. Adriana Carvajal Villanueva y la Dra. Luz Raquel Bernal quienes dedicaron parte de su tiempo y gran aporte de su conocimiento en la estructuración de mi proyecto, les agradezco infinitamente por su amistad y como excelentes profesoras durante mi formación profesional.

ÍNDICE

DEDICATORIA.....	ii
AGRADECIMIENTOS.....	iii
ÍNDICE.....	iv
ÍNDICE DE CUADROS.....	vii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	viii
RESUMEN.....	ix
ABSTRACT.....	x
I. INTRODUCCIÓN	1
II. OBJETIVOS.....	3
2.1.1 Objetivo general	3
2.1.2 Objetivos específicos	3
III. HIPÓTESIS.....	3
IV. JUSTIFICACIÓN	4
V. REVISION DE LITERATURA.....	5
5.1. El cultivo de naranja.....	5
5. 1.1. Clasificación taxonómica.....	5
5.1.2. Generalidades del cultivo.....	6
5.1.3 Producción internacional.....	7

5.1.4 Producción nacional	8
5.1.5 Formas de consumo de naranja	9
5.2 Inocuidad alimentaria.....	10
5.2.1 Peligro	11
5.2.2 Peligros biológicos	11
5.2.3 Peligros químicos	12
5.2.4 Peligros físicos	12
5.2.5 Calidad sanitaria.....	13
5.3 Microorganismos indicadores de calidad e higiene en los alimentos	13
5.3.1 Mesófilos aerobios	14
5.3.2 Coliformes totales	15
5.3.3 Coliformes fecales.....	15
5.3.4 Mohos y levaduras	16
5.4 Métodos más utilizados para el análisis microbiológico de los alimentos.....	16
5.4.1 Recuento en placa	16
5.4.2 Método del número más probable.....	17
5.4.3 Recuento microscópico directo	17
5.4.4 Método de identificación de enteropatógenos.....	17
5.4.5 Métodos basados en pruebas bioquímicas	18
5.4.6 Métodos basados en tinción diferencial	18
5.5 Calidad e inocuidad de los jugos de frutas frescas.....	19

5.6 Sistemas de calidad	19
5.6.1 Buenas Prácticas Agrícolas (BPA).....	20
5.6.2 Buenas Prácticas de Manufactura (BPM)	20
5.6.3 Sistema de Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control (HACCP).....	21
5.6.4 Sistema de Reducción de Riesgos de Contaminación (SRRC).....	21
VI. MATERIALES Y METODOS	21
6.1 Tamaño de muestra	22
6.2 Toma de muestra	22
6.3 Preparación de las muestras para el análisis microbiológico	22
6.4 Siembra y determinación de bacterias mesófilas aerobias	23
6.5 Siembra y determinación de coliformes totales y fecales	24
6.5.1 Pruebas bioquímicas.....	24
6.5.2 Pruebas bioquímicas complementarias.....	25
VII. DISEÑO EXPERIMENTAL	25
VIII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	26
IX. CONCLUSIONES	36
X. RECOMENDACIONES	37
XI. BIBLIOGRAFIA CITADA	38

INDICE DE CUADROS

	Pág.
Cuadro 1. Volumen de la producción de naranja, de las principales entidades productoras.....	9
Cuadro 2. Enfermedades transmitidas por alimentos.....	11
Cuadro 3. Promedios de pH y recuentos de microorganismos en jugos de naranja.....	26
Cuadro 4. Análisis de varianza (ANDEVA) para cada tipo de microorganismo de los mercados muestreados.....	27
Cuadro 5. Pruebas Bioquímicas utilizadas para la identificación de Enterobacterias <i>reactividad</i> IMViC.....	34

INDICE DE FIGURAS

Pág.

Figura 1. Fruto del naranjo.....	7
Figura 2. Principales países importadores y exportadores de naranja mexicana.....	8
Figura 3. Incubación de mesófilos aerobios en agar cuenta estándar.....	23
Figura 4. Incubación de coliformes totales y fecales en agar Rojo Bilis Violeta.....	24
Figura 5. Índices de mesófilos aerobios en jugos a base de naranja.....	29
Figura 6. Crecimiento de mesófilos aerobios en muestras de jugos a base de naranja...	30
Figura 7. Indices de coliformes fecales en jugos a base de naranja.....	31
Figura 8. Crecimiento de coliformes totales en muestras de jugos a base de naranja.....	32
Figura 9. Indices de coliformes fecales en jugos a base de naranja.....	33
Figura 10. Crecimiento de coliformes totales en muestras de jugos a base de naranja...	33
Figura 11. Bacterias Gram negativas de las colonias identificadas.....	34
Figura 12. a) Crecimiento de <i>E. coli</i> , verdosas con brillo metálico b) <i>salmonella typhimurium</i> , transparentes sobre fondo rojo c) <i>E. coli</i> positiva producción de lactosa...	34
Figura 13. Resultados de las pruebas bioquímicas en medio (SIM) a) blancos b) <i>Salmonella</i> c) <i>E. coli</i>	36

CALIDAD SANITARIA DE JUGOS ELABORADOS A BASE DE NARANJA (*Citrus sinensis* L) EN LOS PRINCIPALES MERCADOS DE LA LOCALIDAD DE TOLUCA.

Luis Daniel Carbajal Romero. Ingeniero Agrónomo Industrial.
Universidad Autónoma del Estado de México. Facultad de Ciencias Agrícolas.

Asesores: Dra. Ana Tarín Gutiérrez Ibáñez. Dra. Rosa Laura Ocaña de Jesús.

Universidad Autónoma del Estado de México. Facultad de Ciencias Agrícolas.
Campus El Cerillo Piedra Blancas, Toluca, Estado de México
Código Postal 50200. Tel. (Fax) 29 65 529 ext. 192.
luisdan-18@hotmail.com, atarini@uaemex.mx, rossylau_hugobesh@hotmail.com

RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue determinar la calidad sanitaria de jugo a base de naranja en los principales mercados de la localidad de Toluca, mediante la identificación de mesófilos aerobios, coliformes totales y coliformes fecales, así como los posibles riesgos que puedan provocar enfermedades al consumidor y poder aplicar estrategias preventivas antes de su consumo.

Para la determinación de microorganismos indicadores presentes en las muestras se utilizaron las metodologías señaladas por las Normas Oficiales Mexicanas NOM-092-SSA1-1994, NOM-109-SSA1-1994, NOM-110-SSA1-1994 Y NOM-113-SSA1-1994.

Los resultados obtenidos de las muestras indicaron la presencia de microorganismos capaces de afectar la calidad del producto. Los recuentos de mesófilos aerobios no sobrepasaron los límites permitidos por la NOM-093-SSA1-1994, mientras que para coliformes totales y coliformes fecales en los jugos a base de naranja se determinó el grado de contaminación de dichas variables y que está por encima de los límites máximos

permitidos, al encontrar la presencia de estos microorganismos nos indica el grado de contaminación por materia fecal y la mala aplicación de prácticas de higiene por parte de los vendedores como la falta de limpieza de utensilios, cuchillos, trapos, exprimidores lo que presenta una deficiente o mala calidad sanitaria en jugos a base de naranja y su consumo, puede producir enfermedades.

Palabras clave: Jugos, coliformes totales, coliformes fecales y mesófilos aerobios.

HEALTH QUALITY OF ORANGE-BASED JUICES (*Citrus sinensis* L) IN THE MAIN MARKETS OF THE LOCALITY OF TOLUCA.

Luis Daniel Carbajal Romero. Industrial Agronomical Engineer.
Autonomous Mexico State University. Faculty of Agricultural Science.

Advisers: Dr. Ana Tarín Gutiérrez Ibáñez. Dr. Rosa Laura Ocaña de Jesús.

Autonomous Mexico State University. Faculty of Agricultural Sciences.
Campus El Cerillo Piedra Blancas, Toluca, State of Mexico
Postal Code 50200. Tel. (Fax) 29 65 529 ext. 192
luisdan-18@hotmail.com, atarini@uaemex.mx, rossylau_hugobesh@hotmail.com

ABSTRACT

The objective of this research was to determine the sanitary quality of orange-based juice in the main markets of the town of Toluca, by identifying aerobic mesophiles, total coliforms and fecal coliforms, as well as the possible risks that may cause diseases to the consumer and be able to apply preventive strategies before consumption.

For the determination of indicative microorganisms present in samples, the methodologies indicated by the Official Mexican Standards NOM-092-SSA1-1994, NOM-109-SSA1-1994, NOM-110-SSA1-1994 and NOM-113-SSA1.

The results obtained from samples indicated the presence of microorganisms capable of affecting the quality of the product. The aerobic mesophile counts did not exceed the limits allowed by NOM-093-SSA1-1994, while for total coliforms and fecal coliforms in orange-based juices, the degree of contamination of these variables was determined and is above the maximum limits allowed, while finding the presence of these microorganisms indicates

the degree of contamination by fecal matter and the poor application of hygiene practices by sellers such as the lack of clean utensils, knives, squeezing rags which presents a deficient or poor sanitary quality in orange based juice on and its consumption, can produce diseases.

Key words: Juices, total coliforms, fecal coliforms and aerobic mesophiles.

I. INTRODUCCIÓN

Las Enfermedades Transmitidas por los Alimentos (ETA) constituyen un problema de salud pública a nivel mundial, la mayoría de las cuales son de origen microbiano donde los alimentos y el agua contaminada son las fuentes de transmisión. Las poblaciones más susceptibles son los ancianos, niños y pacientes inmunocomprometidos, debido a que su sistema inmune se encuentra bajo defensas (Lund & Brien, 2011).

La contaminación de las frutas y hortalizas por patógenos de humanos puede ocurrir en cualquier parte de la cadena productiva: producción, cosecha, postcosecha, almacenamiento, procesamiento, distribución y/o preparación. Específicamente existen reportes de contaminación de productos hortofrutícolas por la presencia de Coliformes Fecales (CF), ejemplo de ello son bebidas sin pasteurizar preparadas con productos naturales a base de frutas y verduras (Castillo y Gómez, 2006). Los alimentos pueden contaminarse con diferentes tipos de agentes que pueden alterar sus características y dependiendo estos se distingue la contaminación física, química y biológica (Eley, 1994). En la actualidad la sociedad se ha visto en la necesidad de tomar los servicios de alimentación fuera del hogar, acudiendo a restaurantes y puestos callejeros de ventas de alimentos, donde se ingieren diferentes productos, sin que se guarden los elementales cuidados y procedimientos que se deben tener para la elaboración, la preparación, el consumo y la distribución (Bayona, 2009).

En México, existen diversos expendios comerciales que ofrecen jugos elaborados a base de naranja listos para consumirse; las cuales se someten a un lavado con agua corriente, el jugo obtenido no se lleva a ningún proceso de pasteurización por lo que el consumo de

estos jugos comerciales pudieran representar un riesgo potencial a la salud del consumidor (Sapers, 2006).

Los jugos tienen un alto contenido en glúcidos, vitaminas y sales minerales es por ello que representan un sustrato óptimo para la colonización de diversos microorganismos, por tal motivo la sanidad juega un papel importante durante la elaboración del jugo, la alteración que se pueda presentar normalmente se puede eliminar mediante una adecuada aplicación del sistema de control desde la materia prima hasta el producto final (Sapers, 2006).

Se ha planteado que los problemas de contaminación en los jugos son generados por diversos factores entre los cuales destacan: causas mecánicas (preparación y conservación del jugo), deterioros físicos causados por el manejo inadecuado de las naranjas y la falta de limpieza de los utensilios utilizados durante el proceso. El almacenamiento y la transportación son dos factores que si no se efectúan adecuadamente pueden favorecer la contaminación bacteriana del producto (Fernández, 2000). Actualmente ningún proceso de lavado y desinfección es 100% efectivo para remover a los patógenos que pudieran venir adheridos a la superficie de los productos hortofrutícolas frescos (Sapers, 2006).

Por tal motivo, el objetivo de la presente investigación fue evaluar la calidad sanitaria de jugos elaborados a base de naranja (*Citrus sinensis* L.) en los principales mercados de la localidad de Toluca.

II. OBJETIVOS

2.1.1 Objetivo general

Evaluar la calidad sanitaria de jugos elaborados a base de naranja (*Citrus sinensis* L) en los principales mercados de la localidad de Toluca.

2.1.2 Objetivos específicos

Para cumplir con el objetivo general se establecieron los siguientes objetivos específicos.

- ❖ Cuantificar las UFC/ mL de mesófilos aerobios, coliformes totales y fecales presentes en jugos elaborados a base de naranja.
- ❖ Relacionar si el factor pH es una limitante para el crecimiento de microorganismos presentes.
- ❖ Identificar presuntivamente los microorganismos presentes por medio de una caracterización fenotípica y pruebas bioquímicas.
- ❖ Determinar la calidad sanitaria del jugo de naranja basándose en Normas Oficiales Mexicanas.

III. HIPÓTESIS

Los jugos elaborados a base de naranja (*Citrus sinensis* L.) de los principales mercados de la localidad de Toluca, son de buena calidad sanitaria.

IV. JUSTIFICACIÓN

La naranja nos proporciona vitaminas necesarias para la salud, fortalece las defensas generales de nuestro organismo, mejora la cicatrización de heridas, alivia las encías sangrantes, es excelente para combatir problemas circulatorios, y su consumo resulta realmente positivo para los diabéticos tipo 1, ya que el consumo de una naranja previene una hipoglucemia (Neto, 1999).

Además, se atribuye al consumo de zumos de naranja la reducción de cánceres de estómago en los últimos años en este país. Su aporte calórico apenas se aprecia, una pieza de naranja contiene tan sólo 70 calorías, y su consumo facilita la metabolización de las grasas y reduce los niveles de colesterol (Arena y Sánchez, 1999).

En México, el estado de Veracruz es uno de los principales productores de naranja, este fruto es consumido en fresco y en forma de zumo. Es indispensable que esté libre de cualquier contaminante físico, químico y biológico que pueda afectar la salud del consumidor, por tal motivo la importancia de esta investigación radicó en determinar la calidad sanitaria con base en la cuantificación de microorganismos indicadores de higiene (mesófilos aerobios, coliformes totales, coliformes fecales y la determinación presuntiva de bacterias enteropatógenas) de los jugos comercializados en los principales mercados de la ciudad de Toluca. Estos fueron comparados con los Límites Máximos Permisibles establecidos por la Norma Oficial Mexicana NOM-093-SSA1-1994.

V. REVISION DE LITERATURA

5.1. El cultivo de naranja

El cultivo del naranjo es procedente de la India y fue introducido en Europa por los portugueses a principios del siglo XVI, en 1518 el soldado Bernal Díaz del Castillo en la segunda expedición enviada por Diego Velázquez desde Cuba a las costas de Yucatán, sembró unas semillas de naranja cerca del río Tonalá (río del sureste de México), desde entonces han sufrido numerosas modificaciones debida a la selección natural y a hibridaciones naturales como producidas por el hombre. Es una especie valorada para su consumo en crudo debido a las cualidades de su fruto que son de sabor dulce muy agradable, se pueden consumir como fruta fresca y en forma de zumo (de Ugarriza, 2009).

5. 1.1. Clasificación taxonómica

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Sapindale

Familia: Rutaceae.

Género: *Citrus*

Especie: *sinensis*

Nombre científico: *Citrus sinensis* L

(NCBI, 2017)

5.1.2. Generalidades del cultivo

La naranja es una especie subtropical que no presenta resistencia al frío, ya que tanto las flores como los frutos no toleran dichas condiciones, necesita temperaturas cálidas durante el verano para la correcta maduración de los frutos, es una especie ávida de luz para los procesos de floración y fructificación, preferentemente en la parte exterior de la copa y faldas del árbol. Por lo tanto, la fructificación se produce en copa hueca, lo cual constituye un inconveniente a la hora de la poda. En cuanto a suelos los prefiere arenosos o franco-arenosos, profundos, frescos y sin caliza, con pH comprendido entre 6.0 y 7.0 no tolera la salinidad, aunque la utilización de patrones supone una solución a este problema (Anónimo, 2017).

Los árboles pequeños presentan hojas unifoliadas, pecíolos con pequeñas alas y articulados con la vaina de la hoja; las flores son de color blanca, simples y ubicadas en las axilas de las hojas, ovario generalmente de 10 a 14 partes; el fruto es una baya (hesperidio), las semillas pueden ser monoembrionicas y poliembrionicas; la raíz es pivotante con muchas raíces secundarias. Los frutos del naranjo se denominan comúnmente como naranjas, son esféricos, miden alrededor de 8 centímetros de diámetro y son de color anaranjado. Poseen una cáscara gruesa, de aproximadamente medio centímetro de grosor y en su interior, están segmentados en gajos (Figura 1) (Gutiérrez, 2014).



a)



b)

Figura 1. Fruto del naranjo, a) y b) (Gutiérrez, 2014).

5.1.3 Producción internacional

La naranja es principalmente producida en Brasil (16, 928,457 ton), Estados Unidos (12, 401,000 ton), China (7, 469,840 ton) e India (6, 426,200 ton). La cosecha mundial de naranja alcanza anualmente 68.925 millones de ton y México es el 5° productor mundial de este cultivo (SAGARPA, 2016).

Holanda, Francia, Alemania, Federación de Rusia, Hong Kong, son potenciales compradores de naranja mexicana; cada uno realiza compras al exterior con más de 250 ton anuales (Figura 2).

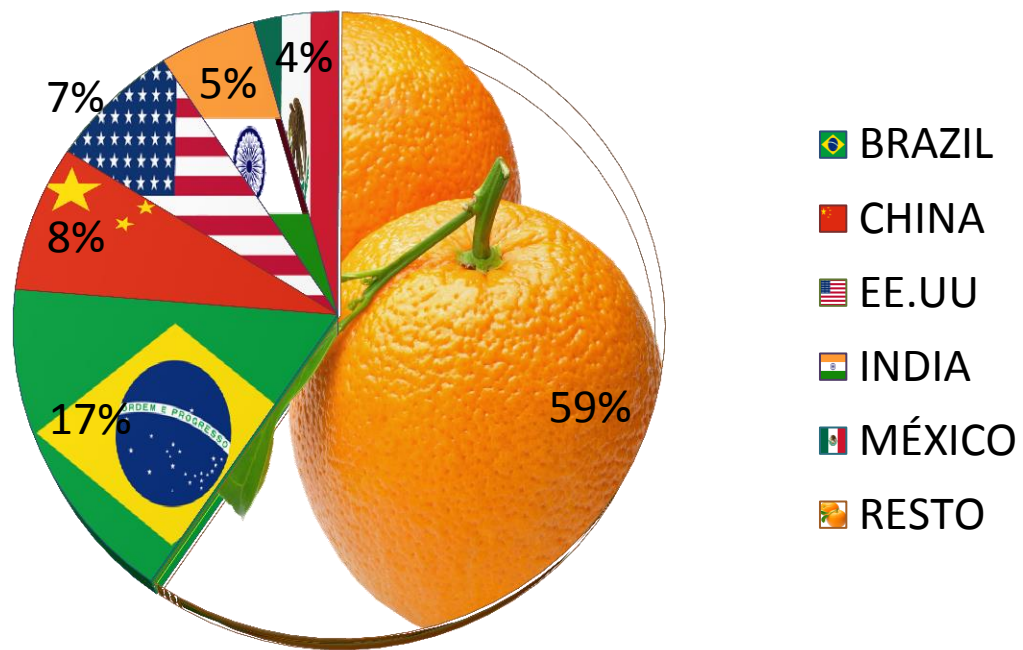


Figura 2. Principales países importadores y exportadores de naranja.

(SAGARPA, 2016).

5.1.4 Producción nacional

Las principales entidades productoras de este cítrico son Veracruz, quien aporta el 44.5 % del volumen nacional; Tamaulipas, 14.6 %, y San Luis Potosí, 8.8 %, Estados que conjuntan el 67.9 % del total cosechado en el país, también se produce en los Estados de Nuevo León, Puebla, Yucatán, Sonora, Tabasco, Hidalgo y Oaxaca, entre otros (SIAP, SAGARPA, 2016) (Cuadro 1).

Cuadro 1. Volumen de la producción de naranja, de las principales entidades productoras.

Rango	Entidad federativa	Volumen (toneladas)
1	Veracruz	2,368,501
2	Tamaulipas	689,961
3	San Luis Potosí	346,970
4	Nuevo León	328,503
5	Puebla	232,643
6	Sonora	153,499
7	Yucatán	139,584
8	Tabasco	82,199
9	Hidalgo	56,050
10	Oaxaca	55,090
	Resto	150,253
	Total nacional	4,603,253

(SIAP, SAGARPA, 2016).

5.1.5 Formas de consumo de naranja

Las naranjas se consumen, en su mayoría, como fruta fresca o en zumos. Sin embargo, las propiedades nutricionales, la cantidad de alimento que se ingiere y, por tanto, los azúcares, las calorías y la saciedad, son distintos según se consuma una vez peladas como fruta de mesa, cortadas y con azúcar de postre, mermeladas, cócteles, pasteles o zumos de naranja que son de fácil digestión y ricos en sustancias nutritivas (Neto, 1999).

5.2 Inocuidad alimentaria

La inocuidad alimentaria implica la ausencia de contaminantes, adulterantes, toxinas y cualquier otra sustancia que pueda hacer nocivo al alimento para la salud (FAO, 1999).

La higiene en los alimentos está orientada por consiguiente a reducir al mínimo la contaminación, los cuales puedan producir un peligro para la salud (Jhons, 2008).

Las enfermedades gastrointestinales son una de las principales causas de fallecimientos en el mundo, en México es considerada la segunda causa de morbilidad por ello se considera como un problema de salud pública, que afecta a personas de cualquier edad y condición social, aunque los grupos más vulnerables son los niños y ancianos (Lund y O'Brien, 2011). Los productos cuyo consumo es en fresco han pasado a ser fuentes importantes de enfermedades transmitidas por alimentos y se han documentado brotes relacionados con el consumo de estos (Matus y Ruiz, 2015).

En México en el año 2011, se reportaron 4,556 decesos causados por infecciones intestinales, dichas enfermedades son ocasionadas por bacterias y parásitos ocupando la decimocuarta causa de fallecimientos a nivel nacional, los estados con mayor incidencia son: Chiapas, Oaxaca, Guanajuato, Veracruz, Puebla y el Distrito Federal; tan solo en el 2008, el Seguro Social brindó 2,000,188 consultas asociadas con enfermedades gastrointestinales (Hernández *et al.*, 2011) (Cuadro 2).

Las enfermedades transmitidas por alimentos afectan a casi 600 millones de personas en el mundo, de estos 220 millones son menores de 5 años, de los cuales mueren 96 mil por esta causa (Matus y Ruíz, 2015).

Cuadro 2. Enfermedades transmitidas por alimentos

Padecimiento	Casos
Amebiasis intestinal	219,977
Salmonelosis	77,556
Ascariasis	42,668
Fiebre tifoidea	36,385
Giardiasis	10,767
Enterobiasis	8,999
Hepatitis virica A	7,728
Shigelosis	3,673
Brucelosis	2,402
Enteritis por rotovirus	1,234
Triquinosis	8
Cólera	0

(Matus y Ruíz, 2015).

5.2.1 Peligro

Un peligro es una propiedad biológica, química o física que puede determinar que el alimento deje de ser inocuo (OPS-OMS, 2013). Estos se clasifican según su origen y a continuación se mencionan:

5.2.2 Peligros biológicos

Son aquellos causados por microorganismos patógenos, bacterias, virus y parásitos que pueden ocasionar enfermedades a los humanos (OIRSA-VIFINEX, 2002). Algunos de estos asociados al consumo de frutas y hortalizas mínimamente procesadas entre ellos se encuentran *Salmonella* spp., *Shigella* spp., cepas patógenas de *Escherichia coli*, *Listeria*

monocytogenes, virus análogos al de Norwalk, virus de la Hepatitis A y parásito tal como *Ciclospora* (OMS-FAO, 2007).

5.2.3 Peligros químicos

Un peligro químico se considera como la posibilidad de que el producto alimenticio se contamine con cualquier compuesto o elemento químico durante cualquier etapa de la cadena productiva y que al entrar al organismo ya sea ingerido, inhalado o por vía cutánea, sea un peligro para la salud. Se consideran peligros químicos los metales pesados como plomo, arsénico, mercurio y cadmio que se pueden encontrar en los terrenos de cultivo y el agua; así como sanitizantes y agentes de limpieza utilizados en el proceso productivo y preparación; aceites y lubricantes utilizados en la máquina o equipo de cosecha y empaque; plaguicidas, antibióticos y hormonas aplicadas a los cultivos (SAGARPA, 2016).

5.2.4 Peligros físicos

Los peligros físicos son materiales extraños al alimento, como astillas de vidrio, grapas, pedazos de madera, piedras, tornillos, entre otros; que de alguna forma pueden llegar al producto (llevados por los trabajadores, provenientes del equipo o del material de empaque) (OIRSA, 2002).

5.2.5 Calidad sanitaria

La calidad sanitaria, es una de las cualidades exigidas a los procesos de manufactura alimentaria, debido a que el destino final de los productos es la alimentación humana y los alimentos son susceptibles en todo momento de sufrir cualquier forma de contaminación. Es imprescindible que los alimentos no sean considerados un riesgo para la salud del consumidor, esto es, que no posean vestigios de antibióticos, hormonas, pesticidas, contaminantes, entre otros (Anónimo, 2014).

La calidad de los jugos a base de frutas no sólo depende del valor nutricional, sino también de sus propiedades físicas, químicas y microbiológicas, las cuales se ven afectadas durante las operaciones de procesamiento, alterando su integridad física y haciéndose más percederas que la materia prima original, disminuyendo su resistencia a la contaminación microbiana y afectando sus características organolépticas (Corbo *et al.*, 2005).

5.3 Microorganismos indicadores de calidad e higiene en los alimentos

La calidad microbiológica de los alimentos es fundamental porque influye en su conservación y vida de anaquel, sobre todo, porque los microorganismos presentes en ellos pueden ser causantes de enfermedades transmitidas por alimentos o ETA en inglés se denominan “foodborne illnesses” (Pierson y Smoot, 2001).

La detección en el laboratorio de los microorganismos patógenos puede ser muy complicada, muy lenta y/o muy costosa para determinaciones rutinarias. Además, es concluyente cuando se encuentra un microorganismo patógeno, pero puede haber casos en que no se detecte por razones circunstanciales como el clima o la cantidad de individuos

que están contaminando, a pesar de que el manejo del alimento implique el riesgo de que el patógeno aparezca en cualquier momento. En todo caso, la investigación de microorganismos patógenos en alimentos no facilita un enfoque preventivo (Koburger y Martha, 1984). Por esas razones, las normas en materia de alimentos generalmente establecen la calidad microbiológica en términos de microorganismos indicadores. Éstos son organismos (o grupos) que advierten oportunamente de un manejo inadecuado o contaminación que incrementan el riesgo de presencia de microorganismos patógenos en alimentos. Además de que su detección en el laboratorio es más sencilla, rápida y/o económica, los microorganismos indicadores permiten un enfoque de prevención de riesgos, puesto que advierten manejo inadecuado y/o contaminación (Fernández, 2000; Pierson y Smoot, 2001).

El pH determina la supervivencia y desarrollo de los microorganismos durante la elaboración, almacenaje y distribución de los alimentos. Bacterias crecen a valores cercanos a la neutralidad, Levaduras y hongos crecen a valores más ácidos, *Staphylococcus aureus* tiene la capacidad de desarrollarse en valores de 4.5 y 9.3 con un óptimo de 7 y 7.5. Para *Salmonella* y *E.coli* los valores de pH mínimo es de 3.8 óptimo 7-7.8 máximo 9.5.

5.3.1 Mesófilos aerobios

Son todas las bacterias, mohos y levaduras capaces de desarrollarse de 30 a 37°C, siendo su temperatura óptima 35°C. Son indicadores de las condiciones de salubridad de un alimento, un recuento elevado indica que la materia prima y su manipulación fue deficiente (Moreno *et al.* , 2014).

5.3.2 Coliformes totales

Son Bacilos Gram negativos, no esporulados, aerobios o anaerobios facultativos, fermentan la lactosa a $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ con la producción de ácido y gas, catalasa positivos, móviles en su gran mayoría por medio de flagelos. Tienen una importancia relevante como indicadores de contaminación del agua y los alimentos. La mayoría pueden encontrarse principalmente en el intestino de los humanos y de los animales de sangre caliente es decir homeotermos. Los coliformes son un grupo más ampliamente utilizados en la microbiología de los alimentos como indicador de prácticas higiénicas inadecuadas. Estas bacterias se distinguen entre coliformes totales y coliformes fecales, su determinación se basa principalmente en la fermentación de la lactosa (Camacho *et al.*, 2009).

5.3.3 Coliformes fecales

Los coliformes fecales son un grupo específico de bacterias coliformes, se encuentran en el tracto intestinal de mamíferos y aves, son capaces de proliferar a 45°C estas bacterias se liberan al medio ambiente a través de heces humanas y de animales (Moreno *et al.*, 2014).

Algunas son patógenas como *Escherichia coli*, *Klebsiella* y *Citrobacter* tienen potencial de causar enfermedades. Se emplean como un indicador de contaminación fecal en alimentos y por tanto establecer si el alimento ha sido manipulado durante todo el proceso en condiciones que aseguren su calidad microbiológica (NMX-F-308, 1992).

5.3.4 Mohos y levaduras

La mayoría son aerobios, aunque hay algunas especies facultativas. Su nutrición es heterótrofa, adquieren su energía de compuestos orgánicos del suelo y del agua. Las levaduras son hongos unicelulares de forma esférica, alargada u ovalada, presentan diferentes colores: blanco, rosado, beige o rojo. Su tamaño oscila entre 2.5-10 micrómetros de ancho y 4.5-21 micrómetros de largo. Estos microorganismos se pueden encontrar ampliamente distribuidos en la naturaleza, formando parte de la microbiota normal de un alimento o como agentes contaminantes de estos. Un pequeño porcentaje de levaduras pueden alterar los alimentos causando su deterioro debido a la utilización de carbohidratos, ácidos orgánicos, proteínas y lípidos, originando un mal olor alterando el sabor y color en la superficie de los productos contaminados, además permiten el crecimiento de bacterias patógenas (Frazier y Campa, 1993).

5.4 Métodos más utilizados para el análisis microbiológico de los alimentos

Los principales métodos utilizados para identificar y cuantificar la presencia de microorganismos son:

5.4.1 Recuento en placa

Es el método más utilizado para la determinación del número de células viables o unidades formadoras de colonias en un alimento, una ventaja importante de esta técnica es que mide el número de células viables, y requiere por lo general 24 horas para que se formen colonias visibles (Camacho *et al.*, 2009). Esta técnica no detecta a todos los microorganismos presentes, pero sí las más significativas para la calidad del alimento,

por ejemplo, a los mesófilos aerobios que son un indicador general de la población que puede estar presente en una determinada muestra (Adams y Moss 2006).

Se basa en contar las unidades formadoras de colonias (UFC) presentes en un gramo o mililitro de muestra. Se considera que cada colonia que se desarrolla en el medio de cultivo de elección después de un cierto tiempo de incubación a la temperatura adecuada proviene de un microorganismo o de un agregado de ellos, de la muestra bajo estudio (Camacho *et al.*, 2009).

5.4.2 Método del número más probable

Es un cálculo estadístico del número de células viables. Se basa en la determinación de presencia o ausencias (positiva o negativa) en réplicas de diluciones consecutivas de atributos particulares de un determinado tipo de microorganismos presentes en una muestra (Cano, 2006).

5.4.3 Recuento microscópico directo

Se utiliza tanto para células viables como para las no viables y se prepara en portaobjetos, se tiñen con un colorante adecuado y se procede a contar las células (Castillo, 2010).

5.4.4 Método de identificación de enteropatógenos

La importancia de separar las cepas patógenas de las no patógenas, al igual que la diferencia entre grupos de especies ha hecho que se desarrollen sistemas de clasificación intraespecíficos. En cambio, no hay un método ideal ya que generalmente se deberá

disponer de los recursos necesarios para aplicar varios métodos y así poder identificar una cepa en el enterogrupo que le corresponda (García y Mendoza, 2014).

5.4.5 Métodos basados en pruebas bioquímicas

Las pruebas bioquímicas han sido ampliamente utilizadas para diferenciar bacterias. Estas pruebas se fundamentan en demostrar si el microorganismo es capaz de fermentar azúcares, la presencia de enzimas, la degradación de los mismos y la producción de compuestos coloreados, entre otros. Aún bacterias fuertemente relacionadas pueden separarse en dos especies diferentes en base a pruebas bioquímicas. Por ejemplo, las bacterias entéricas Gram negativas forman un grupo muy grande y heterogéneo cuyo hábitat natural es el tracto gastrointestinal de humanos y otros animales. Esta familia, Enterobacteriaceae, incluye a varios patógenos que causan síndromes diarreicos. Un gran número de ensayos han sido desarrollados con el objeto de identificar rápidamente al patógeno, para que posteriormente el profesional médico, con base en el informe, indique el tratamiento adecuado o para que los epidemiólogos puedan localizar la fuente de la infección (García y Mendoza, 2014; Reynoso *et al.*, 2015).

5.4.6 Métodos basados en tinción diferencial

Es posible sacar conclusiones en relación con la morfología de una bacteria, examinando una lámina que fue sometida a un proceso de tinción diferencial. Estos criterios morfológicos encabezan las primeras etapas del proceso de identificación bacteriana. La mayor parte de las bacterias teñidas con Gram, las podemos clasificar como Gram positivas o Gram negativas (Reynoso *et al.*, 2015).

5.5 Calidad e inocuidad de los jugos de frutas frescas

Son numerosos los organismos, sociedades, gobiernos e industrias alimentarias que, a escala mundial, promueven y recomiendan un consumo diario de frutas y verduras, la Organización Mundial de la Salud (OMS) promueve un consumo mínimo de 400 g de frutas y hortalizas por día, y un óptimo diario de cinco porciones de frutas o verduras, con el fin de prevenir enfermedades crónicas, en particular las cardiopatías, el cáncer, la diabetes tipo 1, 2 y la obesidad (OMS, 2003).

Aunado a esto en los últimos años se han reportado brotes de enfermedades por el consumo de jugos de frutas (Vojdani, 2007). Entre los productos identificados como vehículos del patógeno implicado, destacan el jugo de naranja y el de manzana en Estados Unidos (Fernández, 2000).

En nuestro país, el riesgo de enfermar incrementa si se consideran las deficientes prácticas sanitarias de operación en las que se incurre durante la preparación del jugo y el hecho de consumirse sin pasteurizar. No es rara una elevada población de *E. coli* en estos productos, y finalmente se pueden ver implicados entre los consumidores, poblaciones hipersensibles. Estas últimas son quienes más frecuentemente recurren al consumo de jugos atribuyéndoles propiedades curativas (Murray, 2000).

5.6 Sistemas de calidad

Son un conjunto de normas y estándares, con el fin de controlar y administrar eficazmente y de manera homogénea, los reglamentos de calidad requeridos por las necesidades de las organizaciones para llegar a un fin común en sus operaciones (Méndez, 1999). Respecto de

la inocuidad, los sistemas de calidad consideran como requisitos preliminares contar con algunos procedimientos que aseguran la higiene de los procesos.

5.6.1 Buenas Prácticas Agrícolas (BPA)

Conjunto de medidas higiénico-sanitarias mínimas que se realizan en el sitio de producción primaria de vegetales, para asegurar que se minimiza la posibilidad de contaminación física, química y biológica de un vegetal o producto fresco. Las BPA incluyen métodos de cultivo, cosecha, selección, almacenamiento y transporte de los productos agrícola, desarrolladas y aplicadas para asegurar su buena condición sanitaria, mediante la reducción de los peligros de contaminación biológica, química y física (SAGARPA, 2016).

5.6.2 Buenas Prácticas de Manufactura (BPM)

Las BPM son el conjunto de procedimientos, condiciones, y controles que se aplican en todos los procesos de elaboración y manipulación de alimentos por lo que son una herramienta fundamental para la obtención de productos inocuos las cuales incluyen limpieza y desinfección del equipo, utensilios, instalaciones físicas y sanitarias, así como higiene y salud del personal antes y durante dichos procesos con el objetivo de disminuir los riesgos de contaminación de los productos elaborados (SAGARPA, 2016).

5.6.3 Sistema de Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control (HACCP)

Sistema preventivo, que antes de basarse en el análisis del producto final, requiere que el control se realice en los puntos identificados como críticos es decir donde podría ocasionarse algún riesgo, a lo largo de todo el proceso de elaboración del producto, siendo mucho más efectivo para garantizar la inocuidad. Puede ser utilizado por todos los sectores productivos, incluyendo el alimentario. Su aplicación entre otras ventajas facilita las labores de inspección y control durante los procesos (COVENIN, 2002).

5.6.4 Sistema de Reducción de Riesgos de Contaminación (SRRC)

Conjunto de elementos, métodos y herramientas eficaces, diseñadas y aplicadas bajo condiciones naturales de producción y/o manejo de un alimento, con la finalidad de reducir las probabilidades de que un contaminante de origen biológico, químico y/o físico se posicione sobre éste y comprometa la salud de quien lo consume (Osuna *et al.*, 2011).

VI. MATERIALES Y METODOS

Zona de Estudio

Para llevar a cabo este estudio se muestrearon los principales mercados de Toluca, Estado de México, los mercados fueron: Juárez, 16 de Septiembre, Morelos e Hidalgo.

6.1 Tamaño de muestra

Los muestreos se realizaron a 5 expendios de jugo de naranja por mercado, colectando 1 L del mismo, teniendo un total de 20 muestras para cuantificar mesófilos aerobios, coliformes totales y coliformes fecales, los muestreos se llevaron a cabo uno por semana para cada sitio.

6.2 Toma de muestra

El muestreo se realizó de acuerdo a lo indicado por la Norma Oficial Mexicana NOM-109-SSA1-1994, donde las muestras fueron transportadas en condiciones de refrigeración, en una hielera al Laboratorio de Calidad de los Productos Agropecuarios de la Facultad de Ciencias Agrícolas de la Universidad Autónoma del Estado de México. Para su respectivo análisis microbiológico, dichas muestras se colocaron en bolsas de plástico rotuladas y fueron procesadas en las primeras dos horas después de su adquisición.

6.3 Preparación de las muestras para el análisis microbiológico

Previo al análisis microbiológico, se determinó el pH de cada una de las muestras con un potenciómetro Thermoscientific stard 215.

Las muestras se procesaron conforme lo indica el método microbiológico regido por la Norma Oficial Mexicana NOM-110-SSA1-1994.

Se tomaron asépticamente 10 mL de muestra de jugo con 90 mL de agua peptonada salina estéril (0.1% peptona + 0.85% NaCl), 2 mL de éste se agregaron a tubos con 18

mL de agua peptonada (dilución primaria), a partir de ésta se prepararon diluciones decimales seriadas, (10^{-1} , 10^{-2}), posteriormente se sembraron en los medios de cultivo correspondientes.

6.4 Siembra y determinación de bacterias mesófilas aerobias

Una vez preparadas las diluciones de las muestras, se procedió a determinar la presencia de bacterias mesófilas aerobias. De acuerdo con la Norma Oficial Mexicana NOM-092-SSA1-1994 se empleó la técnica de vertido en placa. Para ello se tomó una alícuota de 1 mL de cada dilución y se colocó en el centro de una caja Petri estéril. Posteriormente se agregó el Agar para Cuenta Estándar (marca BD BIOXON®), se incubó por 48 h a 35 ± 2 °C. Cada muestra se plaqueó por duplicado, además se incluyó una caja sin inóculo como muestra testigo. Transcurrido el tiempo de incubación se cuantificaron todas las colonias, siguiendo los lineamientos de esta misma norma, los resultados se reportaron en UFC/ mL de cada muestra (Figura 3).

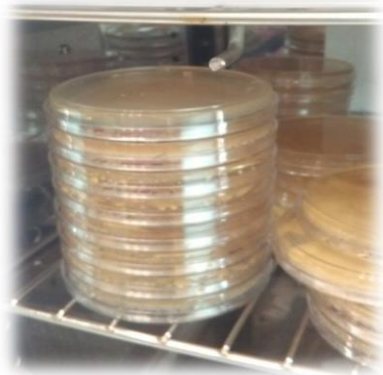


Figura 3. Incubación de mesófilos aerobios en agar cuenta estándar.

Foto: Carbajal, 2018.

6.5 Siembra y determinación de coliformes totales y fecales

Para la siembra de bacterias coliformes totales y coliformes fecales, se utilizó el medio agar Rojo Violeta Bilis Lactosa (RBVA). La determinación se realizó en placa por duplicado y se incluyó una sin inóculo como control negativo, las cuales se incubaron a temperaturas y tiempos diferentes, para coliformes totales a $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 24 horas y para coliformes fecales a $45\pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 48 horas (Figura 4). El conteo se realizó siguiendo la (Norma Oficial Mexicana NOM-113-SSA1-1994). Los resultados obtenidos de UFC, de mesófilos aerobios, coliformes totales, y coliformes fecales fueron comparados con los Límites Máximos Permisibles establecidos por la Norma Oficial Mexicana NOM-093-SSA1-1994.



Figura 4. Incubación de coliformes totales y fecales en agar Rojo Bilis Violeta.

Foto: Carbajal, 2018.

6.5.1 Pruebas bioquímicas

Las colonias obtenidas se sembraron en medios selectivos y diferenciales: agar MacConkey (BIOXON), agar cromogénico O157:H7 (DIBICO), agar de eosina y azul de

metileno (BIOXON), agar verde brillante (BIOXON), agar Salmonella Shigella (BIOXON) y agar Xilosa Lisina Desoxicolato (DIBICO). Estas placas se incubaron a 35 °C por 24 ± 2 h.

6.5.2 Pruebas bioquímicas complementarias

La siembra en medios selectivos se complementó con pruebas bioquímicas de fermentación de carbohidratos con medio caldo rojo de fenol y manitol (BIOXON); la utilización de azúcares, proteínas y producción de sulfuros con agar triple azúcar hierro (BIOXON), la producción de ácido sulfhídrico con medio Citrato Simons (BIOXON), Movilidad, Indol y Ornitina con medio (MIO-DIBICO) y para la observación de actividades hidrolíticas agar gelatina nutritiva (BIOXON) para comparar los resultados obtenidos con lo establecido por Koneman (Winn, 2008).

VII. DISEÑO EXPERIMENTAL

Para detectar diferencias entre mercados se utilizó un diseño experimental completamente al azar. Se realizó un análisis de varianza ($p < 0.05$) para los diferentes mercados. Al existir diferencias se compararon los promedios mediante la prueba DMS ($p < 0.05$). A tal efecto se utilizó el programa Stat Graphics plus 5.0, 1999-2000. Los datos de los microorganismos analizados (mesófilos aerobios, coliformes totales y fecales) se reportaron en UFC/ mL se compararon con los Límites Máximos Permisibles (LMP) establecidos por la Norma Oficial Mexicana NOM-093- SSA1-1994. Esta norma indica que para mesófilos aerobios el LMP debe ser $\leq 150\ 000$ UFC/ mL, Para

coliformes fecales la muestra no debe exceder de 100 UFC/ mL. La misma no contempla coliformes, totales sin embargo, en este estudio se consideró como indicador de calidad.

VIII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como resultados de esta investigación se obtuvo lo siguiente: Las muestras de jugos a base de naranja para el mercado Juárez presentaron un pH con media de 3.16 ± 0.36 ; el Morelos de 3.38 ± 0.22 ; el 16 de Septiembre 3.5 ± 0.10 y el mercado Hidalgo 3.7 ± 0.10 ; con un pH promedio general de 3.428 ± 0.23 . Los resultados demostraron una relación entre el número de colonias y pH, (Cuadro 3) donde existió mayor presencia de microorganismos en los jugos con pH mayor a 3, existen reportes que señalan la sobrevivencia de coliformes en un rango de 4 a 8.5, sin embargo este estudio demuestra que pueden sobrevivir en un medio ácido y éste factor no puede asegurar su ausencia. Esto coincide con (Landa *et al.*, 2012) cuyo estudio en muestras de jugos a base de nopal registraron un pH promedio general de 3.65 ± 0.42 lo que conlleva a una calidad microbiológica deficiente de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana NOM-093-SSA1-1994 y desarrollo de *Salmonella*.

Cuadro 3. Promedios de pH y recuentos de microorganismos en jugos de naranja

MERCADO	Expendio	Ma	Ct	Cf	pH
JUÁREZ					
	E1	1414.8	2160	1000	3.04
	E2	2040.9	1000	1000	3.05
	E3	4350	1000	1000	2.81
	E4	5300.8	8753.3	3733.3	3.72
	E5	5431.8	2446.7	1736.2	3.59
MORELOS					
	E1	21211.7	1431.6	700	3.41
	E2	6911.8	7008.2	4257.3	3.61
	E3	21128.3	1000	150	3.09
	E4	6099	3513.1	250	3.56
	E5	5151.6	4381.7	2208.7	3.23
16 DE SEPTIEMBRE					
	E1	76	10	10	3.37
	E2	2138.7	10	10	3.48
	E3	964.2	5	10	3.55
	E4	76	10	10	3.41
	E5	2345.7	7	10	3.55
HIDALGO					
	E1	3295	25	10	3.81
	E2	1328.8	46.7	10	3.61
	E3	2385.7	63.3	10	3.72
	E4	4063.6	25	8.3	3.62
	E5	2488.3	16.6	10	3.79

➤ **Mesófilos aerobios**

Existió diferencias significativas para mesofilos aerobios entre el mercado Juárez y Morelos ; Morelos y 16 de Septiembre , Morelos e Hidalgo (Cuadro 4) y se observo que el mercado Morelos es el que mayor contaminación tuvo, mientras que el mercado 16 de Septiembre presenta menores recuentos. Es importante resaltar que se obtuvieron recuentos de UFC de mesófilos aerobios en los 4 mercados muestreados.

Cuadro 4. Análisis de varianza (ANDEVA) obtenidos para cada microorganismo de los mercados muestreados.

MERCADO	mesófilos aerobios UFC/mL UFC/mL	coliformes totales UFC/mL	Coliformes fecales UFC/mL
JUÁREZ	3707±1868a	3072±3243b	1693±1183b
MORELOS	12100±8308b	3466±2429b	1513±1741b
16 DE SEPTIEMBRE	1120±1089a	8.4±2.3a	10±0a
HIDALGO	2712±1029a	35±19a	9.66±0.76a
NOM-093-SSA1- 1994	150,000	No lo contempla	100
p<0.05	0.0045	0.0208	0.0022

UFC: Unidades Formadoras de Colonias

Todas las muestras analizadas cumplen con las especificaciones microbiológicas indicadas por la NOM-093-SSA1-1994 con valores de 150,000 UFC/ mL (Figura 5). Existen estudios que han reportado la contaminación puede deberse a la deficiente manipulación durante el proceso de elaboración, al manejo de la materia prima., a la falta de limpieza constante de utensilios como exprimidores, cuchillos, jarras y jergas que pueden ser reservorios de patógenos causantes de enfermedades gastrointestinales (Martínez-González *et al.*, 2003; Castillo y Gómez, 2006).

Lo resultados encontrados contrasta con lo reportado por Campuzano *et al.*, 2015, quienes reportan que el 67 % de las muestras analizadas de jugos y alimentos preparados en la vía pública de Bogotá se encontraron fuera del LMP y en otro estudio realizado por

Anacleto *et al.*, 2005 mencionan que el 78% de las muestras analizadas en jugo de naranja, en ciudad Obregón el Estado de Sonora, México sobrepasa el LMP establecido por la misma norma. La presencia de este grupo microbiano indican la vida útil de los alimentos y un incremento puede afectar la calidad del jugo a pesar del pH ácido este no fue limitante para el desarrollo de mesófilos aerobios por lo que se deduce la falta de desinfección e higiene en el proceso (Ávila y Fonseca, 2008).

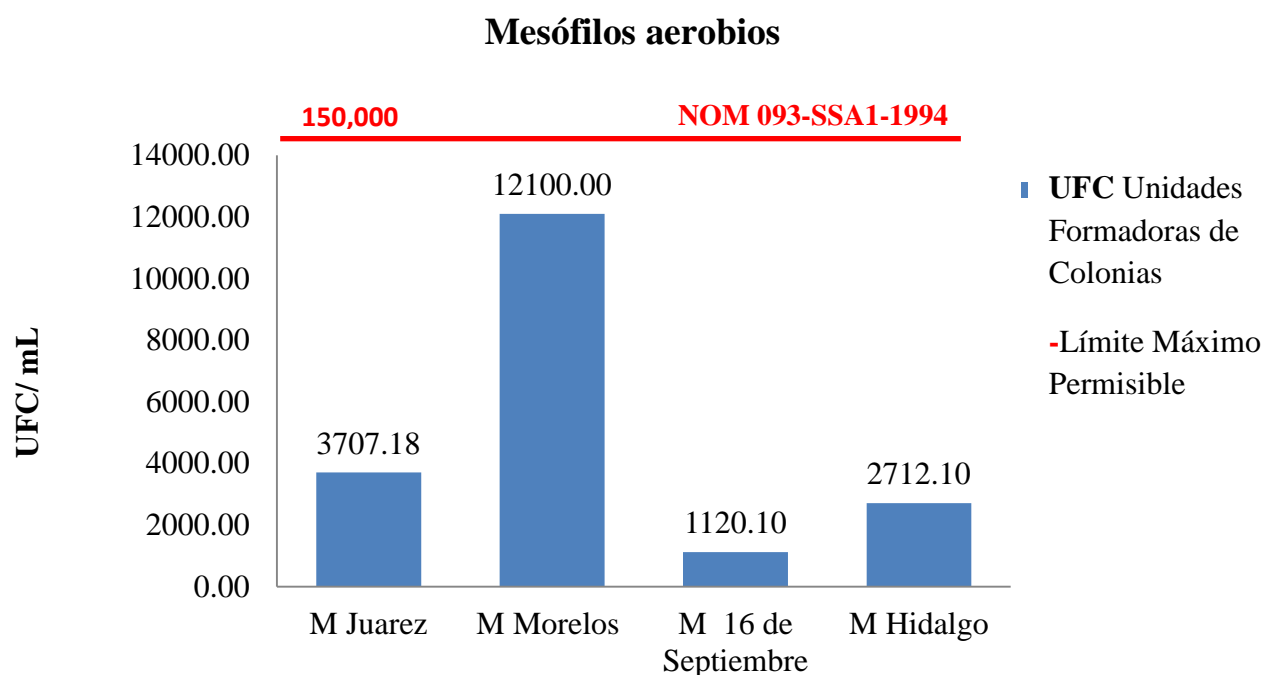


Figura 5. Índices de mesófilos aerobios en jugos a base de naranja en los principales mercados de Toluca.

Aunque los resultados estuvieron dentro de la normatividad refleja la calidad sanitaria condiciones de manipulación y condiciones de la materia prima (Figura 6), se resalta menor contaminación de éste grupo microbiano en uno de los expendios muestreados del

mercado 16 de Septiembre lo que señala el correcto manejo durante la elaboración de los jugos que ahí se venden (Martínez-González *et al.*, 2003; Castillo y Gómez, 2006).

Se debe resaltar un recuento bajo como ocurrió en este trabajo no implica o asegura la ausencia de patógenos o sus toxinas, de la misma manera un recuento elevado no significa presencia de flora patógena (Fernández, 2000).

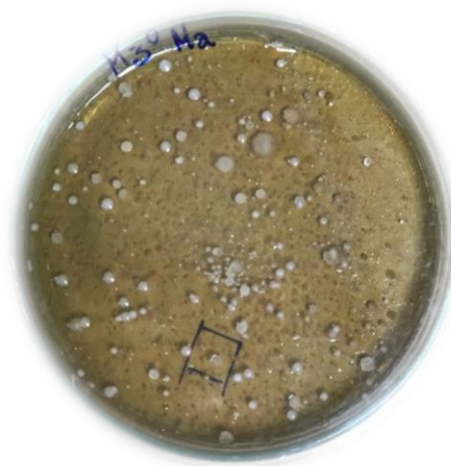


Figura 6. Crecimiento de mesófilos aerobios en muestras de jugos a base de naranja.

Foto: Carbajal, 2018.

➤ **Coliformes totales**

Para el grupo de Coliformes totales existió diferencia significativa entre 3 de los mercados muestreados excepto entre el mercado Juárez y Morelos (Cuadro 4).

Dos de los mercados presentaron un elevado recuento de este indicador aunque la Norma Oficial Mexicana no establece un límite máximo permisible de UFC/ mL (Figura 7). La mayoría de los estudios lo reportan importante para la evaluación de la calidad sanitaria e higiénica de productos mínimamente procesados por lo que es conveniente incluirla en las normas, para complementar la información de evaluación de la calidad. Su presencia en

gran número puede indicar una manipulación no higiénica y/o un almacenamiento inadecuado (Nexticapa *et al.*, 2012). Estos microorganismos constituyen un grupo bacteriano heterogéneo con especies de origen intestinal y no intestinal. Un alto índice resalta que los jugos estuvieron bajo condiciones que los pueden convertir en un peligro para el consumidor.

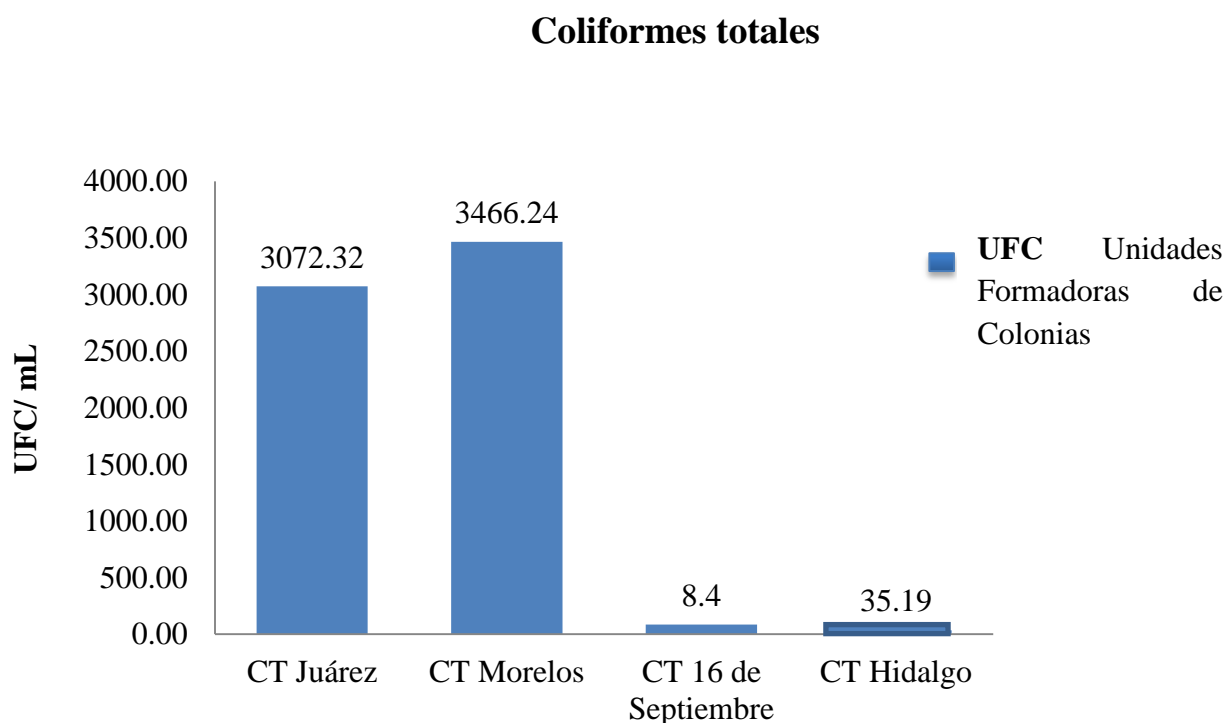


Figura 7. Índices de coliformes totales en mercados de la localidad de Toluca.

Para el caso de coliformes totales el mercado que presentó mayor recuento fue el Morelos con 3466.24 UFC/ mL, seguido por el Juárez con 3072.32 UFC/ mL, Hidalgo con 35.19 UFC/mL y el que menor presencia tuvo fue el 16 de Septiembre con un recuento de 8.4 UFC/ mL (Figura 8). Aunado a ello altos recuentos de coliformes totales como lo es el caso de el mercado Morelos y Juárez indican una deficiente manipulación para su preparación y ausencia de limpieza (Nexticapa *et al.*, 2012).

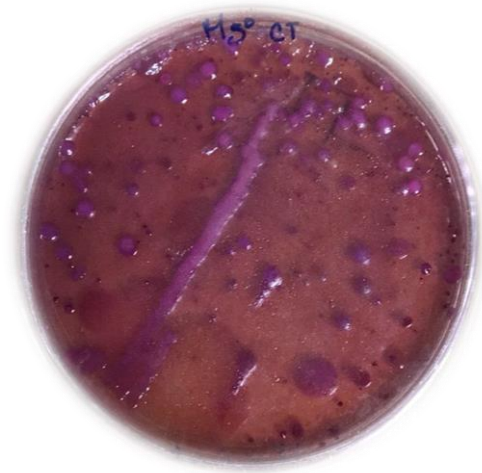


Figura 8. Crecimiento de coliformes totales en muestras de jugos a base de naranja.

Foto: Carbajal, 2018

➤ **Coliformes fecales**

Para el grupo de Coliformes fecales existió diferencia significativa entre los mercados Juárez y 16 de Septiembre e Hidalgo; así como entre el Morelos con el 16 de Septiembre e Hidalgo; solo no existió diferencia significativa entre el mercado Juárez y Morelos.

Dentro de los resultados de coliformes fecales, el mercado Juárez y Morelos sobrepasaron el Límite Máximo Permitido con recuentos de 15000 a 16000 UFC/ mL, sobrepasando el límite máximo permitido por la NOM-093-SSA1-1994 que establece un máximo de 100 UFC/ mL (Figura 9). Por lo que indica que existió contaminación por algún medio y se debe procurar tener las condiciones sanitarias adecuadas (Figura 10). Lo encontrado coincide con otro estudio realizado en ciudad Obregón Sonora, México y menciona Anacleto *et al.* (2005) que el 78 % de muestras de jugo a base de naranja fueron positivos para coliformes fecales y en una de las muestras se detectó *Salmonella* spp., considerándose este alimento de alto riesgo para la salud de los consumidores.

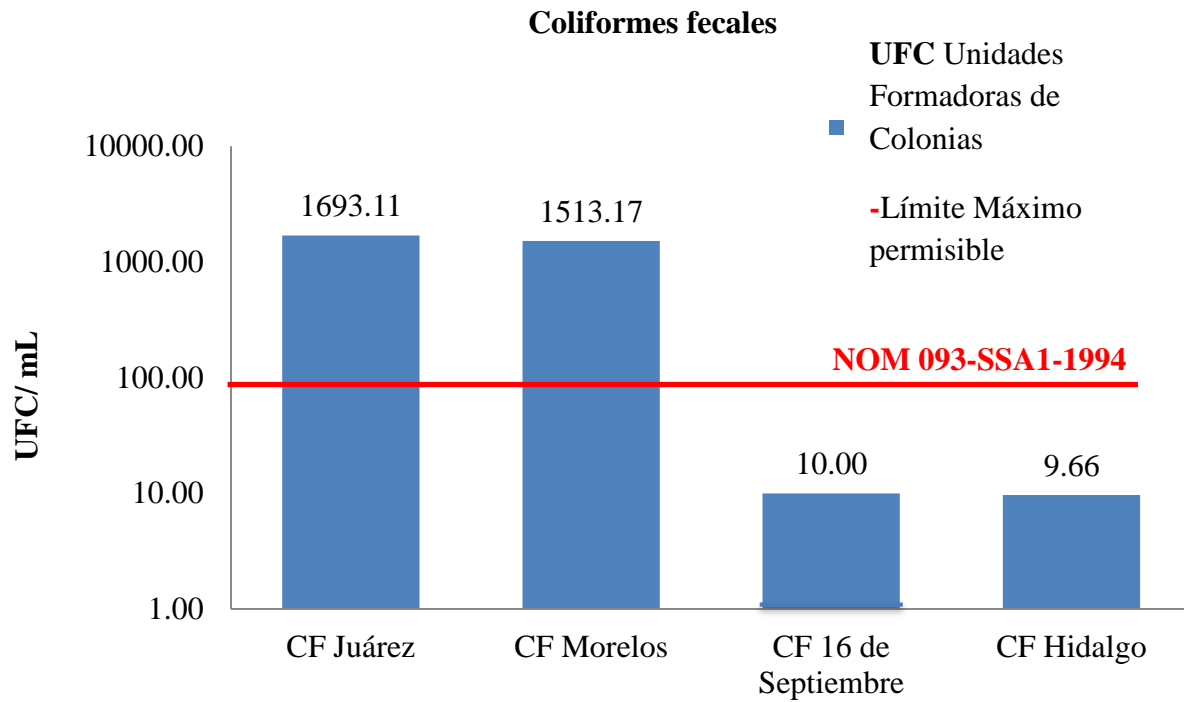


Figura 9. Indices de contaminación por coliformes fecales en mercados de la localidad de Toluca.

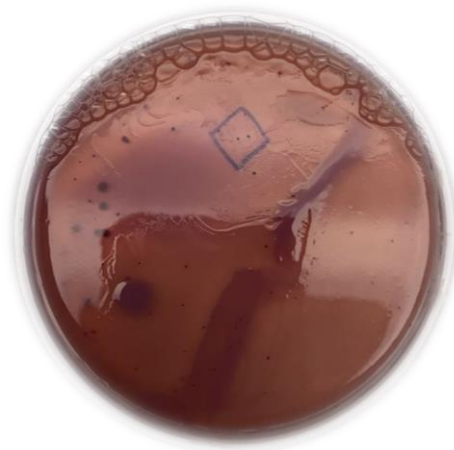


Figura 10. Crecimiento de coliformes fecales y producción de gas en muestras de jugos a base de naranja. Foto: Carbajal, 2017.

➤ Tinción de Gram

Las colonias bacterianas sometidas a la tinción de Gram las agrupo dentro del grupo de las Gram negativas (Figura 11).

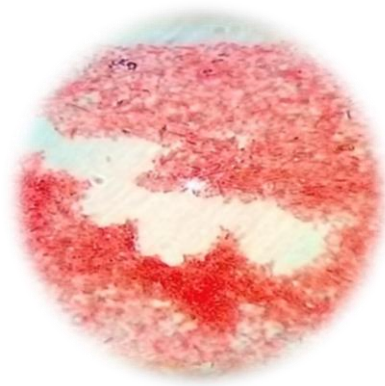


Figura 11. Bacterias Gram negativas de las colonias identificadas. Foto: Carbajal, 2017.

➤ Medios selectivos

Los medios selectivos para el aislamiento de microorganismos específicos se llevaron a cabo mediante la utilización de los medios: agar Mac Conkey, Verde brillante (VBA), Eosina azul de metileno (EMB), Xilosa lisina desoxicolato (XLD), (Figura 12).



Figura 12. a) Crecimiento de *E. Coli*, verdosas con brillo metálico b) *salmonella typhimurium*, transparentes sobre fondo rojo c) *E coli* positiva producción de lactosa.

➤ Pruebas bioquímicas complementarias

Las pruebas bioquímicas realizadas en las muestras de jugo de naranja fueron comparadas con la columna de Dameron simplificada (cuadro 5), (Winn, 2008). Las reacciones agruparon a las cepas dentro del grupo de *E. coli* y *Salmonella* (Figura 13), esto coincide con otros estudios que indican que la detección de *E. coli* en un producto es indicativo de la presencia de otros microorganismos como *Salmonella*, *Shigella*, *Serratia* y *Citrobacter* (Parish, 1997). La contaminación por estos y otros patógenos puede ocurrir durante el manejo del producto por el personal o equipo con poca higiene o bien por contacto de insectos con la superficie de la fruta, el agua con el que se lava la materia prima, entre otros (Parish, 1997).

Cuadro 5. Pruebas Bioquímicas utilizadas para la identificación de Enterobacterias reactividad IMViC.

Cepas	Reacción										
	Fc	I	M	S	CS	Ah	H ₂ S	TSI	Pro-g	<i>Salmonella</i>	<i>E. coli</i>
1 Morelos	+	-	-	+	-	+	+	A/A	-	+	-
2 Juárez	+	-	-	+	-	+	+	A/A	-	+	-
3 Juárez	+	-	-	+	-	+	+	A/A	-	+	-
4 Juárez	+	-	-	+	-	+	+	A/A	-	+	-
5 Juárez	+	+	+	-	-	+	-	A/A	-	-	+
6 Morelos	+	+	+	-	-	+	-	A/A	-	-	+

F_c Fermentación de carbohidratos I Indol, M Movilidad, S Sulfuros, C_s Citrato Simons, F_c Fermentación de Carbohidratos, H₂S Producción de ácido sulfhídrico, TSI Triple azúcar hierro, Pro-g Producción de gas, Ah Actividad hidrolítica, A/A Alcalino en pico de flauta y profundidad, A/Ac Rojo en pico de flauta sin cambio en profundidad (Winn, 2008).

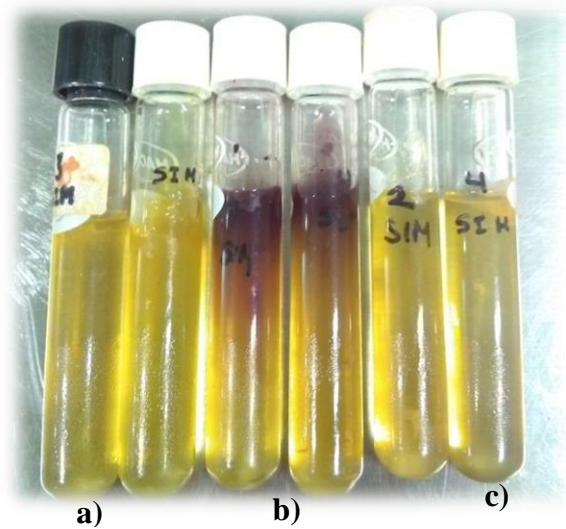


Figura 13. Resultados de las pruebas bioquímicas en medio (SIM) a) blancos, b) *Salmonella* c) *E.coli*. Foto: Carbajal, 2018.

IX CONCLUSIONES

Dos de los mercados muestreados (Juárez y Morelos) sobrepasaron el Límite Máximo Permisible de coliformes fecales establecido por la Norma Oficial Mexicana NOM-093-SSA1-1994. Lo que indica un grado de contaminación por materia fecal presente en los jugos a base de naranja e indicativo de una mala preparación y manipulación de los utensilios.

Las bacterias encontradas fueron *Escherichia coli* y *Salmonella* su presencia afecta la calidad de los jugos, además de ser identificados como los principales causantes de enfermedades alimentarias lo cual amenaza la salud del consumidor. Por lo anterior estos jugos se ubicaron en la categoría de jugos con calidad sanitaria deficiente.

Es importante precisar que, aunque el estudio abarcó solo cuatro de los principales mercados de la localidad de Toluca los resultados dan una idea del nivel de higiene

sanitaria que se presenta en dichos mercados. Las condiciones de las instalaciones son puntos importantes de control para reducir la contaminación de estos productos.

Las diferencias de pH no interfiere en el desarrollo pero aun así con valores bajos sigue existiendo la presencia de estos microorganismos por lo que concluimos que se puedan dar las condiciones para que estos proliferen.

X RECOMENDACIONES

Fomentar la capacitación de los comerciantes en lo que se refiere a las Buenas Prácticas de Preparación (BPP) y Buenas Prácticas de Higiene (BPH) con la finalidad de asegurar la calidad sanitaria de los jugos ofrecidos en los distintos mercados, para evitar la probabilidad de adquirir algún tipo de enfermedad ocasionada por un producto mal manipulado durante su cadena de preparación.

Los resultados obtenidos permiten corroborar que la falta de educación sanitaria en el personal para la preparación y manejo higiénico de alimentos influye directamente en la baja calidad sanitaria de los mismos.

Las condiciones sanitarias observadas por mercado influyeron en los recuentos obtenidos ya que los mercados más contaminados se percibieron condiciones inadecuadas en el almacenamiento de la materia prima utilizada.

Aquellos mercados que presentaron valores de pH más elevados presentaron mejor desarrollo de los microorganismos indicadores analizados.

Las frutas están expuestas a muchos factores que contribuyen a su contaminación, por lo que es importante la aplicación de Buenas Prácticas Agrícolas durante la precosecha y cosecha además de que estas puedan sufrir daños físicos de forma manual o mecánica.

El agua con la que lavan las naranjas y el material reutilizable, debe de ser de buena calidad por lo que puede ser un determinante para lograr que los jugos presenten una deficiente calidad sanitaria.

Para poder identificar el origen de la contaminación de los jugos de los mercados evaluados, se sugiere verificar agua, utensilios, y manipuladores.

XI. BIBLIOGRAFIA CITADA

Adams M., R. y Moss, M., O .2006. Food Microbiology. Zaragoza (España): The Royal Society of Chemistry. p. 472.

Anacleto Félix-Fuentes, Olga Nydia Campas-Baypoli y Mercedes Meza-Montenegro. 2005. Departamento de Biotecnología y Ciencias Alimentarias, Instituto Tecnológico de Sonora (Sonora, México).

Anónimo. 2014. Calidad sanitaria. Obtenido de <https://sites.google.com/a/uabc.edu.mx/tendencias-alimenticias/variables/calidad-sanitaria>. Fecha de consulta: 13 Diciembre 2017.

Anónimo. 2017. El cultivo de naranja . Obtenido de <http://www.infoagro.com/citricos/citricos.htm>
Fecha de consulta: 9 Enero 2018.

Arena, M. P Sanchez. 1999. Factores que influyen en la calidad de la naranja . Food Science and Technology, 15-17. Fecha de consulta: 5 Diciembre 2017.

Ávila T y Fonseca M. 2008. Calidad microbiológica de jugos preparados en hogares de bien estar familiar en la zona del norte de Cuidinamarca. pp20-26

Bayona O. 2009. *Salmonella enterica* virulence genes are required for bacterial attachment to plant tissue. Applied and Environmental Microbiology 71 (10): 5685-5691.

Camacho, M Giles, A. Ortegón A. 2009. Técnicas para el Análisis Microbiológico de Alimentos. Obtenido de http://depa.fquim.unam.mx/archivero/Tecnic-Basicas-Coliformes-enplaca_6528.pdf

Cano, M. 2006. Métodos de Análisis Microbiológico. Obtenido de <http://www.faostat.com/193.43.36.221/site/339/default.aspx> Fecha de consulta: 9 Noviembre 2017.

Castillo, G. Gómez, E. 2006. Salmonella and Shigella in freshly squeezed orange. *Journal of Food Protection*, 69.

Castillo, R. 2010. Inocuidad de alimentos. Universidad de Granma. Ministerio de Educación Superior República de Cuba. *Revista Electrónica de ISSN 1695-7504*, pp 09 Obtenido de <https://es.scribd.com/document/305438312/Recuento-Microscópico-Directo> Fecha de consulta: 13 Diciembre 2017.

Corbo, M C. 2005. Behavior of *Listeria monocitogenes* and *Escherichia coli* in fresh-sliced cactus-pear fruit. *Journal of Food Safety*, 157-162

COVENIN (Comisión Venezolana de Normas Industriales). 2002. Norma venezolana. Directrices generales para la aplicación del sistema HACCP en el sector alimentario. Caracas: COVENIN. NVC 3802:2002. pp 617-132.

de Ugarriza, S. 2009. Terminología Comercial Agropecuaria. Salta, Argentina: Ediciones de la Universidad Católica de Salta.

Eley I. 1994. Intoxicaciones alimentarias de etiología microbiana. Zaragoza, España: Acribia.

FAO. 1999. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Importancia de la calidad e inocuidad de los alimentos: <http://www.fao.org/docrep/meeting/x1845s.htm> Fecha de consulta: 15 Noviembre 2017

Frutos cítricos, <http://www.fao.org/docrep/007/y5143s/y5143s0z.htm> Fecha de consulta: 28

Diciembre 2017.

Fernández E. E. 2000. Microbiología e inocuidad de los alimentos. Universidad Autónoma de Querétaro. Querétaro, México. P 11.

Frazier ,A,Campa . 1993. Microbiología de los Alimentos. España: Acribia. 45- 48.

García Blancas P y Mendoza Medellín A. 2014. Pruebas bioquímicas tradicionales y de alta resolución para identificación manual de enterobacterias. Acta bioquímica clínica latinoamericana 48 (2): 249-54.

Gutiérrez, E P. 2014. El cultivo de la naranja, taxonomía y morfología e importancia económica. 2(1): 23-26.

Hernández Cortez C, Aguilera Arreola Ma., Castro Escarpulli G. 2011. Situación de las enfermedades gastrointestinales en México, Laboratorio de Bacteriología Médica. Departamento de Microbiología. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. Instituto Politécnico Nacional. 137-151.

Jhons, N. 2008. Higiene de los alimentos Diirectrices para Profesionales de Hosteleria, Restauracion, y Catering. España: ACRIBIA,S.A.

Koburger J. y Martha E. 1984. Yeasts and Molds. In: Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 2nd ed. Marvin S. (Ed.) APHA. USA. 197-199.

Lund, y Brien, O. 2011. NCBI. Centro Nacional de información Biotecnologica. Obtenido de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21561383> Fecha de consulta: 11 Enero 2018.

Landa S. P. 2012. Characterization of *Salmonella* spp. from nopalleaves and associated soil and water samples in Morelos, Mexico. Abstracts of the Annual Meeting of the International Association for Food Protection (1-37):74-75.

Martínez, B. 2003. El manejo Higiénico de los Alimentos. México.Limusa S.A. de C.V. Limusa Noriega Editores. Martínez, F. B, Mexico. Vol 1 : 456

Matus C, Ruiz. 2015. Enfermedades Transmitidas por Alimentos. Disponible desde Internet en: <http://www.siicsalud.com/des/des043/05504016.html> Fecha de consulta: 8 Noviembre 2017.

Mendez A. 1999. Manual de Sistemas de Calidad. Epaña; paraninfo.

Moreno, B.,Diez, V., García, Ma. L.,Menes, I., Gutierrez, L. y Polledo, F. 2014. Obtenido de <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/092ssa14.html> Fecha de consulta: 10 Septiembre 2017.

Murray F. 2000. El poder curativo de los jugos. Selector . Fecha de consulta: 7 Octubre 2017.

NCBI (2017). Centro Nacional de Informacion Biotecnologica, [En linea] A viable at:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=info&id=3562&lvl=3&=has linkout&p=blast url&p=genome blast&p=mapview& lin=f&keep=1&srchmode=1&unlik>
consultado el 4 noviembre 2017.

Neto, C. 1999. Factores que influyen en la calidad del jugo. Food Science and Technology, 10.

Nexticapa M, Páez F, Cervantes C. 2012. Control sanitario en preparación de alimentos en centro de adolescentes en Veracruz México. Universidad Veracruzana.

NMX-F-308. 1992. Obtenido de <http://www.colpos.mx/bancodenormas/nmexicanas/NMX-F-308>
1992.PDF alimentos - cuenta de organismos coliformes fecales. foods - fecals coliform organisms
count. Fecha de consulta: 3 Enero 2018.

Norma Oficial Mexicana NOM-109-SSA1-1994, Bienes y Servicios. Generalidades para toma y
recoleccion de muestras de alimentos para su analisis microbiologico.

Norma Oficial Mexicana NOM-110-SSA1-1994, Bienes y Servicios. Preparacion y dilucion de
muestras de alimentos para su analisis micribiologico.

Norma Oficial Mexicana NOM-092-SSA1-1994, Bienes y Servicios. Método para la cuenta de
bacterias aerobias en placa.

Norma Oficial Mexicana NOM-093-SSA1-1994, Bienes y Servicios. Prácticas de higiene y
sanidad en la preparación de alimentos.

Norma Oficial Mexicana NOM-113-SSA1-1994, Bienes y Servicios. Método para la cuenta de
Microorganismos Colifórmes Totales en Placa.

Osuna García, J. A., Y. Nolasco González, L. Ortega Navarrete, R. Sánchez Lucio y M. L Guzmán
Robles. 2011. Aplicación de sistemas de reducción de riesgos de contaminación en frutas y
hortalizas en Nayarit. INIFAP, CIRPAC. Campo Experimental Santiago Ixcuintla. Folleto Técnico
No. 17, Santiago Ixcuintla, Nayarit, México.

OIRSA. 2002. Organismo Internacional Regional de Sanidad Agropecuaria, Obtenido de
<https://www.oirsa.org/informacion.aspx?id=71> Fecha de consulta: 7 Noviembre 2017.

OIRSA-VIFINEX 2002. Organismo Internacional Regional de Sanidad Agropecuaria ,Obtenido
de <https://www.oirsa.org/informacion.aspx?id=68> Fecha de consulta: 7 Diciembre 2017.

OMS. Organización Mundial de la Salud. 2003. Dieta, nutrición y prevención de enfermedades crónicas. Fecha de consulta: Diciembre del 2017.

OMS. Organización Mundial de la Salud. 2007. *Salmonella* (no tifoidea). Nota descriptiva. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs139/es/> Fecha de consulta: Diciembre del 2017.

OMS-FAO. 2007. Organización Mundial de la Salud y La Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Obtenido de <https://www.saber.ula.ve/bitstream/123456789/17929/1/articulo9.pdf> Fecha de consulta: 10 Noviembre 2017.

OPS-OMS. 2013. Organización Panamericana de la Salud, Organización Mundial de la Salud http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=10837%3A2015-clasificacion-peligros&catid=7678%3Ahaccp&Itemid=41432&lang=es Fecha de consulta: 10 Noviembre 2017.

Ortega, B. 2004. Determinación de Coliformes Totales y *E. coli* en muestras de hortalizas. 121-135.

Parish M. E. 1997. Public health and no pasteurized fruit juices. *Critical Reviews in Microbiology*, 23 (2): 109-119.

Pierson M. y Smoot L. 2001 Indicator Microorganisms and Microbiological Criteria. In: *Food Microbiology. Fundamentals and Frontiers*. 2nd ed. Doyle M. Beuchat L. y Montville T. (Eds.) ASM Press. USA. 71-87.

Ramirez E. 2002 “Isolation of *Yersinia* from raw (pork and chicken) and precooked meat (porcine tongues and sausages) collected from commercial establishments in México City”. *J Food Prot*; 63:542-544.

Reynoso M, Magnoli C, Barros G y Demo M. 2015. Manual de Microbiología General. Primera Edición , Editorial un rio. 72-86.

SAGARPA .2016. BPM. Buenas Practicas de Manufactura. Mexico Version 10 de octubre 2016.

Sagarpa. 2017. Sagarpa. Servicio de Informacion y Estadistica Agroalimentaria y pesquera SIAP,

SIACON. 2017. Anuario Agricola por municipio. Disponible en: www.siap.sagarpa.gob.mx. Fecha de consulta: 9 Noviembre 2017.

SAGARPA. 2016. Secretaria de Agricultura Ganadería Recursos Naturales Pesca y

Alimentación. [En línea] consultado en: [http://www.SAGARPA.gob .mx/cierre-de-exportaciones de-naranja-doc](http://www.SAGARPA.gob.mx/cierre-de-exportaciones-de-naranja-doc). Fecha de consulta: 10 Febrero 2018.

SAGARPA/SENASICA. 2016. Secretaria de Agricultura, Ganaderia, Desarrollo Rural Pesca y

Alimentación. Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad Agroalimentaria. Obtenido

<http://www.sagarpa.gob.mx/Delegaciones/sanluispotosi/boletines/Paginas/BOL1301112.aspx>

Sapers W. 2006. Microbiology of fruits and vegetables. The United States of America:

Academic Division.

SIAP/SAGARPA. 2016. Servicio de Informacion Agroalimentaria y Pesquera. Secretaria de

Agricultura, Ganaderia, Desarrollo Rural Pesca y Alimentación

<https://www.inforural.com.mx/citricos-produccion-nacional/>. Fecha de

consulta: 5 Noviembre 2017.

Smoot M.L, Pierson M. 1997. Microorganismos indicadores y criterios microbiológicos de los alimentos fundamentos y fronteras. Ed. Acribia. España. pp. 69-82.

Vojdani C. 2007. Juice-associated Outbreaks of Human. En Of Food Protect. Illness. Revista electronica, 7-12.

Winn, Washington C, Elmer W, Koneman. Koneman Diagnóstico Microbiológico. 2008. Texto y Atlas en Color. Editorial Médica Panamericana, Print. 6ª Edición. Buenos Aires, Argentina.