



UNIVERSITAT  
POLITÈCNICA  
DE VALÈNCIA



Escola Tècnica Superior  
d'Enginyeria Agronòmica i del Medi Natural

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica  
y del Medio Natural

Estudio de la calidad higiénico-sanitaria de verduras de  
hoja y fresón de producción ecológica y convencional de la  
Comunidad Valenciana

Trabajo Fin de Grado

Grado en Ingeniería Agroalimentaria y del Medio Rural

AUTOR/A: Pellicer Alcaraz, Consuelo

Tutor/a: Jiménez Belenguer, Ana Isabel

Cotutor/a: Hernández Pérez, Manuel

CURSO ACADÉMICO: 2022/2023

# UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

## Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica y del Medio Natural

Estudio de la calidad higiénico-sanitaria de verduras de hoja y  
fresón de producción ecológica y convencional de la  
Comunidad Valenciana

Trabajo Fin de Grado

Grado en Ingeniería Agroalimentaria y del Medio Rural

AUTOR/A: Pellicer Alcaraz, Consuelo

Tutor/a: Jiménez Belenguer, Ana Isabel

Cotutor/a: Hernández Pérez, Manuel

CURSO ACADÉMICO: 2022/23

# Estudio de la calidad higiénico-sanitaria de verduras de hoja y fresón de producción ecológica y convencional de la Comunidad Valenciana

## Resumen

La seguridad alimentaria de productos frescos es clave para la comercialización y exportación de estos. En los últimos años se han detectado graves brotes de *E. coli*, *Salmonella spp.* y *Listeria spp.* en Estados Unidos y Europa. Han sido casos muy graves para la salud pública como por ejemplo el brote de *E. coli* en lechuga romana detectado en Arizona (2018), o nacional en el caso de la espinaca (2021) o el brote de *Listeria* en lechuga romana multiestatal (2011). También en Europa nos encontramos con el brote de lechuga *E. coli* en Finlandia (2021), o de ensalada en Alemania (2011), y brote de *Salmonella spp.* en lechuga tipo Iceberg en cinco países europeos (2000), entre otros.

El cultivo ecológico es un sector en auge. Para poder calcular cuánto abarca la calidad y seguridad alimentaria en estos productos, nos tenemos que ir a los datos económicos para estos cultivos. Es decir, para los cultivos ecológicos desde el 2016 al 2020, la superficie ecológica certificada en la Comunidad Valenciana ha aumentado en un 81,2% ocupando un total 146.767ha en 2020. En el caso del cultivo convencional, el valor de la producción de frutas y hortalizas en el conjunto de la Unión Europea en 2021 alcanzó casi los 73.600 millones de euros, y para España el valor de producción ha sido de 15.470 millones de euros en 2021, que supone el 21% del valor total de la Unión Europea.

En este trabajo, se realizó un estudio de la calidad y seguridad alimentaria del cultivo ecológico y convencional de un total de 37 muestras de vegetales de hoja y fresón comercializadas en la ciudad de Valencia, de los cuales 34 muestras pertenecieron al cultivo convencional. Los vegetales analizados fueron: espinaca (*Spinacia oleracea*), col rizada (*Brassica oleracea var. sabellica*), lechuga (*Lactuca sativa*), col blanca (*Brassica oleracea var. capitata*), col lombarda (*Brassica oleracea var. capitata f. rubra*) y fresón (*Fragaria × ananassa*).

Los muestreos se realizaron semanalmente y se realizarán los análisis microbiológicos que indicaron la calidad higiénico-sanitaria del producto, estudiando así la presencia de coliformes, viables o *E. coli*. También se estudió la presencia de patógenos como *Salmonella spp.* y *Listeria spp.* siguiendo la norma UNE-EN ISO 6579 para la detección de *Salmonella spp.* y la norma UNE -EN ISO 11290-1 para *Listeria spp.*

En cuanto a los resultados, se observó presencia de viables, coliformes y de forma aislada *E.coli*, por lo que se recomienda mantener siempre unas buenas prácticas agrícolas y de higiene durante todo la cadena de producción, suministro y consumo. Además de realizar los pertinentes análisis por parte de las empresas alimentarias para garantizar un consumo seguro.

Los ODS relacionados con este trabajo son: *ODS 2*: Poner fin al hambre, lograr la seguridad alimentaria y la mejora de la nutrición y promover la agricultura sostenible. *ODS 12*: Garantizar modalidades de consumo y producción sostenibles. *ODS 15*: Gestionar sosteniblemente los bosques, luchar contra la desertificación, detener e invertir la degradación de las tierras y detener la pérdida de biodiversidad.

**Keywords**— calidad, seguridad alimentaria, salud, salud pública, ecológico, convencional, cultivo, producción, agronómico, agrícola, viables, coliformes, *E.coli*, *Salmonella*, *Listeria*, lechugas, espinacas, coles rizadas, coles lombarda, fresón, enriquecimiento, antibióticos, norma UNE.

AUTOR/A: Pellicer Alcaraz, Consuelo

Tutor/a: Jiménez Belenguer, Ana Isabel

Cotutor/a: Hernández Pérez, Manuel

Valencia, Julio 2023

# Estudi de la qualitat higienicosanitària de verdures de fulla i maduixes de producció ecològica i convencional de la Comunitat Valenciana

## Resum

La seguretat alimentària de productes frescos és clau per a la comercialització i exportació d'aquests. En els últims anys s'han detectat greus brots d'*E.coli*, *Salmonella spp.* i *Listeria spp.* Als Estats Units i Europa. Han sigut casos molt greus per a la salut pública com per exemple el brot d'*E.coli* en encisam romà detectat a Arizona (2018), o nacional en el cas de l'espinaç (2021) o el brot de *Listeria* en encisam romà multiestatal (2011). També a Europa ens trobem amb el brot d'encisam *E.coli* a Finlàndia (2021), o d'ensalada a Alemanya (2011), i brot de *Salmonella spp.* En encisam tipus Iceberg en cinc països europeus (2000), entre altres.

El cultiu ecològic és un sector en auge. Per a poder calcular quant abasta la qualitat i seguretat alimentària en aquests productes, ens hem d'anar a les dades econòmiques per a aquests cultius. És a dir, per als cultius ecològics des del 2016 al 2020, la superfície ecològica certificada a la Comunitat Valenciana ha augmentat en un 81,2% ocupant un total 146.767ha en 2020. En el cas del cultiu convencional, el valor de la producció de fruites i hortalisses en el conjunt de la Unió Europea en 2021 va aconseguir quasi els 73.600 milions d'euros, i per a Espanya el valor de producció ha sigut de 15.470 milions d'euros en 2021, que suposa el 21% del valor total de la Unió Europea.

En aquest treball, es va realitzar un estudi de la qualitat i seguretat alimentària del cultiu ecològic i convencional d'un total de 37 mostres de vegetals de fulla i maduixes comercialitzades a la ciutat de València, dels quals 34 mostres van pertànyer al cultiu convencional. Els vegetals analitzats van ser: espinaç (*Spinacia oleracea*), col arrossada (*Brassica oleracea var. Sabellica*), encisam (*Lactuca sativa*), col blanca (*Brassica oleracea var. Capitata*), col llombarda (*Brassica oleracea var. Capitata f. Rubra*) i maduixa (*Fragaria × ananassa*).

Els mostresos es van realitzar setmanalment i es realitzaran les anàlisis microbiològiques que van indicar la qualitat higienicosanitària del producte, estudiant així la presència de coliformes, viables o *E.coli*. També es va estudiar la presència de patògens com a *Salmonella spp.* i *Listeria spp.* Seguint la norma UNE-EN ISO 6579 per a la detecció de *Salmonella spp.* i la norma UNE -EN ISO 11290-1 per a *Listeria spp.*

Quant als resultats, es va observar presència de viables, coliformes i de forma aïllada *E.coli*, per la qual cosa es recomana mantindre sempre unes bones pràctiques agrícoles i d'higiene durant tot la cadena de producció, subministrament i consum. A més de realitzar les pertinents anàlisis per part de les empreses alimentàries per a garantir un consum segur.

Els \*ODS relacionats amb aquest treball són: ODS 2: Posar fi a la fam, aconseguir la seguretat alimentària i la millora de la nutrició i promoure l'agricultura sostenible. ODS 12: Garantir modalitats de consum i producció sostenibles. ODS 15: Gestionar sosteniblement els boscos, lluitar contra la desertificació, detindre i invertir la degradació de les terres i detindre la pèrdua de biodiversitat.

**Keywords**— qualitat, seguretat alimentària, salut, salut pública, ecològic, convencional, cultiu, producció, agronòmic, agrícola, viables, coliformes, *E. coli*, *Salmonella*, *Listeria*, encisams, espinaçs, col·les arrossades, cols llombarda, maduixes, enriquitment, antibiòtics, norma UNE.

AUTOR/A: Pellicer Alcaraz, Consuelo

Tutor/a: Jiménez Belenguer, Ana Isabel

Cotutor/a: Hernández Pérez, Manuel

València, Juliol 2023

# Study of the hygienic-sanitary quality of leafy vegetables and strawberries from organic and conventional production in the Valencian Community

## Summary

The food safety of fresh products is key to the marketing and export of these. In recent years, serious outbreaks of *E. coli*, *Salmonella spp.* And *Listeria spp.* In the United States and Europe. They have been very serious cases for public health, such as the *E. coli* outbreak in romaine lettuce detected in Arizona (2018), or national in the case of spinach (2021) or the multi-state *Listeria* outbreak in romaine lettuce (2011). Also, in Europe we find the *E. coli* lettuce outbreak in Finland (2021), or salad in Germany (2011), and *Salmonella spp.* In Iceberg lettuce in five European countries (2000), among others.

Organic farming is a booming sector. In order to calculate how much food quality and safety encompasses in these products, we have to go to the economic data for these crops. In other words, for organic crops from 2016 to 2020, the certified organic area in the Valencian Community has increased by 81.2%, occupying a total of 146,767ha in 2020. In the case of conventional cultivation, the production value of fruit and vegetables in the European Union as a whole in 2021 reached almost 73,600 million euros, and for Spain the production value has been 15,470 million euros in 2021, which represents 21% of the total value of the European Union.

In this work, a study of the quality and food safety of organic and conventional cultivation of a total of 37 samples of leafy vegetables and strawberries marketed in the city of Valencia was carried out, of which 34 samples belonged to conventional cultivation. The vegetables analysed were spinach (*Spinacia oleracea*), kale (*Brassica oleracea var. sabellica*), lettuce (*Lactuca sativa*), white cabbage (*Brassica oleracea var. capitata*), red cabbage (*Brassica oleracea var. capitata f. rubra*) and strawberry (*Fragaria × ananassa*).

The samplings were carried out weekly and the microbiological analyses that indicated the hygienic-sanitary quality of the product will be carried out, thus studying the presence of viable coliforms or *E. coli*. The presence of pathogens such as *Salmonella spp.* And *Listeria spp.* Following the UNE-EN ISO 6579 standard for the detection of *Salmonella spp.* And the UNE -EN ISO 11290-1 standard for *Listeria spp.*

Regarding the results, the presence of viable, coliform and isolated *E.coli* was observed, so it is recommended to always maintain good agricultural and hygiene practices throughout the production, supply and consumption chain. In addition to carrying out the pertinent analysis by food companies to guarantee safe consumption.

The SDGs related to this work are: SDG 2: End hunger, achieve food security and improved nutrition, and promote sustainable agriculture. SDG 12: Ensure sustainable consumption and production patterns. SDG 15: Sustainably manage forests, combat desertification, halt and reverse land degradation and halt biodiversity loss.

**Keywords**— quality, food safety, health, public health, ecological, conventional, cultivation, production, agronomic, agricultural, viable, coliforms, *E. coli*, *Salmonella*, *Listeria*, lettuce, spinach, kale, red cabbage, strawberries, enrichment, antibiotics, UNE standard.

AUTOR/A: Pellicer Alcaraz, Consuelo

Tutor/a: Jiménez Belenguer, Ana Isabel

Cotutor/a: Hernández Pérez, Manuel

Valencia, Julio 2023

# Agradecimientos

A mi familia, en especial a mi madre Maria Consuelo y a mi marido Amine que me han dado todo su apoyo para poder realizar estos estudios. También a mi pequeño Omar que me da ganas de mejorar.

Gracias a mis tutores Ana Jiménez y Manolo Hernández con los que he aprendido muchísimo, se han involucrado como si el trabajo fuese suyo y me han apoyado muchísimo para poder tener un buen TFG, además de toda la comprensión que he recibido por su parte.

También doy las gracias a todos y cada uno de mis profesores y profesoras que me han enseñado y gracias a ellos he aprendido muchísimo.

Y por último y no menos importante a la institución de la Universidad Politécnica de Valencia y a todos sus trabajadores por ayudar y apoyar a todo los alumnos.

# ÍNDICE

1	Introducción.....	1
1.1	Sector agroalimentario en la Comunidad Valenciana.....	1
1.1.1	Cultivo ecológico.....	1
1.1.2	Cultivo convencional.....	3
1.1.3	Desperdicio alimentario.....	5
1.2	Calidad y Seguridad alimentaria en la comercialización de verduras y frutas.....	6
1.2.1	Indicadores de calidad.....	6
1.2.2	<i>Salmonella spp.</i> ....	7
1.2.3	<i>Listeria monocytogenes</i> .....	8
1.3	Brotos de toxoinfección debidos a consumo de vegetales de hoja verde y fresones.....	9
1.3.1	Importancia del consumo de fruta y verdura fresca en la seguridad alimentaria.....	9
1.4	Objetivo desarrollo sostenible (ODS).....	10
2	Objetivos	12
3	Material y métodos.....	13
3.1	Muestras de verduras de hoja verde y fresones.....	13
3.2	Calidad e higiene sanitaria.....	15
3.2.1	Recuento de viables mesófilos aerobios.....	15
3.2.2	Recuento de coliformes (CC) y <i>Escherichia coli</i> ( <i>E. coli</i> ).....	16
3.2.3	Detección de <i>Listeria monocytogenes</i> .....	16
3.2.4	Detección de <i>Salmonella spp.</i> ....	17
3.3	Analizar datos estadísticamente.....	19
4	Resultados y discusión.....	20
4.1	Calidad higiénico-sanitaria de los vegetales.....	20
4.1.1	Recuento de bacterias viables mesófilas aerobias.....	20
4.1.2	Recuento de coliformes y <i>E. coli</i> .....	25
4.1.3	Detección de <i>Listeria spp.</i> ....	28
4.1.4	Detección de <i>Salmonella spp.</i> ....	29
5	CONCLUSIONES.....	31
6	Bibliografía.....	32
7	Anexo I: Grado de relación del trabajo con los ODS.....	I
8	Anexo II: Resultados estadísticos.....	II

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	a y 1b Preparación muestras y materiales usados para preparar las diluciones.....	15
Figura 2.	Tira Api <i>Listeria</i> positiva. Fuente apiweb® .....	17
Figura 3.	Material usado para el enriquecimiento selectivo de <i>Listeria</i> y <i>Salmonella</i> .....	17
Figura 4.	Siembra en TSI.....	18
Figura 5.	Ejemplo Tira API con resultado positivo para <i>Salmonella</i> . Fuente apiweb® .....	19
Figura 6.	Valores promedio del recuento de viables de los vegetales estudiados.....	22
Figura 7.	Viables log10 por fecha recogida muestras y tipo de muestra.....	23
Figura 8.	Media de Viables (Log) para cada uno de los niveles de Vegetal y fresón. ....	24
Figura 9.	Promedio de Coliformes y <i>E. coli</i> .....	27
Figura 10.	Media de <i>E. coli</i> para cada uno de los niveles de vegetales y fresón. ....	28
Figura 11.	Media de Coliformes para cada uno de los niveles de Vegetal .....	28
Figura 12.	Resultado negativo en <i>Listeria monocytogenes</i> y <i>Salmonella spp.</i> .....	29



## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Datos obtenidos por AESAN. Muestras de alimentos analizadas en España en el año 2020 .....	8
Tabla 2.	Datos de las muestras analizadas. ....	14
Tabla 3.	Resultados viables aerobios mesófilos por tipo de muestra .....	21
Tabla 4.	Resultados de los recuentos CC y <i>E. coli</i> .....	25

# 1 Introducción

## 1.1 Sector agroalimentario en la Comunidad Valenciana

Debido a que el trabajo incluye productos ecológicos y convencionales, este apartado está separado en estos dos grupos, ya que la producción y datos económicos son diferentes para ambos casos.

### 1.1.1 Cultivo ecológico

En este trabajo se ha realizado el muestreo de tres productos ecológicos; la espinaca (*Spinacia Oleracea*), la col rizada (*Brassica oleracea* var. *capitata*) y la lechuga (*Lactuca sativa*).

El cultivo de la espinaca necesita un clima templado y fresco, con temperaturas entre 10 y 18°C. Se siembran habitualmente a voleo o en hileras a partir de febrero hasta abril o de agosto a octubre. El suelo debe ser profundo, bien aireado y con buen drenaje. Las plagas que se suelen encontrar en este cultivo es el pulgón negro (*Aphis fabae*), o el minador del género *Liriomyza*. Los enemigos naturales de los minadores son *Dyglyphus Isaea*, *Dacnusa sibirica*, *Opius pallipes* *Chrysocharis pentheus*. (Hermoso De Mendoza *et al.*, 2012) Los enemigos naturales del pulgón negro son coccinélidos, sírfidos o parásitos como *Lysiphlebus testaceipes* (Serrano, 1976).

En cuanto a las enfermedades más importantes en este cultivo nos encontramos con el Mildiu y la Roya blanca. Como tratamiento ecológico está la posibilidad del extracto de cola de caballo o extracto de ajo. (Jiménez *et al.*, 2010).

En general, en la agricultura ecológica se recomienda el uso de fertilizantes orgánicos procedentes de los estiércoles de los animales y se incorporan 15 días antes de la siembra. (Torres *et al.*, 2020).

En cuanto a la lechuga, cuenta con variedades adaptadas a diferentes climas, por lo que se puede cultivar a lo largo de todo el año, siempre contando con un buen manejo, ya que en verano por el calor se puede producir el espigado de la lechuga. En cuanto al suelo, necesitan suelos ricos en materia orgánica ya descompuesta. La siembra se suele hacer en semilleros y se planta a los 20-30 días. Riego frecuente y hay que evitar encharcamientos (Jiménez *et al.*, 2007).

Las plagas más importantes que se suelen encontrar en este cultivo son los caracoles, la mosca blanca (*Bemisia tabaci*), los minadores (*Liriomyza trifolii*, *L. huidobrensis*, *L. strigata*, *L. bryoniae*), pulgones (*Aphis fabae*, *A. gossypii*, *A. citricola*, *Toxoptera aurantii*, *Myzus persicae*) y trips (*Frankliniella occidentalis*) (Carrasco y Sandoval, 2016). Los enemigos naturales de los caracoles pueden ser otras variedades de caracoles, para el caso de la mosca blanca pueden ser varios como las mariquitas (*Coleoptera: Coccinellidae*), crisopas (*Neuroptera: Chrysopidae*), chinchitas o chinches (*Hemiptera: Miridae*), arañas (*Araneae: Theridulidae*). Para el caso del trip se usa normalmente ácaros depredadores (*A. barkeri*, *A. cucumeris*, *A. degenerans*, *A. swirskii*, *Euseius stipulatus* y *Hipoaspis miles*) (Vázquez *et al.*, 2007).

Como enfermedades más comunes en la lechuga se encuentran hongos que pueden dañar las hojas y para prevenirlos se recomiendan hacer un buen manejo del riego, es decir riegos frecuentes y breves. Los principales hongos son *Alternaria (Alternaria dauci)* o el Mildiu (*Bremia lactucae*) (Rodríguez, 2008).

La col rizada se puede plantar directamente en el suelo o en semilleros. Los suelos que necesita son calcáreos, bien drenados y porosos. Se recomienda pH entre 5,5 y 6,8. Se debe regar abundantemente ya que necesita humedad. Es importante el abonado (Zamora, 2016). Las plantas aromáticas como la menta, la melisa, el romero o el tomillo repelen los parásitos de las coles.

En cuanto a plagas, se encuentran el pulgón (*Brevicoryne brassicae*) y diversos caracoles. También la mariposa de la col (*Pieris brassicae*). Como control biológico del pulgón se puede usar el parásito *Diaeretiella rapae*. (Liere, 2001) Para el control de la mariposa de la col se pueden usar trampas cromáticas con adhesivo o *Apanteles glomeratus* que es un parasitoide de orugas (Araya et al., 2005). Y en cuanto a las enfermedades, la hernia de la col es causada por un hongo (*Plasmidofora brassicae*) que transmitido por vía del suelo (y afecta a todas las especies de *Brassica*). Para su control, se recomienda el uso de gallinaza pura, en dosis de 100 a 200 g/planta (Velandia et al. 1998).

#### 1.1.1.1 Impacto económico del sector del cultivo ecológico en la actualidad

El cultivo ecológico está en pleno auge, ya que cada año aumenta la superficie ecológica certificada. Si consultamos la evolución del 2016 al 2020, ha aumentado en un 81.2%. También el aumento de operadores ecológicos en la Comunidad Valenciana en el mismo periodo fue de un 46.1%. La evolución de la ratio de la superficie certificada de cultivos ecológico versus el número de agricultores, productores, importadores en la CV, del 2016 al 2020 aumentó en un 19.8% (CAECV, 2020), así ambos han tenido un crecimiento positivo, ayudando a favorecer el crecimiento del sector.

Cabe destacar que la producción ecológica también ha acabado con dos problemas históricos del sector agrícola, es decir ha conseguido, un relevo generacional, y, por otra parte, ha conseguido aumentar la presencia de mujeres en un 6,5% en el último año. Hay que tener en cuenta que la edad media de incorporación a la producción ecológica es de 48 años (CAECV, 2020).

En cuanto a superficie, el 20,5% está dedicada a la agricultura ecológica. Siendo un total de 482 municipios los que trabajan la agricultura ecológica. Este dato indica que se está cerca del 25%, que es el objetivo fijado por la Unión Europea para el 2030. En cuanto a número de operadores, se han triplicado en la última década, sumando un total de 4.636 en 2021. El primer plan se elaboró para ponerse en marcha entre 2016 y 2020, lo cual ayudó a un incremento de la superficie agrícola ecológica certificada, el número de operadores, la industria y las ventas (VALENCIA PLAZA, 2023).

Por productos, la evolución ha seguido con la tendencia creciente entre el 2016 y el 2020. En concreto, los cítricos es el que mayor crecimiento ha tenido con un 173%, seguido de las hortalizas que han visto aumentar su crecimiento en un 100%. Seguidamente, los frutales han aumentado en un 89%, los frutos secos en un 56%, el olivar para aceite en un 42%, el viñedo para vino en un 34% y los cereales en un 13.6% (CAECV, 2020). En el caso de las hortalizas, se han destinado a la agricultura ecológica 1.111 ha en 2021 (Instituto Valenciano de Estadística, 2021). Las principales industrias productoras de productos ecológicos son las siguientes; elaboración de productos alimenticios 47%, elaboración y conservas de frutas y hortalizas 37%, bodegas y embotelladoras de vino 9%, almazaras 4%, bebidas 2% y piensos un 1% (CAECV, 2020).

En cuanto al volumen de facturación del 2016 al 2020, se ha aumentado en un 124,4%. Cabe destacar que el volumen de negocio ECO CV, es decir el mercado de destino en 2020 han sido: 16% dentro de la Comunidad Valenciana, 21% a nivel nacional, 50% a nivel europeo y un 13% a nivel global (CAECV, 2020).

Si hablamos del posicionamiento del sector ecológico de la CV en número de operadores, del 2016 al 2019 se pasó del sexto puesto al cuarto lugar. En cuanto a la superficie certificada ECO, se pasó del quinto puesto al cuarto lugar durante el mismo periodo (CAECV, 2020). El número de operadores en agricultura ecológica aumentó del 2017 al 2021, pasando de 3.013 a 4.636; de los cuales productores son 3.442, elaboradores son 601, importadores 96, exportadores 42 y otros operadores 455 (Instituto Valenciano de Estadística, 2021).

Si comparamos el crecimiento del sector ecológico de la CV, con relación a España y Europa se observa que a nivel europeo ha aumentado en un 66%, a nivel nacional un 46,9% y en la Comunidad Valenciana ha aumentado en un 81,7% (CAECV, 2020).

Como conclusión, el mercado ecológico está en pleno crecimiento y la concienciación de la ciudadanía también va en aumento.

### 1.1.2 Cultivo convencional

Los cultivos convencionales que se han usado en este trabajo son espinaca, col rizada, lechuga, col blanca, col lombarda y fresones.

La col blanca (*Brassica oleracea* convar. *Capitata* var. *alba*) se puede cultivar en la temporada otoño-invierno como primavera-verano. El repollo se adapta a suelos de tipo limo arenosos a limo arcillosos y es ligeramente tolerante a pH ácidos del rango de 6 a 6,5 y se desarrolla bien en suelos moderadamente pesados. Se puede sembrar directamente o por trasplante, siendo la temperatura óptima entre 15 y 18 °C. Habitualmente el riego es mediante surcos aunque se puede usar riego por aspersión durante la germinación del cultivo (Bueno, 2002).

Las plagas más habituales en este cultivo son la oruga de la col o gusano medidor falso (*Trichoplusia ni*), (Shorey *et al.*, 1962) que se puede tratar químicamente con malation o biológicamente con *Bacillus thuringiensis* var *kurstaki*. Otra plaga es el gusano importado de la col (*Pieris rapae*) cuyo tratamiento químico es mediante cipermetrin o deltametrin. Se aplican pulverizándolos, tratando de mojar bien el envés de las hojas. Otra plaga es la palomilla dorso de diamante (*Plutella xylostella*) que tiene como principal característica desarrollar resistencia rápidamente, por lo que se pueden usar tratamientos químicos como azadiractina o biológicos como *Apanteles plutellae* (*Braconidae*) que ataca los primeros 3 estadios larvarios (Sarfraz, *et al.* 2005).

Las enfermedades de la col blanca son similares a la col rizada, que se han detallado en el cultivo ecológico, como es la hernia de la col.

La col lombarda (*Brassica oleracea* var. *capitata* f. *rubra*) se siembra mayormente por trasplante. Se planta a final del verano y principio del otoño, recolectándose su fruto después de unos 4 meses, durante la época invernal. El suelo para esta col es similar al resto calcáreos, húmedos, pero bien drenados, ricos en humus y profundos. En cuanto al riego, debe de ser frecuente, pero hay que evitar los encharcamientos.

En cuanto a las plagas y enfermedades son similares a las que ya citados con las coles, como la hernia de la col, la mariposa de la col, el pulgón y caracoles.

El cultivo del fresón (*Fragaria × ananassa*) es exigente en suelo y temperatura, la temperatura media debe oscilar entre los 15-20°C de media anual y la humedad relativa debe oscilar entre el 65 y 70%. En cuanto al suelo, se requiere suelos preferiblemente arenosos o franco-arenosos, con buena capacidad de aireación y drenaje y alto contenido en materia orgánica. El pH debe oscilar en torno a 6-7. El riego depende de la época del año, del suelo y las necesidades de la planta. Durante el periodo estival se recomienda una frecuencia de riego mayor realizando 2-3 riegos por semana. En invierno esta pauta se reduce a la mitad (Bianchi, 2018).

Hay que destacar la sensibilidad del fresón al fotoperiodo, y así se divide en tres grandes grupos; reflorescentes o de día largo, no reflorescentes o de día corto y remontantes o de día neutro. En los dos primeros casos, la floración se induce con un determinado fotoperiodo pero para el tercer caso este no interviene.

Las plagas más comunes que se suelen encontrar en este cultivo son la araña roja (*Tetranychus urticae*), cuyo control biológico puede realizarse con el ácaro fitoseído *Phytoseiulus persimilis* y como control químico se puede usar el principio activo abamectina. Otra plaga común es el Trip (*Frankliniella occidentalis*). Para su control, se recomienda colocar trampas adhesivas azules a la altura del cultivo, colocar plantas-reservorio alejadas del lugar de plantación y eliminar las malas hierbas. Además del empleo de mallas antitrip (0,037mm<sup>2</sup>). (Castresana *et al.*, 2008) Se puede usar como control biológico *Amblyseius swirskii* u *Orius* y como control químico se puede usar abamectina (Bustillo, 2009). La otra plaga que afecta al fresón es la *Heliothis zea* y para su control se recomienda eliminar los frutos

dañados, las malas hierbas y usar trampas con feromonas específicas. Y como control biológico se puede usar *Trichogramma pretiosum*, que es un parásito (Castresana, *et al.*, 2008).

En cuanto a las enfermedades más comunes del fresón se encuentra la podredumbre gris (*Botrytis cinerea*), cuyo tratamiento se recomienda medidas culturales como evitar el exceso de humedad y retirar los tejidos enfermos (Trejo y Xavier *et al.*, 2016) Como control químico se recomienda el tiabendazol. Otra enfermedad común es el hongo oídio (*Sphaerotheca macularis f. sp. Fragariae*) (Páez, *et al.*, 1968). Las medidas preventivas son establecer un correcto marco de plantación, eliminación de malas hierbas y plantas sintomáticas y desinfección de herramientas. Como control químico se recomienda el uso de fungicidas de contacto al tratarse de un patógeno ectoparásito o aplicación de azufre. La aplicación de estos en periodos tempranos del desarrollo del cultivo aumenta la producción, permite el control de oídio en fruto y reduce su severidad en hojas (Blanco *et al.*, 2006).

Los tratamientos químicos mencionados en este trabajo, se ha consultado que estén permitidos su uso en el Reglamento (CE) no 1107/2009. 26 de mayo de 2023.

Para todos los cultivos, incluidos convencionales y ecológicos, siempre es recomendable realizar un control biológico o llevar a cabo medidas preventivas como técnicas de cultivo que eviten la propagación de plagas o enfermedades.

#### **1.1.2.1 Impacto económico del sector del cultivo convencional en la actualidad**

En 2021, el valor de la producción de frutas y hortalizas en el conjunto de la Unión Europea alcanzó casi los 73.600 millones de euros, y para España el valor de producción fue de 15.470 millones de euros, que supone el 21% del valor total de Europa, ocupando así la primera posición, quedando por delante de Italia, Francia y Alemania entre otros (Eurostat, 2021).

La producción mundial fue de 2.035 millones toneladas en 2020 (FAOSTAT, 2020). Los principales países son China e India, y España supone un 2% de la producción mundial, ocupando la misma posición que Egipto, México, Brasil y Turquía. Por otro lado, la distribución de la producción de hortalizas en Europa en 2021 supuso 105 millones toneladas. En este caso, España ocupa la primera posición con un 26% de la producción, le sigue Italia con un 22% y luego Polonia con un 10% de la producción, entre otros países europeos (FAOSTAT, 2020).

Las exportaciones europeas de frutas y hortalizas equivalen a 11.575 millones de euros, mientras que las importaciones equivalen a 24.546 millones de euros (Eurostat, 2022).

La producción de frutas y hortalizas ha tenido una tendencia al alza desde 2010 al 2021. Así pues, el valor de producción en 2010 era para las hortalizas de 5.807 millones de euros, y para la fruta 5.147 millones de euros. En 2021 estos valores se situaban en 7.714 millones de euros para las hortalizas y en 7.131 millones de euros para la fruta sumando un total de 15.407 millones de euros para las frutas y hortalizas (MAPA, 2020).

Así pues, las frutas y hortalizas suponen el 46% de la Producción Vegetal y el 27% de la Producción de la Rama Agraria (MAPA, 2020).

En cuanto a la superficie ocupada por el cultivo de frutas y hortalizas en España, también ha tenido una tendencia al alza desde 2013 al 2021; pasando de 898.465ha a 940.433ha, que supone un 2.3% más. Y esta tendencia se ha mantenido en los últimos cinco años, es decir desde 2016 al 2021, ha aumentado un 2%, es decir de 922.679ha ha pasado a 940.433ha (MAPA, 2021).

La distribución de la superficie de frutas y hortalizas en España en 2021 queda del siguiente modo; para hortalizas supone el 40% de la superficie, es decir 401.711ha y para la fruta dulce supone el 18%, es decir 185.127ha. (MAPA, 2021).

La producción de frutas y hortalizas en España en 2021 alcanzó los 29 millones de toneladas, un 4% superior a la media (2016 – 2020). Cabe destacar que la distribución de la producción en 2021

fue de un 34% en Andalucía, seguido de un 16% que corresponde a la Comunidad Valenciana y al que le sigue Murcia con un 13% (MAPA, 2021).

En cuanto al comercio exterior de España en frutas y hortalizas durante el 2021, las exportaciones corresponden a 18.032 millones de euros y las importaciones corresponden a 4.969 millones de euros. Hay que considerar que tanto las importaciones como las exportaciones han ido en auge en nuestro país, y destacar que la balanza comercial de frutas y hortalizas continúa en crecimiento por cuarto año consecutivo (Eurostat, 2022).

La evolución de las exportaciones en toneladas, se puede decir que se han mantenido a lo largo de 2014 hasta 2021, fluctuando ligeramente de un año a otro. Pero si las exportaciones las evaluamos en millones de euros, la tendencia es al alza, es decir, en 2014 el valor total era de 11.935 millones de euros y en 2021 los valores son, en total de 18.032 millones de euros. En cuanto a las exportaciones, España es el primer exportador de la Unión Europea y ocupa la segunda posición a nivel mundial tras EE. UU.. Se exporta en torno al 50% de la producción. Algunas hortalizas de invernadero como la lechuga o el limón superan el 70% (Eurostat, 2022).

En cuanto a las principales frutas y hortalizas exportadas, la lechuga, cultivo estudiado en este trabajo, ocupa el cuarto lugar con más de 800.000 toneladas, quedando por detrás de la naranja, la sandía y el pimiento, sucesivamente (Eurostat, 2022).

Los principales destinos de exportación en 2021 corresponden en primer lugar a Alemania, que supone el 26%, seguido de Francia con un 18% y Reino Unido con un 11%.

En cuanto a las importaciones, se siguen situando ampliamente por debajo de las exportaciones, aunque mantiene una tendencia creciente en los últimos años, pasando en 2014 de 3.082.799 toneladas en total a 4.518.777 toneladas en 2021, en total. Y evaluando las importaciones, económicamente en 2014 el total es de 2.966 millones de euros y pasando en 2021 a 4.969 millones de euros en total (Eurostat, 2022).

Entre las principales frutas y hortalizas importadas se mantiene el aguacate cuya importación se incrementa un 23% interanual y pasa a situarse como tercer producto más importado. Los productos que hemos tratado en este trabajo están por debajo de las 100.000t y fuera de los diez principales productos importados.

En cuanto a los principales orígenes de importación en 2021, tenemos en primer lugar a Francia con un 24%, seguido de Marruecos con un 19% y Portugal con un 11% (Eurostat, 2022).

En la Comunidad valenciana, el valor económico de los cultivos de las hortalizas frescas ha ido en aumento de 2017 a 2021, pasando de 352.505 miles de euros a 441.839 miles de euros. En cuanto a la fruta fresca, ha habido más altibajos en los últimos cinco años, y supuso 247.796 miles de euros en 2021 (Instituto Valenciano de Estadística, 2021).

La superficie destinada en la Comunidad valenciana a las hortalizas es de 26.330ha y en cuanto a la superficie destinada a las fresones es de solo 8ha. (Instituto Valenciano de Estadística, 2021).

Estos datos ponen en relevancia la importancia que tiene este sector en la economía, tanto a nivel nacional como comunitario.

### 1.1.3 Desperdicio alimentario

Anualmente, en todo el mundo, se pierde un tercio de todos los alimentos producidos destinados a consumo humano, aproximadamente 1.300 millones de toneladas. Las frutas y hortalizas frescas (F&V) contribuyen en peso alrededor de un tercio del total de esos alimentos. (FAO, 2012).

Las pérdidas de alimentos en los países industrializadas son tan altas como en los países en desarrollo, pero hay que tener en cuenta que en los países en desarrollo más del 40 % de las pérdidas de alimentos se produce en las etapas de postcosecha y procesamiento, mientras que en los países

industrializados más del 40 % de las pérdidas de alimentos se produce en la venta minorista y el consumo. Los consumidores de los países industrializados desperdician casi la misma cantidad de alimentos (222 millones de toneladas) que la producción de alimentos neta total del África subsahariana (230 millones de toneladas). (FAO, 2012).

## 1.2 Calidad y Seguridad alimentaria en la comercialización de verduras y frutas

Las prácticas agronómicas de los cultivos y junto con su posterior procesamiento y comercialización influyen en las condiciones sanitarias del producto que llega a nuestros hogares. Por ello hay que evaluar la calidad microbiológica y así poder asegurar que los alimentos que consumimos, y en concreto las verduras de hoja y fresón de consumo en fresco, muestran una ausencia de microorganismos patógenos y por tanto son inocuos.

### 1.2.1 Indicadores de calidad

En este trabajo se han usado indicadores como *E. coli*, y estudiado la presencia de patógenos como *Salmonella spp.* y *Listeria spp.* que se describen a continuación. Los vegetales frescos son importantes como fuente de ETA (enfermedades transmitidas por alimentos) (OPS, 2023), y debido a que las bacterias entéricas son útiles para evaluar la seguridad sanitaria de los alimentos, en este trabajo se han usado indicadores entéricos, es decir coliformes totales y *E. coli* para poder analizar la calidad microbiológica de los vegetales de hoja y las fresones, tanto convenciones como ecológicas. (Vinueza, 2018) Otros microorganismos que se han usado como indicadores de la calidad en este trabajo son las bacterias viables mesófilas aerobias.

Los indicadores se usan para indicar que su presencia en los alimentos, muestran una exposición a condiciones que pueden introducir microorganismos patógenos y permitir su crecimiento. En este trabajo se ha usado como indicador entérico el recuento de coliformes, *Escherichia coli* y el de bacterias viables mesófilas aerobias. *E. coli* como indicador, pertenece a la familia *Enterobacteriaceae*, y las enfermedades alimentarias que transmite esta familia son principalmente *Escherichia coli* y *Salmonella spp.*, ente otras (Chapá *et al.*, 2005).

El origen de la contaminación de productos frescos puede ser fecal, por ejemplo, mediante el agua de riego, o debido a una manipulación no higiénica o un almacenamiento inadecuado (Ginestre, *et al.*, 2009).

*E. coli* es el indicador clásico de la posible presencia de patógenos entéricos en agua, moluscos, productos lácteos y en alimentos crudos. (Silva *et al.* 2004) Una forma de conocer la eficacia de la producción alimentaria es mediante la cuantificación de *E. coli*, si se hacen mediciones como puntos de control, esta es una buena herramienta de control para la producción de alimentos en fresco (Pascual *et al.*, 2015).

Los cultivos que se han tratado para estar libres de microorganismos, si presentan contaminación por *Enterobacteriaceae* o de coliformes o de aerobios mesófilos, es debido a una posible contaminación después del tratamiento, un tratamiento inadecuado o debido a una multiplicación microbiana (UNIVERSIDAD DE MURCIA, 2023).

Los límites microbiológicos utilizando el método analítico de referencia ISO 16649-1 o 2 que indican una contaminación de frutas y hortalizas troceadas listas para el consumo vienen recogidos en el Reglamento (CE) nº 2073/2005 de la Comisión, de 15 de noviembre de 2005. Según éste, un valor inferior a 100 ufc/g, es correcto. Si el resultado está entre 100 ufc/g y 1.000 ufc/g el resultado es aceptable, pero si sobrepasa de 1.000 ufc/g es inaceptable. En este trabajo se ha seguido este reglamento europeo. También existe una recomendación de expertos que indica que se permiten valores de hasta 10-100 ufc/g (Pascual, 1992).

El programa de control oficial de productos alimenticios 2002/C 216/05 (D.O.C.E. 12/09/2002) señala como microorganismos de interés a *Salmonella spp.*, *E. coli* O157: H7 y *Listeria monocytogenes*. Aunque no exista legislación europea que establezca criterios microbiológicos específicos sobre las frutas y verduras fresca, como se detallará más abajo, los brotes que se han producido a lo largo de los años en estos productos demuestran que se pueden contaminar por los microorganismos mencionados. En cuanto al resultado de coliformes, es aceptable el resultado hasta  $10^2$ - $10^4$  ufc/g (Pascual, 1992).

El método usado para la estimación de los viables mesófilos aerobios ha sido por el método tradicional de la siembra en profundidad. La presencia de estos microorganismos indica la existencia de potentes factores de contaminación (Silva *et al.* 2004) por lo que demuestran la necesidad de implementar las buenas prácticas agrícolas, así como pautas de Sistema de Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control (APPCC). Y para analizar los resultados, el resultado de los aerobios mesófilos es aceptable hasta  $10^2$  - $10^5$  ufc/g (Pascual, 1992).

Una buena forma de evitar la contaminación con estos patógenos es mediante unas buenas prácticas agrícolas en los cultivos, combinado con métodos higiénicos aceptables durante la cosecha, el empaquetado y el transporte de verduras y frutas. Así pues, se considera como prioritario, tener un adecuado conocimiento acerca de las prácticas de fertilización, cultivo y lavado de las verduras en el área de producción, así como aplicar las pautas y los procedimientos correctamente (Garrido *et al.*, 1993).

### 1.2.2 *Salmonella spp.*

El género *Salmonella* pertenece a la familia *Enterobacteriaceae*, además de que todas las cepas están agrupadas en dos únicas especies *S. Enterica* y *S. Bongori*, esta última no es patógena para el ser humano (OMS, 2018).

La enfermedad que producen las bacterias del género *Salmonella* en el ser humano es una infección gastrointestinal denominada salmonelosis que puede durar entre 3 y 7 días, y en la actualidad sigue siendo la segunda infección gastrointestinal más frecuentemente notificada en personas en la UE (MAPA, 2023).

Los alimentos con más probabilidad de estar contaminados por *Salmonella* son los alimentos procesados, seguidos de las carnes, huevos y lácteos (EFSA, 2023). En la tabla 1 se pueden ver los datos analizados por AESAN (Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición) en España durante el año 2020. Se observa que los alimentos que presentaron mayor contaminación por *Salmonella spp.* fueron los de origen cárnico. También se ha detectado contaminación por *Salmonella spp.* en frutas, verduras, zumos y semillas en un 0,23%.

Según la legislación alimentaria, reglamento (CE) Nº 2073/2005 de la Comisión, la *Salmonella spp.* debe ser ausente en todos estos productos.



Tabla 1. Datos obtenidos por AESAN. Muestras de alimentos analizadas en España en el año 2020

TIPO	Muestras analizadas	Muestras Positivas a <i>Salmonella</i> spp	% Positividad <i>Salmonella</i> spp
Alimentos infantiles y para usos nutricionales especiales	298	0	0,00%
Carne de ave y derivados	5.394	552	10,23%
Carne de cerdo y derivados	7.231	427	5,91%
Carne de otras especies y derivados	1.091	17	1,56%
Carne de vacuno y derivados	2.210	15	0,68%
Cereales, harinas y derivados	573	0	0,00%
Comida procesada, platos preparados y ensaladas “ready to eat”	3.357	11	0,33%
Frutas, verduras, zumos y semillas	1.293	3	0,23%
Huevos y ovoproductos	1.155	28	2,42%
Leche y productos lácteos	2.026	9	0,44%
Pescados y productos de la pesca	1.988	3	0,15%
Salsas, hierbas aromáticas y especias	939	37	3,94%
	<b>27.555</b>	<b>1.102</b>	<b>4,00%</b>

### 1.2.3 *Listeria monocytogenes*

La listeriosis es una enfermedad que se puede transmitir por comer alimentos contaminados, causado por la bacteria *Listeria monocytogenes*, que es una bacteria Gram positiva, con forma de bacilo corto, no formadora de esporas, anaerobia facultativa, que se multiplica en un amplio rango de pH y temperaturas, pudiendo multiplicarse incluso a temperaturas de refrigeración (entre 2°C-4°C), siendo su temperatura óptima de crecimiento entre 30°C y 37°C. El cocinado a temperaturas superiores a los 70º C durante 2 minutos destruye la bacteria (Carpentier y Barre, 2012).

Hay que considerar que la bacteria *Listeria monocytogenes* es capaz de formar biopelículas o biofilms en gran variedad de superficies utilizadas en la industria alimentaria. El biofilm otorga a la bacteria una mayor resistencia a la eliminación, pudiendo persistir tras la limpieza y desinfección (Torres, *et al.*, 2005).

Como características de esta bacteria destaca la resistencia a condiciones de acidez y bajas temperaturas, por lo que le ayuda a distribuirse por varios medios, en suelo, plantas, forraje, materia fecal, aguas residuales, agua y en lugares de elaboración de alimentos. Además de que se puede producir la contaminación después de haber cocinado los alimentos y antes de envasarlos. También se puede encontrar en muchos alimentos; como pueden ser, carnes, pescados ahumados, quesos (principalmente quesos tiernos) y verduras crudas (Gonçalves, *et al.*, 2014).

la listeriosis una enfermedad grave que puede presentar hospitalización y llegar a causar la muerte del paciente. En 2017 en la UE se notificaron unas 2.400 infecciones. Por otro lado, en 2021 la listeriosis fue la quinta zoonosis que más se notificó en la UE, con 2.183 casos, que comparándolo con los datos de 2020, representa un aumento del 14%. Esta enfermedad afectó principalmente a personas mayores de 64 años (EFSA, 2023).

Como prevención se recomienda unas prácticas de producción e higiene correctas, además de mantener las instalaciones en buen estado (DIARIO OFICIAL DE LA UNIÓN EUROPEA, 2017). El control de temperatura es fundamental durante la cadena de producción, distribución y conservación de los alimentos. También se deben mantener las temperaturas en los hogares de los consumidores.

Se recomiendan temperaturas bajas, la OMS (Organización Mundial de la Salud) recomienda mantener los alimentos por debajo de 5 °C.

### 1.3 Brotes de toxiinfección debidos a consumo de vegetales de hoja verde y fresones

A lo largo de los años, se han detectado graves brotes de *E. coli*, *Salmonella spp.* y *Listeria spp.* en frutas y verduras frescas tanto en Estados Unidos como en Europa. Se han dado casos graves que han afectado a la Salud Pública. A continuación, se enumeran algunos ejemplos de gran repercusión.

En cuanto a brotes por *E. coli* hay casos como el de lechuga romana cultivada en Yuma, Arizona (Mundell, 2018) y que afectó a 25 estados. Se confirmaron 121 personas contagiadas, de las cuales 52 personas fueron hospitalizadas y se produjo una muerte. Otro caso fue el brote de *E. coli* O157:H7 en espinacas (Yiannas, 2021) que se extendió por Iowa, Indiana, Michigan, Minnesota, Misuri, Ohio, Dakota del Sur, afectando a 10 personas. En Europa, hubo un brote de importancia de *E. coli* por consumo de lechuga en Finlandia (EFSA, 2020). Se registraron 57 casos con síntomas de diarrea, de los que once fueron hospitalizados y se notificaron dos muertes. Otro caso importante de *E. coli* fue originado por ensalada contaminada en Alemania (Vázquez y Fernández, 2014), que abrió la llamada crisis del pepino. Este brote causó 32 muertes en Alemania, y se descubrió finalmente que el origen de la intoxicación fue brotes de soja, alfalfa y otros vegetales contaminados por su cultivo inadecuado en la baja Sajonia.

Un brote de listeriosis importante se detectó en Estados Unidos por consumo de lechuga romana contaminada. Fue un caso multiestatal originario en Colorado y que se extendió a California. Esta bacteria ya había provocado la muerte de 13 personas que comieron melones contaminados y posteriormente se extendió a la lechuga romana (Ballesteros, 2019). Se le consideró el brote de listeriosis más letal desde 1998. Por otra parte, se detectó un brote de *Salmonella spp.* que afectó a cinco países europeos por consumo de lechuga Iceberg. Este brote causó más de 500 casos (Cortés-Higareda *et al.*, 2021).

En 2021, la salmonelosis fue la segunda enfermedad zoonótica más notificada en la UE, por detrás de *Campylobacter spp.*, con 60.050 casos, lo que representa un aumento del 14,3 % en la tasa de notificación en la UE en comparación con 2020 (EFSA, 2023).

#### 1.3.1 Importancia del consumo de fruta y verdura fresca en la seguridad alimentaria

El consumo de vegetales y de fruta en fresco es la base de nuestra alimentación, así como que aportan grandes beneficios para la salud; ya que nuestro cuerpo puede aprovechar mejor los nutrientes que nos aporta, además de que tienen mejores características organolépticas.

Por ello, es importante destacar en la existencia de brotes de enfermedades gastrointestinales relacionadas con la ingesta de frutas y verduras en fresco. Estos brotes se dan a pesar de las recomendaciones para la producción de alimentos con la mayor calidad microbiológica posible. Además de la contaminación durante el proceso productivo, también existe la posibilidad de que se contamine biológicamente durante la distribución y comercialización de estos alimentos. (Aguayo, 2020) Por lo que en cualquier punto del proceso se debe tener especial cuidado y atención y mantener los productos en las condiciones recomendadas de producción, transporte y almacenamiento (Merino, 2004).

Para poder realizar un consumo en fresco de frutas y verduras, es imprescindible tener un correcto desarrollo de programas para el análisis de peligros y puntos críticos de control (APPCC) y así reducir las enfermedades que se pueden transmitir en el consumo de productos frescos.

## 1.4 Objetivo desarrollo sostenible (ODS)

Los ODS fueron adoptados por las Naciones Unidas en 2015 como un llamamiento universal para poner fin a la pobreza, proteger el planeta y garantizar que para el 2030 todas las personas disfruten de paz y prosperidad. Así lo contempla la Resolución de las Naciones Unidas (UN) A/Res/70/L1 Transformar nuestro mundo: la Agenda 2030 para el Desarrollo Sostenible (NACIONES UNIDAS, 2015).

Este trabajo está relacionado con los siguientes ODS:

*ODS 2:* Poner fin al hambre, lograr la seguridad alimentaria y la mejora de la nutrición y promover la agricultura sostenible.

Gracias al crecimiento económico y al aumento de la productividad agrícola en las últimas dos décadas, disminuyó el número de personas desnutridas casi a la mitad (OMS, 2018) aunque se estima que 828 millones de personas sufrían hambre en el 2020. Además, aumentó la cifra en 150 millones desde el brote de la pandemia de la enfermedad por coronavirus (COVID-19) (OMS, 2022).

Los ODS buscan terminar con todas las formas de hambre y desnutrición para 2030, para esto hay que promover prácticas agrícolas sostenibles a través del apoyo a los pequeños agricultores y el acceso igualitario a la tierra, la tecnología y los mercados. También se requiere fomentar la cooperación internacional para asegurar la inversión en la infraestructura y la tecnología necesaria para mejorar la productividad agrícola (SDGF, 2023).

*ODS 12:* Garantizar modalidades de consumo y producción sostenibles.

Para lograr este cambio, es necesario reducir la huella ecológica mediante un cambio en los métodos de producción y consumo. La agricultura es el principal consumidor de agua en el mundo y el riego representa casi el 70 % de toda el agua dulce disponible para el consumo humano (UNDP, 2023).

Es importante que las industrias, los negocios y los consumidores se impliquen en el reciclaje y reducción de desechos. Al igual que apoyar a los países en desarrollo a avanzar hacia patrones sostenibles de consumo para 2030. Incluyendo reducir a la mitad el desperdicio de alimentos per cápita mundial en la venta al por menor y a nivel de los consumidores y reducir las pérdidas de alimentos en las cadenas de producción y suministro, incluidas las pérdidas posteriores a la cosecha. (NACIONES UNIDAS, 2018).

*ODS 15:* Gestionar sosteniblemente los bosques, luchar contra la desertificación, detener e invertir la degradación de las tierras y detener la pérdida de biodiversidad.

El 30% de la superficie terrestre está cubierta por bosques, que proporcionan seguridad alimentaria, refugio y ayudan a combatir el cambio climático. Pese a esto, cada año desaparecen 13 millones de hectáreas de bosque y la degradación persistente de las zonas áridas ha provocado la desertificación de 3.600 millones de hectáreas. (NACIONES UNIDAS, 2018).

Se deben tomar medidas urgentes para reducir la pérdida de hábitats naturales y biodiversidad que forman parte de nuestro patrimonio común y apoyar la seguridad alimentaria y del agua a nivel mundial, la mitigación y adaptación al cambio climático, la paz y la seguridad.

Con unas buenas prácticas agrícolas (BPA), buenas prácticas de higiene (BPH), cumplir con la calidad y seguridad alimentaria en producto convencional y ecológico, además de buscar una producción sostenible, se puede contribuir a mejorar las ODS marcadas por las Naciones Unidas.

Las buenas prácticas agrícolas son un conjunto de principios, normas y recomendaciones técnicas aplicables a la producción, procesamiento y transporte de alimentos, orientadas a asegurar la protección de la higiene, la salud humana y el medio ambiente, mediante métodos ecológicamente seguros, higiénicamente aceptables y económicamente factibles (FAO, 2012).

Las buenas prácticas de higiene son medidas y condiciones fundamentales aplicadas en cualquier fase de la cadena alimentaria para proporcionar alimentos inocuos e idóneos (CODEX ALIMENTARIUS, 2011).

## 2 Objetivos

El objetivo principal de este trabajo consiste en estudiar la calidad higiénico-sanitaria de las verduras de hoja y fresones que consumimos en crudo, tanto de producción convencional como ecológica. Estudiando la presencia de microorganismos viables mesófilos aerobios, coliformes y *E.coli*, así como la presencia de patógenos *Salmonella spp.* y *Listeria monocytogenes*.

Conociendo agronómicamente los cultivos sometidos al trabajo, y debido a la importancia de la seguridad alimentaria en el consumo en fresco de estos productos, el objetivo de este trabajo es conocer si el consumo en fresco afecta a la salud pública. Surge la incertidumbre, entre otros motivos, por los brotes de toxoinfección que han sucedido en el pasado por el consumo en fresco de estos vegetales de hoja y fresones.

## 3 Material y métodos

### 3.1 Muestras de verduras de hoja verde y fresones

El muestreo ha consistido en recoger semanalmente entre dos y cuatro productos distintos, dependiendo de la semana, desde el mes de octubre de 2022 a marzo de 2023, sumando un total de 37 muestras. Estas se han recopilado en diferentes tiendas y mercados de la ciudad de Valencia. La mayoría de las muestras han sido muestras de productos de cultivo convencional (34 muestras). Los vegetales analizados fueron los siguientes: espinaca (*Spinacia oleracea*), col rizada (*Brassica oleracea* var. *sabellica*), lechuga (*Lactuca sativa*), col blanca (*Brassica oleracea* var. *capitata*), col lombarda (*Brassica oleracea* var. *capitata f. rubra*) y fresón (*Fragaria × ananassa*).

En la tabla 2 se puede ver el desglose de las muestras y la fecha de procesado de las muestras analizadas.

El número de unidades que componían cada una de las muestras fueron, para el caso de la lechuga tres unidades, la espinaca fueron cinco unidades, la col cuatro unidades y las fresones 750g.

Este trabajo forma parte de un proyecto más grande, ECOFOOD, cuya finalidad era analizar si los productos ecológicos cumplen con la calidad y seguridad alimentaria y si son seguros para el consumo. Además de comparar los resultados con el cultivo convencional. Este trabajo se inició cuando solo quedaban tres muestras de cultivo ecológico por realizar.

Tabla 2. Datos de las muestras analizadas.

TIPO DE MUESTRA	TIPO CULTIVO	MUESTRA	MES MUESTREO	Año
<b>ESPINACA</b>	CONVENCIONAL	EF118	Oct	2022
	CONVENCIONAL	EF122	Nov	2022
	CONVENCIONAL	EF128	Nov	2022
	CONVENCIONAL	EF132	Ene	2023
	CONVENCIONAL	EF134	Ene	2023
	CONVENCIONAL	EF136	Feb	2023
	CONVENCIONAL	EF138	Feb	2023
	CONVENCIONAL	EF140	Feb	2023
	ORGÁNICO	EF123	Nov	2022
<b>LECHUGA</b>	CONVENCIONAL	EF120	Oct	2022
	CONVENCIONAL	EF121	Nov	2022
	CONVENCIONAL	EF125	Nov	2022
	CONVENCIONAL	EF126	Nov	2022
	CONVENCIONAL	EF127	Nov	2022
	CONVENCIONAL	EF131	Ene	2023
	CONVENCIONAL	EF133	Ene	2023
	CONVENCIONAL	EF135	Feb	2023
	CONVENCIONAL	EF137	Feb	2023
	CONVENCIONAL	EF139	Feb	2023
	ORGÁNICO	EF129	Dic	2022
<b>COL</b>	CONVENCIONAL	EF141	Feb	2023
	CONVENCIONAL	EF144	Mar	2023
	CONVENCIONAL	EF151	Mar	2023
	CONVENCIONAL	EF143	Feb	2023
	CONVENCIONAL	EF145	Mar	2023
	CONVENCIONAL	EF152	Mar	2023
	CONVENCIONAL	EF153	Mar	2023
	CONVENCIONAL	EF154	Mar	2023
	CONVENCIONAL	EF130	Dic	2022
	ORGÁNICO	EF124	Nov	2022
	CONVENCIONAL	EF119	Oct	2022
<b>FRESONES</b>	CONVENCIONAL	EF142	Feb	2023
	CONVENCIONAL	EF146	Mar	2023
	CONVENCIONAL	EF147	Mar	2023
	CONVENCIONAL	EF148	Mar	2023
	CONVENCIONAL	EF149	Mar	2023
	CONVENCIONAL	EF150	Mar	2023

La preparación de las muestras en el laboratorio de Microbiología de la ETSIAMN se realizó de forma aséptica en cabina de flujo laminar (Figura 1a). En primer lugar, todo el material necesario fue desinfectado bajo la luz ultravioleta. Seguidamente, se prepararon las bandejas previamente

desinfectadas con alcohol y en asepsia. Posteriormente, se cortaron las muestras con el material instrumental desinfectado en alcohol y en asepsia para evitar posibles contaminaciones. Para el caso de la espinaca, se le cortaron los tallos y se ha usado solo la hoja. Para el caso de la lechuga y las diferentes variedades de col, se desecharon las hojas exteriores y se usaron el resto. Para el fresón, solo se usó el tálamo abultado con los achenios. Las muestras fueron cortadas en tamaños de unos 5cm, mezcladas y medidas en las bolsas de Stomacher de forma aseptica. De cada muestra se pesaron 25g para realizar los recuentos de bacterias mesófilas viables aerobias, coliformes, *Salmonella spp.* y *Listeria mono cytogenes* según las normas UNE-EN ISO correspondientes. (Figura 1b).



Figura 1. a y 1b Preparación muestras y materiales usados para preparar las diluciones

## 3.2 Calidad e higiene sanitaria

### 3.2.1 Recuento de viables mesófilos aerobios

Para realizar el recuento de los viables se siguió la norma UNE-EN ISO 4833-1:2013. Consiste en el recuento de colonias a 30 °C incubadas durante 72h mediante la técnica de siembra en profundidad con el medio PCA (Plate Count Agar, Scharlau, Barcelona, España).

Brevemente, se cogieron 25g de la muestra vegetal preparada dentro de una bolsa de Stomacher y se le añadió 225ml de APT (agua de peptona tamponada, Scharlau, Barcelona, España) para preparar la dilución  $10^{-1}$ , y seguidamente se introdujo dentro del Stomacher (BAGPAGE, Interscience, BagSystem) durante 4 minutos, tiempo en el que se consiguió homogenizar todo el producto. Seguidamente, se realizaron las posteriores diluciones decimales seriadas hasta las que se consideraba que tendrían suficiente carga microbiana para los recuentos, siendo diferentes según el tipo de vegetal.

Se realizó la siembra de 1 ml de cada una de las diluciones en el medio Plate Count en profundidad y se realizó por duplicado. Las placas fueron incubadas a 30°C durante 72h.

Después de la incubación, se seleccionaron las placas que tenían entre 30 y 300 colonias para su conteo y para obtener el resultado se siguió la siguiente fórmula:

$$\frac{R1 + R2}{2} \times 10^{-x} = U.F.C/g$$

- R1: Resultado del conteo de una placa.
- R2: Resultado del conteo de la placa duplicada.
- X= Valor de la dilución escogida para el recuento.
- U.F.C unidades formadoras de colonias.



### 3.2.2 Recuento de coliformes (CC) y *Escherichia coli* (*E. coli*)

Para realizar las diluciones de los recuentos microbianos se siguió la norma UNE-EN ISO 9308-1:2014. Así, se cogieron 25g de la muestra preparada anteriormente, que estaban dentro de una bolsa de Stomacher y se le añadió 225ml de APT (agua de peptona tamponada, Scharlau, Barcelona, España) para preparar la dilución 10-1, y seguidamente se introdujo dentro del Stomacher (BAGPAGE, Interscience, BagSystem) durante 4 minutos, tiempo en el que se consiguió homogenizar todo el producto. Seguidamente, se realizaron las posteriores diluciones decimales seriadas hasta las que se consideraba que tendrían suficiente carga microbiana para los recuentos, siendo diferentes según el tipo de vegetal (González, 2013).

A partir de cada una de las diluciones decimales seriadas se sembró en superficie y por duplicado 1 ml en el medio CC (Microinstant®, Chromogenic Coliforms Agar Base, Scharlau, Barcelona, España) con el suplemento correspondiente según indica el fabricante (Microbiology Coliforms CV Selective Supplement, Scharlau, Barcelona, España).

Inoculadas las placas del medio CC, se llevaron a incubar a 37°C durante 24h.

Para la lectura de coliformes, se seleccionaron las placas que tenían entre 30 y 300 colonias. Las colonias de color rosa pertenecían a los coliformes y las de color azul violáceas indicaba una posible presencia de *E. coli*. (Martínez y Pachés, 2018).

Para obtener el resultado se siguió la siguiente fórmula:

$$\frac{r1 + r2}{2} \times 10^x = U.F.C/g$$

- R1: Resultado del conteo de una placa.
- R2: Resultado del conteo de la placa duplicada.
- X= Valor de la dilución escogida para el recuento.
- U.F.C unidades formadoras de colonias.

### 3.2.3 Detección de *Listeria monocytogenes*

Para la detección de *Listeria monocytogenes*. se ha seguido el método horizontal para la detección de *Listeria monocytogenes*, norma UNE-EN ISO 11290-1. Se preparó el preenriquecimiento, a la muestra de 25g se le añade 225ml de caldo Half-fraser (Chromogenic Listeria agar (ISO) base, United Kingdom) con el suplemento correspondiente (Half fraser Selective supplement, Scharlau, Barcelona). Se incubó a 30°C durante 24h. Después se realizó el enriquecimiento selectivo para ello se sembraron de 0,1ml en 10ml de caldo Fraser y se incubó a 37°C durante 24h. Paralelamente se realizó la siembra en agar ALOA (Chromogenic Listeria agar (ISO) base, Oxoid, United Kingdom) con el suplemento selectivo recomendado por el fabricante y el suplemento Brilliance Listeria diferencial. (Lepe-Balsalobre y Lepe, 2020).

Posteriormente, se realizó una segunda siembra con otro medio selectivo, el agar PALCAM (Palcam agar base, Scharlau, Barcelona) con el suplemento Palcam agar selective supplement. El enriquecimiento selectivo se hizo por duplicado. Ambos se incubaron a 37°C durante 24h o 48h. Seguidamente se realizó el aislamiento en agar ALOA y agar PALCAM, por duplicado, y se incubó a 37°C durante 24h o 48h. Las colonias típicas de *Listeria* en agar ALOA son azul turquesa; mientras que en agar PALCAM son de color verde con fondo negro alrededor. Una vez obtenida las colonias típicas, se subcultivaron entre una y cinco colonias características de cada medio de cultivo para la confirmación. Por último, se confirmó mediante pruebas bioquímicas.

Para la detección bioquímica de *Listeria monocytogenes* se usó la API® *Listeria* (Biomèrieux, France) (Figura 2). Se seleccionó una colonia aislada sembrada en agar ALOA, y se resuspendió en API®

suspension medium. Se rellenan los alveolos siguiendo las instrucciones del fabricante y se lleva a incubar a 37°C durante 24 horas. Pasado este tiempo se añaden los reactivos necesarios siguiendo las instrucciones del fabricante y la lectura se realiza mediante la aplicación APIWEB. Esta aplicación determina la probabilidad de que sean del género *Listeria spp.* y determina su especie.



Figura 2. Tira Api Listeria positiva. Fuente apiweb®

### 3.2.4 Detección de *Salmonella spp.*

Para la detección se ha seguido el método horizontal para la detección, enumeración y serotipado de *Salmonella spp.*, norma UNE-EN ISO 6579. Se prepara el preenriquecimiento, es decir a la muestra de 25g se le añade 225ml de APT y se incuba a 37°C durante 18h. Para el enriquecimiento selectivo se siembra 0,1ml en 10ml de caldo RVSv (Rappaport-Vassiliadis R10, BD DIFCO, EE. UU.) y se incuba a 41,5°C durante 24h. Por otro lado, se realiza el segundo enriquecimiento selectivo, 1ml en 10ml en caldo MKTTn (Muller Kauffman Tetrathionate broth base, Scharlau, Barcelona) y se lleva a incubar a 37°C durante 24h (Figura 3). A continuación, *Salmonella spp.* se aísla en agar XLD (Xylose, Lysine Deoxycholate agar, Scharlau, Barcelona) y en un segundo medio Salmonella Chromogenic Agar base, (Oxoid, United Kingdom) con el suplemento recomendado por el fabricante, (Salmonella Selective Supplement) y se incuban a 37°C durante 24h. Las colonias típicas de *Salmonella spp.* en agar XLD son de color rojo y en el medio cromogénico son de color violeta. Posteriormente, se subcultivó entre una y cinco colonias características de cada medio de cultivo para la confirmación bioquímica.



Figura 3. Material usado para el enriquecimiento selectivo de *Listeria* y *Salmonella*

La confirmación bioquímica en *Salmonella spp.* se realizó mediante la prueba TSI (Agar Triple Sugar Iron) y la Tira API® 20E.

La confirmación mediante TSI consiste en inocular en el fondo del tubo de agar inclinado una colonia sospechosa (fase anaeróbica), y seguidamente se siembra en estría en la parte superficial (fase aeróbica). (Figura 4).

EL TSI contiene tres carbohidratos: glucosa (0.1%), sacarosa (1%) y lactosa (1%). Cuando uno de los carbohidratos fermenta, la caída del pH provoca que el medio cambie de naranja rojizo (es el color original) a amarillo. Un color rojo intenso indica alcalinización de las peptonas. El tiosulfato de sodio del medio es reducido por *Salmonella spp.* a sulfuro de hidrógeno (H<sub>2</sub>S). Este sulfuro de hidrógeno reaccionará con los iones férricos en el medio para producir sulfuro de hierro, un precipitado negro insoluble (Lehman, 2005).

En el caso de que sea positiva para *Salmonella spp.*, las colonias presentes metabolizan la glucosa del TSI, pero no de la sacarosa ni la lactosa, por lo que al consumir la glucosa acidifican el medio y el fondo del tubo se vuelve de color amarillo. En la parte aeróbica se metabolizan las proteínas, por lo que las aminos se alcalinizan y la parte superficial se vuelve de color rojizo.

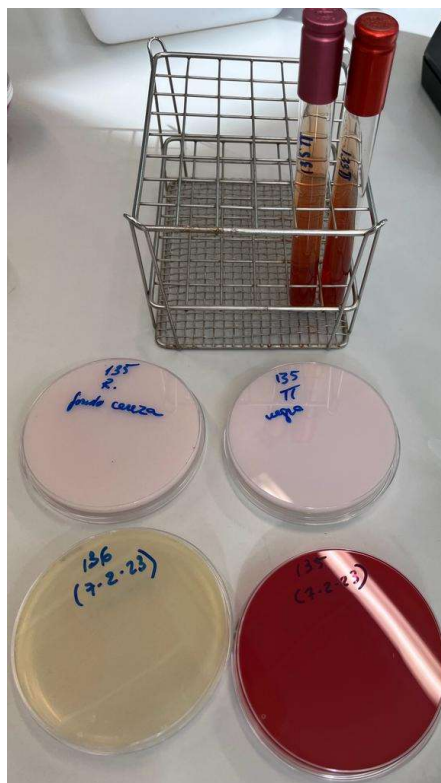


Figura 4. Siembra en TSI

La confirmación de *Salmonella* mediante el uso de la Tira API® 20E (Biomèrieux, France) consiste en 20 test bioquímicos miniaturizados (Figura 5). La colonia aislada en el medio se resuspende en 6ml de agua estéril y se rellenan los alveolos siguiendo las instrucciones del fabricante. La tira se lleva a incubar a 37°C durante 24h. Pasado este tiempo se añaden los reactivos siguiendo las instrucciones del fabricante y se obtiene la lectura mediante la aplicación APIWEB® (<https://apiweb.biomerieux.com>). Esta aplicación determina la probabilidad de que sean del género *Salmonella spp.* y determina su especie.



Figura 5. Ejemplo Tira API con resultado positivo para Salmonella. Fuente apiweb®

### 3.3 Analizar datos estadísticamente

Con los datos obtenidos durante los recuentos de CC y viables se realizó un análisis de varianza con el programa STATGRAPHICS Centurion XVIII (<https://statgraphics.net/>).

## 4 Resultados y discusión

### 4.1 Calidad higiénico-sanitaria de los vegetales

#### 4.1.1 Recuento de bacterias viables mesófilas aerobias

Una vez realizados los recuentos de microorganismos viables aerobios mesófilos se obtuvieron los resultados mostrados en la tabla.

El resultado del recuento de bacterias viables mesófilas aerobias por tipo de vegetal se encuentra en la tabla 3.

Del total de muestras analizadas, se ha observado que los recuentos más bajos correspondieron a los fresones, alcanzándose en estas como valores máximos de  $8,6 \times 10^4$  ufc/g.

En valores promedio, el fresón se mantiene en el valor más bajo, seguida por la col y la lechuga. El producto con recuentos más elevados de viables han sido las espinacas, llegando a alcanzar  $8,96 \times 10^7$  ufc/g.

Tabla 3. Resultados viables aerobios mesófilos por tipo de muestra

TIPO DE MUESTRA	MUESTRA	Total viables ufc/g
<b>ESPINACA</b>	EF118	1,56E+07
	EF122	2,26E+06
	EF123	8,96E+07
	EF128	1,49E+06
	EF132	9,75E+06
	EF134	3,20E+07
	EF136	1,18E+06
	EF138	1,14E+07
	EF140	8,56E+07
	<b>LECHUGA</b>	EF120
EF121		4,60E+07
EF125		6,40E+05
EF126		1,31E+07
EF127		4,44E+06
EF129		1,20E+07
EF131		6,25E+05
EF133		7,20E+04
EF135		6,50E+05
EF137		1,38E+07
<b>COL</b>	EF119	2,83E+06
	EF124	2,00E+03
	EF130	5,00E+05
	EF141	1,51E+05
	EF143	7,85E+05
	EF144	1,73E+05
	EF145	1,00E+03
	EF151	2,15E+04
	EF152	3,55E+04
	EF153	2,20E+04
<b>FRESONES</b>	EF142	3,00E+03
	EF146	3,50E+03
	EF147	0,00E+00
	EF148	0,00E+00
	EF149	8,60E+04
	EF150	3,50E+03

En la figura 6 se pueden observar los valores promedios de cada producto.

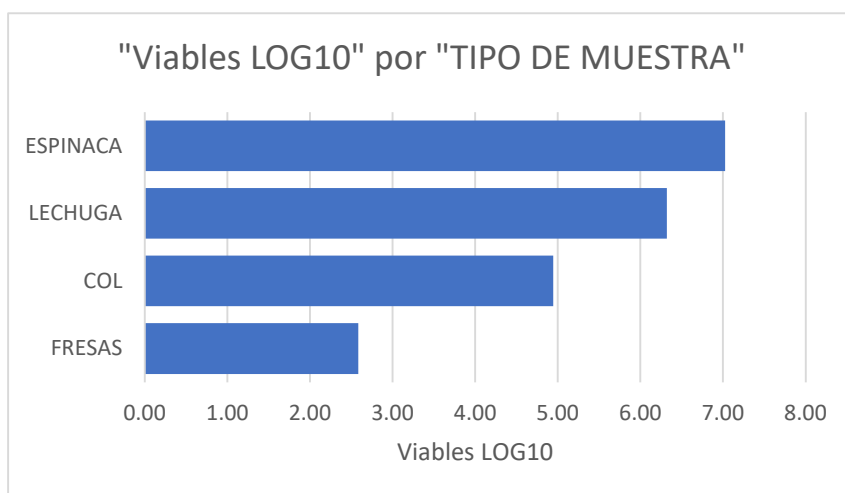


Figura 6. Valores promedio del recuento de viables de los vegetales estudiados

Como podemos observar en los datos, el resultado de viables para la espinaca es inaceptable para todos los casos, cuyos resultados están entre  $1,18 \times 10^6$  y  $8,96 \times 10^7$  ufc/g, ya que se consideran aceptables entre  $10^2$ - $10^5$  ufc/g (Pascual, 1992). Este resultado es similar para la lechuga, en el que solo el 9% de los resultados de viables son aceptables, cuyos valores se encuentran entre  $7,20 \times 10^4$  y  $4,6 \times 10^7$  ufc/g. Mientras que, en el caso de la col, el 46% de las muestras tomadas son aceptables, cuyos valores están entre  $1 \times 10^3$  y  $2,83 \times 10^6$  ufc/g. En el caso del fresón todos los resultados resultaron ser aceptables, ya que los valores no superaron  $8,6 \times 10^4$  ufc/g.

Se comparó los resultados de este estudio con uno en el que se estudió la calidad microbiológica de lechugas frescas de producción ecológica y convencional en España, en que los resultados de recuentos de aerobios mesófilos obtenidos en lechuga fresca fueron una media de  $8,7 \times 10^5$  (Oliveira *et al.*, 2010). Comparándolo con nuestros resultados, el promedio de aerobios mesófilos fue de  $2 \times 10^6$  ufc/g, por lo que los resultados de este estudio realizado en España son similares a los que hemos obtenido en este trabajo.

En otro estudio realizado en Cataluña, sobre la calidad microbiológica de frutas y hortalizas frescas y mínimamente procesadas, y germinados de establecimientos minoristas, los resultados fueron para la espinaca rallada  $3,1 \times 10^7$  ufc/g de microorganismos aerobios mesófilos. En nuestro caso, los datos que obtuvimos para la espinaca fueron de un promedio de  $1 \times 10^7$  ufc/g de microorganismos aerobios mesófilos. En cuanto a la lechuga recién cortada analizada en el estudio realizado en Cataluña, dieron un resultado de  $1,9 \times 10^6$  ufc/g para el recuento de microorganismos aerobios mesófilos. Como se puede observar, los resultados que hemos obtenido son similares los que se han obtenido en el estudio realizado en Cataluña (Abadias *et al.*, 2007).

También se comparó los resultados de este trabajo con otro estudio realizado sobre la calidad microbiana de varias hortalizas en Polonia. En el caso de la lechuga, el resultado medio de viables aerobios mesófilos obtenido por el estudio polaco fue de  $2,5 \times 10^6$  ufc/g mientras que en este trabajo fue de  $2 \times 10^6$  ufc/g (Szczech *et al.*, 2018).

En otro estudio en el que se estudiaron las diferentes variedades de vegetales de hoja vendidas en Brasil, la mayoría de los recuentos de bacterias aerobias mesófilas oscilaron entre  $1 \times 10^6$  y  $1 \times 10^7$  ufc/g (Maffei *et al.*, 2012). Comparando los resultados con este trabajo, se observa que la mayoría de los recuentos de bacterias aerobias mesófilas oscilaron entre  $1 \times 10^5$  y  $1 \times 10^8$  ufc/g por lo que son similares.

Los factores más importantes que controlan la velocidad de los cambios de deterioro y la proliferación de los microorganismos en los alimentos son la disponibilidad de agua, el pH y la temperatura (Maris *et al.*, 2004). En este estudio se han analizado los resultados obtenidos considerando los factores de pH y la temperatura.

Como se puede observar en los datos obtenidos por producto, podemos pensar que este resultado es debido al pH de la fruta y la verdura, ya que este tiene un efecto inhibitor de la proliferación de los microorganismos (Maris *et al.*, 2004). Los resultados obtenidos de bacterias viables mesófilas aerobias por tipo de muestra se relacionan con el valor del pH de cada producto. Así, el pH de la espinaca tiene un pH entre 5,5 a 6,8; el pH de la lechuga los valores son entre 5,8 a 6, el rango de la col va de 5,2 a 6 y para el fresón son entre 3 y 3,5 (FOOD-INFO,1999). El resultado de la espinaca es el que tiene el pH más básico y mayor resultado de viables respecto al resto de productos.

El pH óptimo para el crecimiento de la mayoría de las bacterias asociadas a alimentos está en el rango 6,5-7,5. Pero algunas bacterias patógenas pueden crecer a pH 4,2 y algunas bacterias alterantes pueden multiplicarse en condiciones muy ácidas (pH = 2,0) (Maris *et al.*, 2004).

Para vincular el resultado de los recuentos de bacterias aerobias mesófilas con la temperatura de cultivo y conservación de los vegetales, observamos la fecha de toma del muestreo. Como se puede apreciar en los resultados de la figura 7, para el caso de la espinaca, la lechuga y la col, los meses de frío es cuando se ha realizado el muestreo y se han mantenido altos durante estos meses. Es más, conforme se acercan los meses de calor, se observa un aumento de los recuentos especialmente en las coles. No obstante, el resultado no es significativo para la temperatura ya que necesitaríamos un muestreo mayor, que durase todo el año.

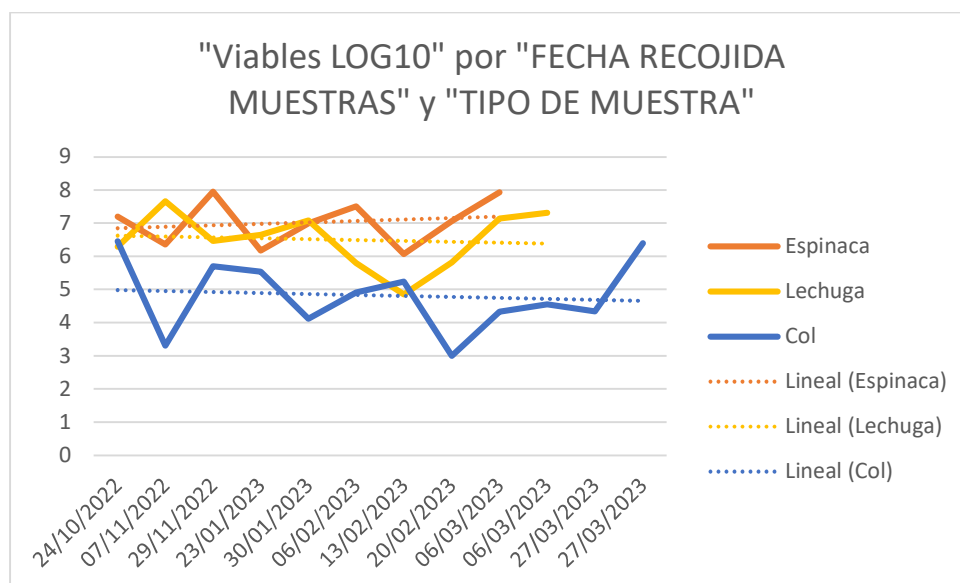


Figura 7. Viabiles log10 por fecha recogida muestras y tipo de muestra

Se ha procedido a realizar una Anova simple, con la variable dependiente Viabiles (Log) y con factor: Vegetal. El resultado de P ha sido 0,0000, con dos grupos homogéneos: la espinaca y la lechuga y dos independientes que son la col y el fresón.

Analizando estadísticamente los datos obtenidos durante el recuento, obtenemos la figura 8 con los intervalos basados en el procedimiento de la diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher; para la espinaca y la lechuga, sus intervalos se solapan, con lo que no hay diferencias estadísticamente



significativas entre ambos grupos. En cambio, la col y las fresones, que no se solapan con el resto, corresponde a pares de medias que tienen una diferencia estadísticamente significativa, es decir forman parte de otro grupo.

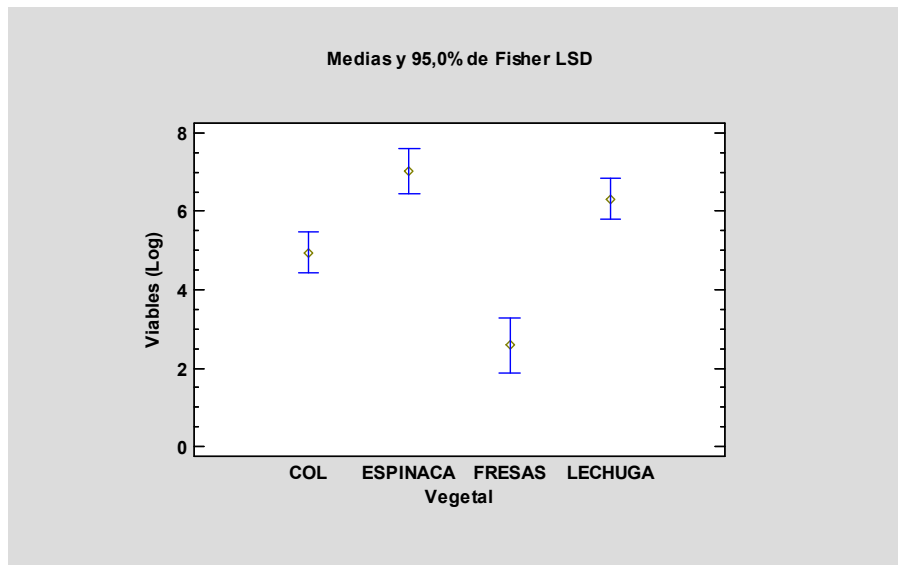


Figura 8. Media de Viabiles (Log) para cada uno de los niveles de Vegetal y fresones.

El motivo agronómico de que el resultado sea significativo estadísticamente para la espinaca y para la lechuga, es decir que pertenecen al mismo grupo, es debido a que, dentro de los vegetales de hojas, se caracterizan porque se pueden cultivar ambos en surcos, son sensibles al riego, sobre todo al encharcamiento y por eso se recomiendan suelos con buen drenaje (Japón, 1977). Otra característica de estos cultivos que los hace estadísticamente significativos es el tipo de hoja, que, aunque morfológicamente sean diferentes, ambos vegetales crecen en roseta y tienen un espesor similar de hoja (Irigoién y Muro, 2023). A la hora del consumo, solo se desprecia la primera o segunda hoja, y en ambos casos se consumen las hojas y el tallo.

La col es significativamente diferente, es decir estadísticamente pertenece a otro grupo posiblemente a las características agronómicas de este vegetal. Aunque es un vegetal de hoja y las necesidades de agua y suelo son similares a la lechuga y espinaca, la diferencia se encuentra en la hoja, es decir, forman un cogollo muy compacto, con gruesas nervaduras. Las hojas son grandes, carnosas y glaucas, con los nervios prominentes. Las basales pecioladas, liradas, con 1-2 segmentos laterales. La yema apical está atrofiada y por este motivo, las hojas abrazadoras forman un cogollo de hojas muy apretadas donde la guarda va a acumular reservas (UNIVERSIDAD PÚBLICA DE NAVARRA, 2023). Esta diferencia hace que el consumo de las hojas sea diferente, ya que se desaprovechan las hojas exteriores y solo se consumen las que forman el cogollo.

El resultado estadístico del fresón no es significativo con respecto a los otros grupos, pero se da la particularidad de que es un fruto y su producción es diferente al resto de vegetales de hoja. Como definición botánica tenemos que es un fruto falso. Pues está constituido por un receptáculo carnoso sobre el cual se colocan regularmente aquenios en los alvéolos profundos. Este fruto se define como poliaquenio (González *et al.*, 2020). Por este motivo la parte que se consume de la fresones es el tálamo abultado con los aquenios. Otro motivo de la diferencia de resultado frente a los vegetales de hoja es por el sistema de producción, que normalmente se usan sistemas bajo macrotúnel o sistemas en microtúnel, en este tipo de cultivo el fresón no suele estar en contacto directo con el suelo, ya que se usa el acolchado plástico, por lo que se eliminan algunos patógenos. (Romero y Suarez, 2018).

#### 4.1.2 Recuento de coliformes y *E. coli*

El resultado del recuento de coliformes y *Escherichia coli* de las muestras se muestra en la tabla 4.

Tabla 4. Resultados de los recuentos CC y *E. coli*

TIPO DE MUESTRA	MUESTRA	<i>E.coli</i> ufc/g	Coliformes totales ufc/g
<b>ESPINACA</b>	EF118	0,00E+00	2,50E+05
	EF122	0,00E+00	3,15E+05
	EF128	0,00E+00	7,35E+05
	EF132	0,00E+00	8,90E+05
	EF134	0,00E+00	2,50E+05
	EF136	0,00E+00	1,04E+06
	EF138	0,00E+00	3,05E+05
	EF140	0,00E+00	2,85E+06
	EF123	1,60E+03	7,20E+07
	<b>LECHUGA</b>	EF120	0,00E+00
EF121		0,00E+00	1,11E+07
EF125		0,00E+00	1,56E+05
EF126		0,00E+00	1,48E+06
EF127		0,00E+00	1,30E+06
EF131		0,00E+00	7,95E+05
EF133		0,00E+00	7,20E+02
EF135		0,00E+00	9,50E+04
EF137		0,00E+00	2,10E+06
EF139		0,00E+00	4,00E+03
<b>COL</b>	EF129	5,00E+03	2,40E+05
	EF141	0,00E+00	4,00E+02
	EF144	0,00E+00	5,85E+04
	EF151	0,00E+00	6,50E+03
	EF143	0,00E+00	1,95E+03
	EF145	0,00E+00	5,00E+01
	EF152	0,00E+00	1,90E+04
	EF153	0,00E+00	4,00E+03
	EF154	0,00E+00	0,00E+00
	EF119	2,50E+04	1,30E+05
<b>FRESONES</b>	EF130	0,00E+00	5,00E+05
	EF124	0,00E+00	1,00E+03
	EF142	0,00E+00	0,00E+00
	EF146	0,00E+00	0,00E+00
	EF147	0,00E+00	0,00E+00
	EF148	0,00E+00	0,00E+00
	EF149	0,00E+00	0,00E+00
	EF150	0,00E+00	0,00E+00

Se observa que la mayoría de los recuentos de coliformes totales de hortaliza oscilaron entre  $1 \times 10^3$  y  $7,2 \times 10^7$  ufc/g. Entre estas se encontraron tres muestras con presencia de *E. coli*. Los fresones no contenían ninguna enterobacteria lactosa positiva.

Por producto podemos ver que la espinaca es el producto con los recuentos de coliformes más elevados, seguidos de la lechuga, la col y los fresones. Al igual que el resultado de los viables, se puede señalar que este resultado está determinado por los valores de pH.

Para una muestra de col, una de espinaca y una de lechuga, el resultado de la carga microbiológica ha sido inaceptable, según el Reglamento (CE) nº 2073/2005, que indica que valores por encima de  $10^3$  ufc/g son inaceptables. La lechuga tiene el valor máximo de *E. coli* en la muestra EF129 con una carga de  $5 \times 10^3$  ufc/g. Con estos resultados, el producto debería crear una alerta alimentaria y retirarse los productos afectados del mercado, aunque antes, se necesitaría hacer una segunda comprobación para contrastar los resultados y proceder a la retirada si el resultado siguiese siendo superior a lo permitido según el reglamento.

Para el resultado de coliformes, los valores aceptables son los que se encuentran entre  $10^2$  y  $10^4$  ufc/g (Pascual, 1992) por lo que el 51% de las muestras tienen valores aceptables, para los productos de col, lechuga y fresón.

En el caso de la col son aceptables el 81% de las muestras, los valores aceptables de la lechuga son el 36% y los fresones todas han tenido un resultado aceptable. En el caso de las espinacas, el 100% ha tenido un resultado inaceptable.

Se comparó los resultados de este estudio con uno en el que se estudió la calidad microbiológica de lechugas frescas de producción ecológica y convencional en España, en que los resultados medios de coliformes obtenidos en lechuga fresca fueron  $6,3 \times 10^3$  ufc/g y *E. coli* se detectó en el 12,5% de los casos (Oliveira *et al.*, 2010). Comparándolo con nuestros resultados, el promedio de coliformes fue de  $1,9 \times 10^5$  ufc/g y *E. coli* se detectó en el 9,09% de los casos en la lechuga. Los resultados de este estudio realizado en España son similares a los que hemos obtenido en este trabajo, realizado en Valencia.

En un estudio realizado en Cataluña, España, sobre la calidad microbiológica de frutas y hortalizas frescas y mínimamente procesadas, y germinados de establecimientos minoristas, los resultados de coliformes fueron similares a los nuestros ya que para la espinaca rallada y la lechuga se obtuvieron valores de  $9,7 \times 10^5$  ufc/g y  $2,5 \times 10^4$  (Abadias *et al.*, 2007).

Por otra parte, el promedio de coliformes obtenido en este trabajo fue de  $1,58 \times 10^6$  ufc/g frente a  $1,4 \times 10^5$  ufc/g obtenido en un estudio similar realizado en Polonia (Szczech *et al.*, 2018).

En un estudio similar realizado en Brasil, la mayoría de los recuentos de coliformes totales oscilaron entre  $1 \times 10^4$  y  $1 \times 10^5$  ufc/g, y se encontró *E. coli* en el 40,0% de los vegetales y la mayoría de las muestras tenían recuentos que oscilaban entre  $1 \times 10^1$  y  $1 \times 10^2$  ufc/g (Maffei *et al.*, 2012). Comparando los resultados con este trabajo, se observa que la mayoría de los recuentos de coliformes totales oscilaron entre  $1 \times 10^3$  y  $1 \times 10^5$  ufc/g. Se encontró *E. coli* en el 11% de las muestras con recuentos de  $1 \times 10^3$  y  $2,5 \times 10^4$  ufc/g., por lo que los vegetales estudiados en este trabajo son similares para los recuentos de coliformes. Sin embargo, en nuestro caso hay varios vegetales (espinaca, lechuga y col) que han sido inaceptables por su presencia de *E. coli* mayor de  $10^3$  ufc/g.

El origen de la contaminación coliforme y *E. coli* en particular de los productos frescos analizados puede ser fecal, por ejemplo, mediante el agua de riego, o debido a una manipulación no higiénica o un almacenamiento inadecuado (Ginestre, *et al.*, 2009). Llama la atención que *E. coli* haya

sido detectado en dos de las tres muestras orgánicas analizadas. Esto podría ser debido a la ausencia de plaguicidas y antimicrobianos usados para su cultivo o el uso de fertilizantes de origen animal.

En la figura 9 se aprecia de forma más visual el resultado de coliformes por producto. Las espinacas tienen un valor de coliformes notablemente superior al resto de productos siendo inaceptable junto con el de las lechugas.

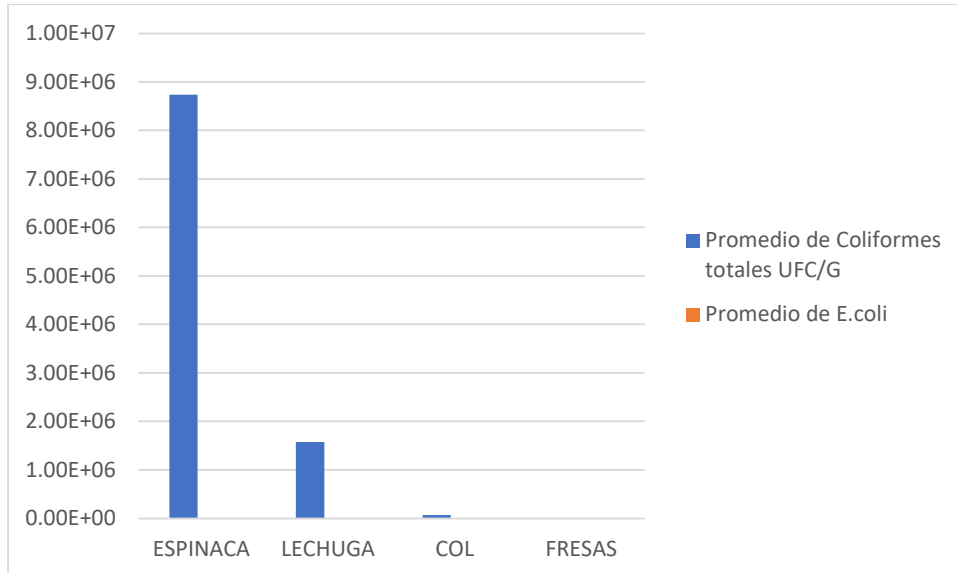


Figura 9. Promedio de Coliformes y *E. coli*

Estadísticamente, el resultado de la Anova Simple con variable dependiente: *E. coli* y Factor: Vegetal, con resultado de valor de P 0,6192 y F 0,6. La razón-F, que en este caso es igual a 0,600588, es el cociente entre el estimado entre grupos y el estimado dentro-de-grupos. Puesto que el valor-P de la razón-F es mayor o igual que 0,05, no existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de *E. coli* entre un nivel de Vegetal y otro, con un nivel del 95% de significación, por lo que podemos decir que todos pertenecen al mismo grupo estadístico, es decir tienen resultados similares. Se dice que la diferencia es estadísticamente significativa cuando es mayor de lo esperable que ocurra solamente por casualidad, por lo que el resultado que hemos obtenido en este caso muestra que las similitudes pueden haberse dado por casualidad. En la figura 10 podemos ver las medias y 95% de Fisher LSD.

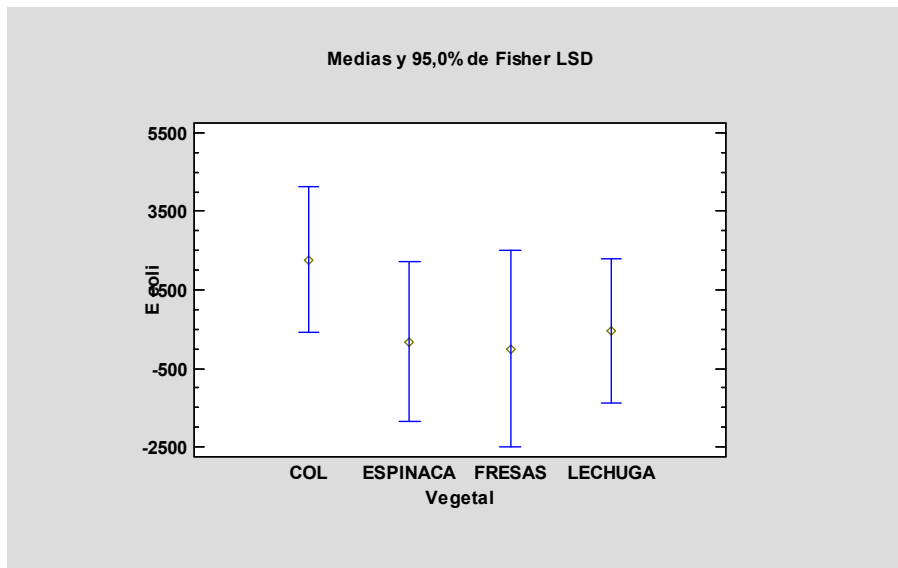


Figura 10. Media de E. coli para cada uno de los niveles de vegetales y fresón.

En cuanto al resultado estadístico de los coliformes, se ha realizado una Anova Simple con variable dependiente: Coliformes y Factor: Vegetal, con resultado de valor de P 0,3625 y F 1,10. Puesto que el valor-P de la razón-F es mayor o igual que 0,05, no existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de Coliformes entre un nivel de Vegetal y otro, con un nivel del 95% de significación. Por lo que podemos decir que todos forman parte de un mismo grupo. En la figura 11 podemos ver las medias y 95% de Fisher LSD.

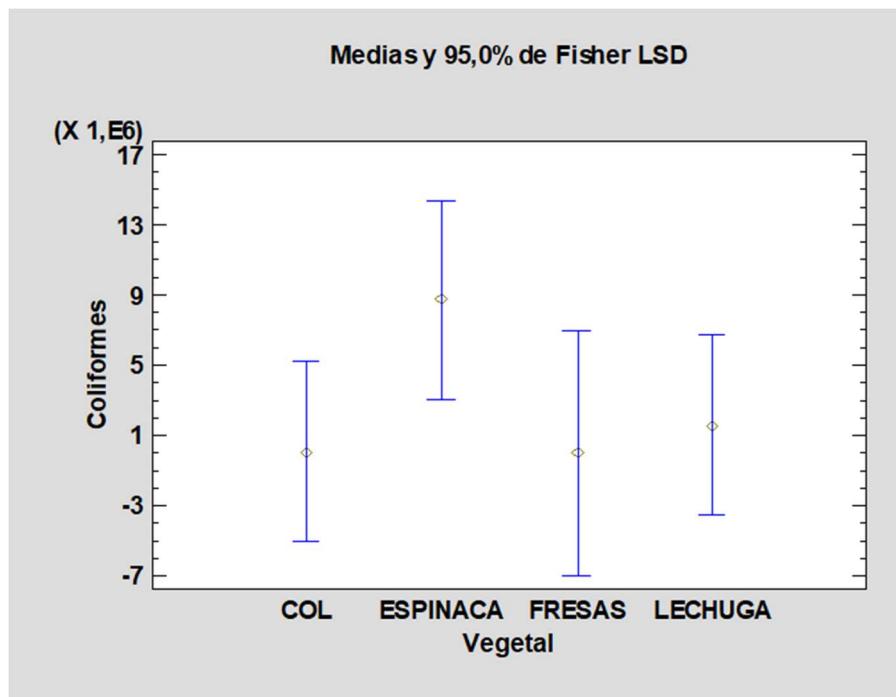


Figura 11. Media de Coliformes para cada uno de los niveles de Vegetal

#### 4.1.3 Detección de *Listeria spp.*

Seguendo el REGLAMENTO (CE) nº 2073/2005 DE LA COMISIÓN, se recomienda como objetivo que la concentración de *Listeria monocytogenes* en los alimentos se mantenga por debajo de 100

ufc/g. El Comité científico de alimentación humana (SCF) respaldó estas recomendaciones en su dictamen de 22 de junio de 2000.

En este estudio en todas las muestras analizadas el resultado para *Listeria monocytogenes* fue de AUSENCIA, ya que no ha habido ningún resultado positivo, por lo que su consumo es seguro para los colectivos más vulnerables que son embarazadas e inmunocomprometidos, aunque se aconseja siempre buenas prácticas para evitar cualquier contaminación.

Comparando nuestros resultados con otros estudios, en La Habana, Cuba, se analizó la incidencia de *Listeria spp.* en hortalizas frescas comercializadas y se detectó *Listeria monocytogenes*, siendo la conclusión del estudio que las muestras analizadas no poseen una buena calidad sanitaria (Martino et al., 2008).

Aunque el resultado sea ausente, se recomienda que las empresas alimentarias tomen siempre muestras de las zonas y el equipo de producción, como parte de su plan de muestreo, con el fin de detectar la posible presencia de dicha bacteria. REGLAMENTO (CE) nº 2073/2005 DE LA COMISIÓN.

#### 4.1.4 Detección de *Salmonella spp.*

Siguiendo la norma EN/ISO 6579 y el reglamento el REGLAMENTO (CE) nº 2073/2005 DE LA COMISIÓN, los valores aceptables de *Salmonella* en frutas y hortalizas troceadas es de AUSENCIA en 25g. En este estudio nos hemos basado en la categoría de frutas y hortalizas troceadas ya que son más restrictivos.

El resultado de *Salmonella spp.* para todas las muestras estudiadas fue de AUSENCIA. En la figura 12 podemos observar el resultado de algunas muestras negativas.

Aunque el resultado es negativo para *Salmonella spp.*, se recomienda un control de *Salmonella* y otros agentes zoonóticos específicos transmitidos por los alimentos en las fases pertinentes de la cadena alimentaria. Reglamento (CE) nº 2160/2003 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 17 de noviembre de 2003.



Figura 12. Resultado negativo en *Listeria monocytogenes* y *Salmonella spp.*

Comparando estos resultados obtenidos con otros estudios, en el caso de un estudio de fresones frescos y congeladas comercializadas en España, las muestras analizadas dieron negativo para *Listeria monocytogenes* y *Salmonella* (Ortiz-Solà et al., 2020).

En un estudio de diferentes variedades de vegetales de hoja vendidas en Brasil, tampoco se encontró *Salmonella* en ninguna muestra (Maffei et al., 2012).

Podemos concluir que, con respecto a *Salmonella spp.*, el consumo de estos vegetales es seguro, aunque las recomendaciones de lavado y cocción en aquellos casos que sea necesario son necesarias para evitar cualquier otra toxiinfección.

## 5 CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos para los recuentos de bacterias viables mesófilas han sido inaceptables para todas las muestras de espinaca, para el 91% de las muestras de lechuga y para el 54% de las coles, en el caso de su consumo en crudo se recomienda lavarlos y evitar contaminación cruzada. En los fresones, todos los resultados han sido aceptables, aunque se deben de mantener las medidas higiénicas habituales antes de su consumo.

Los resultados de *E. coli* solo han mostrado valores positivos en el 8,1% de las muestras, los cuales han presentado una carga microbiológica inaceptable. Los productos afectados han sido la espinaca, la lechuga y la col, se recomienda en estos vegetales buenas prácticas para su procesado.

En los resultados obtenidos en coliformes, los valores son inaceptables en el 100% de las espinacas, en el 64% de las lechugas, y en el 19% de las coles. Sin embargo, todos los fresones han tenido un resultado aceptable. Se recomienda lavarlos correctamente antes de su consumo en crudo. En el caso de la espinaca, como su consumo suele ser cocinado se pierde así el riesgo que supone su consumo en fresco.

Se analizaron tres muestras ecológicas, de las cuales una espinaca y una lechuga resultaron ser inaceptables para *E. coli*, aunque la muestra no resulta representativa en cuanto a muestras ecológicas llama la atención este resultado y se debería hacer más muestreos para comprobar si la incidencia se mantiene.

El resultado de *Listeria spp* y *Salmonella spp* ha sido de ausencia, lo que indica que las medidas tomadas para impedir la propagación microbiológica de estos patógenos han sido correctas. Por lo tanto, con estos resultados, podemos decir que en general, es seguro el consumo de estos productos, aunque hay que tener especial cuidado con la población de riesgo; niños pequeños, embarazadas y personas mayores.

Se recomienda mantener siempre unas buenas prácticas agrícolas y de higiene durante toda la cadena de producción, suministro y consumo. Controlar el agua de riego que esté libre de patógenos, así como el estiércol usado para los cultivos, ya que pueden favorecer a la proliferación de estos microorganismos. Además, se deben de realizar los pertinentes análisis por parte de las empresas alimentarias para garantizar un consumo seguro.



## 6 Bibliografía

ABADIAS, M.; USALL, J.; ANGUERA, M.; SOLSONA, C.; VIÑAS, I. (2007) Microbiological quality of fresh, minimally-processed fruit and vegetables, and sprouts from retail establishments. *International Journal of Food Microbiology*. Volume 123, Issues 1–2, 31 March 2008, Pages 121-129.

AGUAYO, E.P. (2020). Optimización de la cadena de valor del sector hortofrutícola desde una perspectiva holística: Análisis de ciclo de vida ambiental, social y económica. *Agencia estatal de investigación*. Referencia RTI2018-099139-B-C21.

ARAYA, J.E.; SANHUEZA, A.; GUERRERO, M.A. (2005). Efecto de varios insecticidas sobre adultos de *Apanteles glomeratus* (L.), parasitoide de larvas de la mariposa blanca de la col, *Pieris brassicae*. *MAPA. Boletín de Sanidad Vegetal - Plagas*, 2005, 31(4):617-622.

BALLESTEROS, J.M (2019). Listeriosis: realidad de un brote alimentario. *Sanid. Mil.* vol.75 no.4 Madrid oct./dic. 2019. Epub 22-Jun-2020.

BIANCHI, P.G. (2018). *Guía completa del cultivo de las fresas*. De Vecchi, Editorial, S.A. 96pp.

BLANCO, C.; DE LOS SANTOS, ROMERO, F. (2006). Enfermedades causadas por hongos de dispersión aérea en el cultivo de la fresa en la provincia de Huelva. *Phytoma*. Número de Edición: 176.

BUENO, M. (2002). El cultivo invernal de coles. *La Fertilidad de la Tierra Revista de Agricultura Ecológica*, ISSN: 1138-6193.

BUSTILLO, A.E. (2009). Evaluación de insecticidas químicos y biológicos para controlar *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae) en cultivos de espárragos. *Rev. Colomb. Entomol.* vol.35 no.1 Bogotá Jan./June.

CAECV (2020). Comité d'Agricultura Ecològica de la Comunitat Valenciana. Informe del Sector Ecológico de la Comunitat Valenciana 2020. *Generalitat Valenciana y CAECV*.

CARPENTIER, B.; Y BARRE L. (2012). Directrices sobre el muestreo de equipos y zonas de procesamiento de alimentos para la detección de *Listeria monocytogenes*, *Laboratorio de Seguridad Alimentaria de MaisonsAlfort*, ANSES, Francia. Versión 3.

CARRASCO, G.; SANDOVAL, C. (2016). *Manual práctico de cultivar lechuga*. Mundiprensa. 148pp.

CASTRESANA, J.; GAGLIANO, E.; PUHL, L.; BAD, S.; VIANNA, L.; CASTRESANA, M. (2008). Atracción del trips *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae) con trampas de luz en un cultivo de *Gerbera Jamesonii* (G.) IDESIA (Chile) Vol. 26, Nº 3; 51-56.

CHAPÁ, I.; SABATER, C.; CAMARÓ, M.L. (2005). Estudio de coliformes totales y *E. coli* en Aguas de Consumo Humano por NMP: Validación y Resultados. *Universitat Politècnica de València*. 10251/68702.

CODEX ALIMENTARIUS (2011) Principios generales de higiene de los alimentos cxc 1-1969. *FAO. OMS*. Adoptados en 1969. Enmendados en 1999. Revisados en 1997, 2013, 2020. Correcciones editoriales en 2011.

CORTÉS-HIGAREDA, M.; BAUTISTA-BAÑOS, M.; VENTURA-AGUILAR, R.I.; LANDA-SALGADO, P.; HERNÁNDEZ-LÓPEZ, M. (2021) Bacterias patógenas de los alimentos agrícolas frescos y mínimamente procesados. Estado actual en el control del género salmonella. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, vol. 22, núm. 1, 2021.

DIARIO OFICIAL DE LA UNIÓN EUROPEA. (2017). Nota de la Comisión sobre la Guía para combatir los riesgos microbiológicos en frutas y hortalizas frescas en la producción primaria mediante una buena higiene. IV. *Información procedente de las instituciones, órganos y organismos de la unión europea*. (2017/C 163/01).

FAO. (2012). Manual de Buenas Prácticas Agrícolas para el productor hortofrutícola. *Gobernación departamento central. Agricultura para el desarrollo. Ñemity*. FAO. 2ª Edición Proyecto. TCP/PAR/3303.

FAO. (2012). Pérdidas y desperdicio de alimentos en el mundo. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Estudio realizado para el congreso *internacional SAVE FOOD!* en Interpack 2012 Düsseldorf, Alemania.

GARRIDO S., COSTA, J. DIAZ, M.C. FERNANDEZ, C. GARCIA, J. J. GOMEZ, D. PARDO, A. SAAVEDRA, M. SUSO, M.L. VALERA, F. ZARAGOZA, C. (1993). Buenas prácticas agrícolas y medio ambiente. El control de las malas hierbas. LS.B.IV.: ts4-341-0788-0. N.LP.O.: 253-93-003-9 - Depósito legal: M. 23.304-1993.

GINESTRE, M.; ROMERO, S.; RINCÓN, G.; CASTELLANO, M.; ÁVILA, Y.; COLINA, G.; PEROZO, A.; (2009). Indicadores entéricos en vegetales frescos que se comercializan en mercados populares de Maracaibo. *Rev. Soc. Ven. Microbiol.* v.29 n.1 Caracas.

GONÇALVES, J. S.; CHEIRUBIM, A. P.; BRITO, K. C. T. de; BRITO, B. G. (2014). Detecção de *Salmonella spp* e *Listeria mo-nocytogenes* através de técnica de PCR. *Arq. Ciênc. Vet. Zool. UNIPAR, Umuarama*, v. 17, n. 4, p. 223-226, out./dez.

GONZÁLEZ, A. (2013). Investigación y recuento de enterobacterias lactosa-positivas: coliformes. *Universidad Politécnica de Valencia* 2013-07-04. 10251/30605.

GONZÁLEZ, J. E.; GARCÍA-MARÍ, F.; BENAGES E.; ORENGA, S. (1992). Control biológico del trips *Frankliniella occidentalis* (Pergande) en fresón. *Bol. San. Veg. Plagas*, 18: 265-288, 1992.

GONZÁLEZ, V.T.; SANTANA, J.E.; FORERO, J.R. (2020). Evaluación del efecto fungicida y acaricida de extractos naturales para el control de plagas en cultivos de fresa fragaria. © *Servicio Nacional de Aprendizaje – SENA*. ISBN: 978-958-15-0559-3.

HERMOSO DE MENDOZA, A.; ESTEVE, R.; LLORENS, J. M.; MICHELENA, J. M. (2012). Evolución global y por colonias de los pulgones (*Hemiptera, Aphididae*) y sus enemigos naturales en clementinos y limoneros valencianos. *Bol. San. Veg. Plagas*, 38: 61-71, 2012.

IRIGOIEN, I.; MURO, J. (2023). Presente y futuro del cultivo de la espinaca. *Departamento de producción agraria Universidad Pública de Navarra*. 46/Vida rural.

JAPÓN, J. (1977). La lechuga. Hojas divulgadoras Núm. 10177 HD. *Ministerio de Agricultura*.

JIMÉNEZ, J.; GIL, R.; FUENTES, L.S; BARRETO, C.; ESPINOSA, L.; ROMERO, M.; CARRILLO, M.; GARCÍA, M.; UBAQUE, H. (2007). Aporte al manejo integrado de plagas en cultivos ecológicos de hortalizas con énfasis en cultivos de lechuga. *Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano*.

JIMÉNEZ, J.; ARLAS, L.A.; ESPINOSA L.; FUENTES, L.S.; GARZÓN, C.; GIL, R.; NIÑO, N.; RODRÍGUEZ M. (2010). El cultivo de la espinaca (*Spinacia oleracea L.*) y su manejo fitosanitario en Colombia. *Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano*.

LEHMAN, D. (2005). Triple Sugar Iron Agar Protocols. *American Society for Microbiology*.

LEPE-BALSALOBRE, E.; LEPE, J.A. (2020). Retos actuales en la detección e identificación de *Listeria monocytogenes*. *Revista Madrileña de Salud Pública: REMASP*, ISSN-e 2659-9716, Vol. 3, Nº. 12, 2020, págs. 1-8.

LIERE, H. (2001). Efecto del nabo (*Brassica rapa*) sobre el parasitismo del pulgón *Brevicoryne brassicae* en coles (*Brassica oleracea* var., *italica* y var. *capitata*) en los Altos de Chiapas México. Tesis. *Universidad del Valle de Guatemala. Licenciatura en Biología. Facultad de Ciencias y Humanidades*. (58p.)

Lista comunitaria de sustancias activas aprobadas, excluidas y en evaluación comunitaria, sustancias de bajo riesgo, sustancias candidatas a la sustitución y lista de sustancias básicas. *Ministerio de agricultura, pesca y alimentación*. Reglamento (CE) no 1107/2009. 26 de mayo de 2023.

MAFFEI, D.F.; ARRUDA, N.F.; LONGO, M.P. (2012). Microbiological quality of organic and conventional vegetables sold in Brazil. *Food Control Volume 29, Issue 1, January 2013, Pages 226-230*.

MARIS, S.; GUERRERO, S.; BIBIANA NIETO, A.; VIDALES, S. (2004). Conservación de frutas y hortalizas mediante tecnologías combinadas. Manual de capacitación. *Servicio de Tecnologías de Ingeniería Agrícola y Alimentaria (AGST). Dirección de Sistemas de Apoyo a la Agricultura (AGS). FAO*.

MARTÍNEZ, M<sup>a</sup> R.; PACHÉS, M.A.V. (2018). Identificación y Recuento de *E. coli* y bacterias coliformes. *Universitat Politècnica de València* 2018-06-25.

MARTINO, T.K.; LEMUS, D.; LEYVA, V.; TEJEDOR, R.; REYES, M.; SOTO, P. (2008). Incidencia de *Listeria spp.* en hortalizas frescas. *Revista Cubana de Salud Pública*, vol. 34, núm. 4, diciembre, 2008, pp. 1-11. Sociedad Cubana de Administración de Salud. La Habana, Cuba.

MERINO, L.A. (2004). Importancia de los vegetales que se consumen crudos en la transmisión de enfermedades de origen alimentario. *Departamento de Bacteriología Instituto de Medicina Regional Universidad Nacional del Nordeste*.

MUNDELL, E.J. (2018) La granja de California vinculada con el brote de *E. coli* amplía la retirada más allá de la lechuga romana. *HealthDay. Consumer Health News (Spanish)*. GALE|A566368634.

NACIONES UNIDAS (2018). La Agenda 2030 y los Objetivos de Desarrollo Sostenible: una oportunidad para América Latina y el Caribe (LC/G.2681-P/Rev.3), Santiago.

NACIONES UNIDAS (2015). Transformar nuestro mundo: la Agenda 2030 para el Desarrollo Sostenible. Resolución aprobada por la Asamblea General el 25 de septiembre de 2015. *A/RES/70/L.1*.

OLIVEIRA, M.; USALL, J.; VIÑAS, I.; ANGUERA, M.; GATIUS, F.; ABADIAS, M. (2010) Microbiological quality of fresh lettuce from organic and conventional production. 2010 Aug; 27(5):679-84. doi: 10.1016/j.fm.2010.03.008. Epub 2010 Mar 25.

ORTIZ-SOLÀ, J.; VIÑAS, I.; COLÁS-MEDÀ, P.; ANGUERA, M.; ABADIAS, M. (2020). Occurrence of selected viral and bacterial pathogens and microbiological quality of fresh and frozen strawberries sold in Spain. *International Journal of Food Microbiology* Volume 314.

PÁEZ, J.L.; DUHARE, M. E.; VEGA, J. M.; MONTES, F. (1968). Fichas de diagnóstico en laboratorio de organismos nocivos de los vegetales. *Sphaerothea macularis (Wallr. ex [r.] lacz, Oidio*. Ficha 142. 1968.

PASCUAL, M.R. (1992). *Microbiología alimentaria: metodología analítica para alimentos y bebidas*. Díaz de Santos S.A. ISBN 84-7978-030-4. Madrid. 440pp.

- PASCUAL, M.R. CALDERÓN, V. (2015). *Microbiología alimentaria: metodología analítica para alimentos y bebidas*. 2ª Edición. Editorial Díaz de Santos, S.A. 84-7978-424-5. 440pp.
- REGLAMENTO (CE) Nº 2073/2005 DE LA COMISIÓN, de 15 de noviembre de 2005, relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios. *Diario Oficial de las Comunidades Europeas. Programa de control oficial de productos alimenticios 2002/C 216/05* (D.O.C.E. 12/09/2002). C216. 12 de septiembre de 2002.
- RODRÍGUEZ, R. (2008). Hongos fitopatógenos. *Universidad Nacional De Trujillo. Facultad de Ciencias Biológicas*. Perú.
- ROMERO, M.; SUÁREZ, E.M. (2018). Huella ambiental del cultivo de la fresa. *Centro IFAPA 'Camino de Purchil'*.
- SARFRAZ, M.; KEDDIE, A.; Y DOSDALL, L. (2005). Biological control of the *diamondback moth*, *Plutella xylostella*: A review. *Biocontrol Science and Technology*, December 2005; 15(8): 763/789.
- SERRANO, Z. Cultivo de la espinaca. Agente de extensión agraria. *Ministerio de agricultura*. 1976. Núm. 6/76 HD.
- SHOREY, H.H.; ANDRES, L.A.; HALE, R.L. (1962) The Biology of *Trichoplusia ni* (Lepidoptera: Noctuidae). I. Life History and Behavior. *Annals of the Entomological Society of America*, Volume 55, Issue 5, 1 September 1962, Pages 591–597.
- SILVA, J.; RAMÍREZ, L.; ALFIERI, A.; RIVAS, G.; SÁNCHEZ, M. (2004). Determinación de microorganismos indicadores de calidad sanitaria. Coliformes totales, coliformes fecales y aerobios mesófilos en agua potable envasada y distribuida en San Diego, estado Carabobo, Venezuela. *Rev. Soc. Ven. Microbiol.* v.24 n.1-2 Caracas ene. 2004.
- SZCZECH, M.; KOWALSKA, B.; SMOLIŃSKA, U.; MACIOROWSKI, R.; OSKIERA, M.; MICHALSKA, A. (2018). Microbial quality of organic and conventional vegetables from Polish farms. *Int J Food Microbiol.* 2018 Dec 2; 286:155-161. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2018.08.018.
- TORRES, D.; GOMIS, I.; FERRER, J.M. (2020). I Plan Valenciano de producción Ecológica Hacia la transición agroecológica. *Desarrollo rural y sostenible, Ministerio de Sanidad*. ISSN 2254-0857, Nº. 42, 2020. págs. 26-27 Dialnet.
- TORRES, K.; SIERRA, S.; POUTOU, R.; CARRASCAL, A.; MERCADO, M. (2005). Patogénesis de *Listeria monocytogenes*, microorganismo zoonótico emergente. *Rev.MVZ Córdoba* v.10 n.1 Córdoba jan. /jun.
- TREJO, H.; XAVIER, D. (2016). Evaluación de controladores Biológicos: *Trichoderma harzianum* y *Bacillus subtilis*, en el cultivo de fresa (*Fragaria vesca* L.) variedad Albión, para el control de podredumbre gris (*Botrytis cinerea*) en el Centro experimental San Francisco, Cantón Huaca, Provincia del Carchi. *Universidad politécnica estatal del Carchi*.
- UNIVERSIDAD DE MURCIA. (2023). T.10 Microorganismos marcadores. Microorganismos marcadores: Índices e indicadores. *Universidad de Murcia*.
- VÁZQUEZ, M.; FERNÁNDEZ A. B. (2014). La gestión comunicativa de la actividad mediática entre España y Alemania en el contexto de la crisis de los pepinos. *Historia y Comunicación Social* Vol. 19. Nº Esp. Enero (2014) 153-165.

VÁZQUEZ, L.; MURGUIDO, C.; IBIS, A.; ELÓSEGUI, O.; MORALES, F.J. (2007) Control Biológico de la mosca blanca *Bemisia tabaci*. Instituto de investigaciones de Sanidad Vegetal (INISAV) *Ministerio de Agricultura*.

VELANDIA, J.; GALINDO, R.; AVILA DE MORENO, C. (1998). Evaluación de la gallinaza en el control de *Plasmodiophora brassicae* en repollo. Agronomía colombiana. *Universidad Nacional de Colombia*. Vol. 15 No. 1 (1998). 1998-01-01.

VINUEZA, C. (2018). *E. coli* como indicador en la industria alimenticia: más allá del patógeno. *LinkedIn*. 14/02/2018.

ZAMORA, E. (2016). El cultivo del repollo. Serie guías - Producción de hortalizas DAG/HORT-011. *Universidad de Sonora*.

AESAN. (2023). Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición. Visitado 13/04/2023 <https://www.aesan.gob.es>

AESAN. Listeriosis (2022). Visitado 13/04/2023 [Aesan - Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición](#)

Análisis y Prospectiva en medio ambiente, agricultura, pesca, alimentación y desarrollo rural. (2023). Visitado 01/06/2023 <https://www.mapa.gob.es/es/ministerio/servicios/analisis-y-prospectiva/default.aspx>

BIOMÉRIEUX Tiras API (2023). Visitado 28/03/2023 <https://www.biomerieux.com/>

CDC (2023). La *Salmonella* y los alimentos. Visitado 04/02/2023 [La Salmonella y los alimentos | CDC](#)

EFSA (2023) Salmonela. Visitado 06/06/2023. <https://www.efsa.europa.eu/es/topics/topic/salmonella>

EFSA (2023). Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria. Listeria 26 mayo 2023. Visitado 01/06/2023 <https://www.efsa.europa.eu/es/topics/topic/listeria>

EFSA (2023). Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria. *Salmonella* 26 mayo 2023. Visitado 01/06/2023 <https://www.efsa.europa.eu/es/topics/topic/salmonella>

EFSA (2023) Brote(s) de *E. coli* productora de toxina Shiga. Visitado 01/06/2023 <https://www.efsa.europa.eu/es/topics/topic/shiga-toxin-producing-e-coli-outbreaks#:~:text=Todos%20los%20seres%20humanos%20y,son%20capaces%20de%20producir%20toxinas.>

EFSA (2023). EFSA explains zoonotic diseases. *E.coli*. 2012. Visitado 01/06/2023 [https://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/corporate\\_publications/files/factsheetecoli.pdf](https://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/corporate_publications/files/factsheetecoli.pdf)

EFSA (2020). Pathogenicity assessment of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) and the public health risk posed by contamination of food with STEC. <https://www.efsa.europa.eu/es/efsajournal/pub/5967>

EUROSTAT (2021). Visitado 10/05/2023 <https://ec.europa.eu/eurostat/data/database>

EUROSTAT (2022). Visitado 10/05/2023 <https://ec.europa.eu/eurostat/data/database>

EUROSTAT (2023). Visitado 10/05/2023 <https://ec.europa.eu/eurostat/data/database>

FAO (2021). Conversión de la agricultura convencional a la agricultura orgánica paso a paso. 2021. Visitado 03/12/2022 <https://teca.apps.fao.org/teca/pt/technologies/8600>

FAO (2022). La FAO y los Objetivos de Desarrollo Sostenible Visitado 12/12/2022 [La FAO y los Objetivos de Desarrollo Sostenible | FAO | Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura](#)

FAOSTAT (2020). Visitado 12/02/2023 <https://www.fao.org/faostat/en/#home>

FOOD-INFO (1999). ¿Cuál es el pH de los alimentos? Visitado 28/06/2023 <http://www.food-info.net/es/qa/qa-fp65.htm>

INE (2023). Instituto Nacional de Estadística. Comparativa de la superficie agrícola utilizada (SAU) ecológica con respecto al total de la SAU (ecológica+convencional) por tipos de cultivos y/o pastos. Visitado 27/05/2023 <https://www.ine.es/jaxi/Tabla.htm?tpx=51201&L=0>

INSTITUTO VALENCIANO DE ESTADÍSTICA (2023). CUENTAS ECONÓMICAS DE LA AGRICULTURA. Visitado 06/01/2023 <https://pegv.gva.es/es/temas/agriculturaganaderiaselviculturacazapescayacuicultura/cuentaseconomicas/cuentaseconomicasdelaagricultura>

INE (2023). Instituto Nacional de Estadística – Agricultura y medio ambiente. Visitado 27/05/2023. [http://www.ine.es/dyngs/INEbase/es/categoria.htm?c=Estadistica\\_P&cid=1254735727106](http://www.ine.es/dyngs/INEbase/es/categoria.htm?c=Estadistica_P&cid=1254735727106)

MAPA (2020). Visitado 01/02/2023 [Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación \(mapa.gob.es\)](#)

MAPA (2021). Cifras del Sector de Frutas y Hortalizas. Actualizado a 2021. Visitado 02/01/2023 [Frutas y hortalizas \(mapa.gob.es\)](#)

MAPA (2023). Estadísticas. Visitado 28/03/2023 [Contenidos principales \(mapa.gob.es\)](#)

MAPA (2023). *Salmonella*. Visitado 15/04/2023 [https://www.mapa.gob.es/es/ganaderia/temas/sanidad-animal-higiene-ganadera/sanidad-animal/enfermedades/salmonella/salmonella\\_general.aspx](https://www.mapa.gob.es/es/ganaderia/temas/sanidad-animal-higiene-ganadera/sanidad-animal/enfermedades/salmonella/salmonella_general.aspx)

OMS (2018). El hambre en el mundo sigue aumentando, advierte un nuevo informe de la ONU. Visitado 04/04/2023 <https://www.who.int/es/news/item/11-09-2018-global-hunger-continues-to-rise---new-un-report-says#:~:text=Los%20%C3%BAltimos%20datos%20indican%20que,el%20mundo%202018%20presentado%20hoy.>

OMS (2021). Informe de las Naciones Unidas: las cifras del hambre en el mundo aumentaron hasta alcanzar los 828 millones de personas en 2021. Visitado 18/02/2023. <https://www.who.int/es/news/item/06-07-2022-un-report--global-hunger-numbers-rose-to-as-many-as-828-million-in-2021>

OMS (2018). *Salmonella* (no tifoidea). 20 de febrero de 2018. Visitado 08/05/2023 [Salmonella \(no tifoidea\) \(who.int\)](#)

OMS (2022) Visitado 30/06/2023 <https://www.who.int/es>

OPS (2023). Organización Panamericana de la Salud. Enfermedades transmitidas por alimentos (ETA). Inocuidad de Alimentos - Control Sanitario – HACCP. Visitado 02/06/2023

[https://www3.paho.org/hq/index.php?option=com\\_content&view=article&id=10836:2015-enfermedades-transmitidas-por-alimentos-eta&Itemid=0&lang=es#gsc.tab=0](https://www3.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=10836:2015-enfermedades-transmitidas-por-alimentos-eta&Itemid=0&lang=es#gsc.tab=0)

SDGF (2023). Sustainable Development Goals Found. Visitado 24/05/2023 <https://www.sdgfund.org/es/objetivo-2-hambre-cero>

UNDP (2023). LOS ODS EN ACCIÓN. Visitado 18/02/2023 <https://www.undp.org/es/sustainable-development-goals>

UNE (2023). Normalización Española. Visitado 12/12/2022 <https://www.une.org/>

UNIVERSIDAD PÚBLICA DE NAVARRA (2023). Familia *Cruciferae*, *Brassica oleracea* L.: col. Visitado 30/06/2023 [https://www.unavarra.es/herbario/pratenses/htm/Bras\\_oler\\_p.htm](https://www.unavarra.es/herbario/pratenses/htm/Bras_oler_p.htm)

VALENCIA PLAZA (2023). La agricultura ecológica supera el 20% en la Comunitat y la facturación crece un 380%. Visitado 18/05/2023 <https://valenciaplaza.com/la-agricultura-ecologica-supera-el-20-en-la-comunitat-y-la-facturacion-crece-un-380>

YIANNAS, F. (2021). FDA (U.S. Food and Drug Administration). Visitado 04/02/2023 <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/la-fda-anuncia-la-investigacion-del-brote-de-e-coli-o157h7-vinculado-la-espinaca#:~:text=Enfermedades%20de%20EE.-,UU.,cepa%20del%20brote%20de%20E.>