

Análisis de la calidad sanitaria de nopal verdura en Otumba, Estado de México*

Analysis of the sanitary quality of nopal in Otumba, State of Mexico

Juan Gabriel Angeles-Núñez¹, José Luis Anaya-López¹, Ma. de Lourdes Arévalo-Galarza², Gabriel Leyva-Ruelas³, Socorro Anaya Rosales² y Talina Olivia Martínez-Martínez^{1§}

¹Campo Experimental Bajío- INIFAP. Carretera Celaya-San Miguel de Allende, km 6.5. C. P. 38110, Celaya, Guanajuato. Tel. 461 611 5323. Ext. 166, 212 y 123. (martinez.talina@inifap.gob.mx; angeles.gabriel@inifap.gob.mx; anaya.jose@inifap.gob.mx). ²Línea Prioritaria de Investigación en Inocuidad, Calidad de Alimentos y Bioseguridad (LPI-7), Campus Montecillo-Colegio de Postgraduados. Carretera México-Texcoco. km 36.5. Texcoco, México. C. P. 56230. (larevalo@colpos.mx; socoanaya@hotmail.com). ³Universidad Autónoma Chapingo. Carretera México-Texcoco. km 38.5. Texcoco, México. C. P. 56230 (gleyva_ruelas@hotmail.com). [§]Autora para correspondencia: martinez.talina@inifap.gob.mx.

Resumen

Para la exportación de nopal verdura, México debe cumplir con los requisitos sanitarios de cada país. Una forma de garantizar la inocuidad de este producto es implementar buenas prácticas agrícolas (BPA). Sin embargo, sólo unos pocos productores de nopal verdura poseen reconocimiento en BPA. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la calidad sanitaria de nopal verdura en punto de embarque de productores que usan BPA. Se seleccionaron al azar 10 productores de Otumba, Estado de México pertenecientes a una sociedad rural con reconocimiento BPA, y se tomaron muestras combinadas de nopal en punto de embarque durante los meses de comercialización de marzo de 2008 a mayo de 2009. Se determinó la carga de bacterias mesófilas aerobias (BMA), Coliformes totales (CT), *Salmonella* sp. y *Escherichia coli*, así como residuos de plaguicidas. Sólo 8% y 3% de las muestras rebasaron los límites especificados por la ICMSF en el conteo de BMA y CT, respectivamente. Una de las muestras colectadas en mayo de 2009 estuvo contaminada con *Escherichia coli*, y ninguna con *Salmonella* sp. Cinco productores rebasaron los límites permisibles de BMA, y dos los de CT en una de sus muestras. Estos casos se relacionaron con escasa higiene de los contenedores y el medio de transporte. Adicionalmente, se

Abstract

To export nopal, Mexico must meet the health requirements of each country. One way to ensure the safety of this product is to implement good agricultural practices (GAP). However, only a few have nopal producers BPA recognition. The aim of this study was to evaluate the sanitary quality of nopal shipping point for producers using BPA. We randomly selected 10 producers Otumba, State of Mexico belonging to a rural society with appreciation BPA, and sampled nopal combined shipping point during the months of March commercialization 2008 to May 2009. The load of aerobic mesophilic bacteria (BMA) was determined, Total Coliforms (TC), *Salmonella* sp. and *Escherichia coli*, as well as pesticide residues. Only 8% and 3% of the samples exceeded the limits specified by the count ICMSF BMA and CT, respectively. One of the samples collected in May 2009 was contaminated with *Escherichia coli*, and none with *Salmonella* sp. Five producers exceeded the permissible limits of BMA, and two those of CT in one of their samples. These cases were related to poor hygiene of containers and means of transport. Additionally, residues were detected one or more pesticides in 8% of the samples. Indicating partial

* Recibido: abril de 2013

Acceptado: noviembre de 2013

detectaron residuos de uno o varios plaguicidas en 8% de las muestras. Indicando el cumplimiento parcial de las BPA por estos productores en particular. Los resultados indican que el nopal verdura producido con BPA cumple con los requisitos sanitarios para exportación.

Palabras clave: *Opuntia ficus-indica*, buenas prácticas agrícolas, calidad microbiológica, residuos de plaguicidas, seguridad del consumidor.

Introducción

En México, la producción de hortalizas representa 1.6% del valor total de la producción nacional agrícola con un valor de más de 56 695 millones de pesos, y el nopal verdura (*Opuntia* spp.) se encuentra entre las 15 principales hortalizas cultivadas (SIAP, 2012). En las últimas dos décadas la incidencia de enfermedades gastrointestinales e intoxicaciones por el consumo de hortalizas ha incrementado considerablemente debido a la presencia de contaminantes biológicos o químicos (Johnston *et al.*, 2006; Tzschoppe *et al.*, 2012).

Aunque en México no existen registros de brotes de enfermedades causados directamente por el consumo de nopal verdura, desde el año 2000, el SENASICA promueve la implementación de sistemas de reducción de riesgos de contaminación (SRRC), con la finalidad de reducir el riesgo de contaminación en la producción de frutas y hortalizas. Los SRRC integran medidas y procedimientos para garantizar que las condiciones sanitarias durante el proceso de producción primaria sean óptimas, a través de la aplicación de BPA (DOF, 2007).

Dentro de los lineamientos para implementar los SRRC se requiere validar la ejecución de las BPA mediante el registro de las actividades y realizando periódicamente análisis microbiológicos y de residuos de plaguicidas. Los resultados de estos análisis deben cumplir con los límites máximos establecidos en la normatividad nacional o del país al que se desea exportar. Aunque México no se ha establecido ninguno de estos límites, algunas normas internacionales como las de la International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF, 2002), el Codex alimentarius (FAO-WHO, 2000), European Commission (EC, 2011), y la Environmental Protection Agency (EPA, 2011) indican los límites máximos permisibles de BMA, CT y residuos de plaguicidas.

fulfillment of GAP by these producers in particular. The results indicated that nopal produced with BPA meets the sanitary requirements for export.

Key words: *Opuntia ficus-indica*, good agricultural practices, microbiology, pesticide residues, consumer safety.

Introduction

In Mexico, vegetable production represents 1.6 % of total national agricultural production with a value of more than 56 695 million pesos, and prickly pear (*Opuntia* spp.) among the top 15 vegetables grown (SIAP, 2012). In the last two decades, the incidence of gastrointestinal diseases and poisoning by consumption of vegetables has increased considerably due to the presence of biological or chemical contaminants (Johnston *et al.*, 2006; Tzschoppe *et al.*, 2012).

Although in Mexico there are no records of outbreaks of diseases directly caused by the consumption of nopal, since 2000, SENASICA systems promotes the implementation of risk reduction of pollution (SRRC), in order to reduce the risk of contamination in the production of fruits and vegetables. The SRRC integrated measures and procedures to ensure that sanitary conditions during the primary production process are optimized through the application of EPS (DOF, 2007).

Within the guidelines to implement, the SRRC is necessary to validate the implementation of GAP by recording and performing regular activities microbiological and pesticide residue. The results of these analyzes must comply with the maximum limits established in national regulations or the country to which you want to export. Although Mexico has not established any of these limits, some international standards such as the International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF, 2002), Codex alimentarius (FAO-WHO, 2000), European Commission (EC, 2011), and the Environmental Protection Agency (EPA, 2011) indicate the maximum permissible limits of BMA, CT and pesticide residues.

In Mexico, the SRRC has been implemented on a larger scale in export crops such as pepper, broccoli, tomato, onion, tomato, and in recent years the traditional crops like nopal whose export demand has increased in recent years

En México, los SRRC se han implementado en mayor escala en cultivos de exportación como chile, brócoli, jitomate, cebolla, tomate, y en los últimos años a los cultivos tradicionales como el nopal verdura, cuya demanda de exportación ha incrementado en los últimos años (Callejas *et al.*, 2006), y que destaca desde épocas prehispánicas por su importancia cultural, alimenticia, y económica (Flores-Valdez, 2003). Tan solo en 2011, la superficie cultivada de nopal en México fue de más de 12,644 hectáreas, generando un valor de producción de \$ 1 340 millones de pesos (SIAP, 2012) y el sustento de alrededor de 2 500 productores de nopal (Terán-Varela y Alcántara-Hernández, 2009). El 86% de la producción nacional se concentró en el Distrito Federal, Morelos y el Estado de México (SIAP, 2012). Alrededor de 70% de la producción nacional se comercializa en la Central de Abasto de Iztapalapa, en la Ciudad de México (Saravia-Tasayco, 2002; Callejas *et al.*, 2006).

Mientras que los principales mercados internacionales son Estados Unidos de América, Canadá, Japón, España y Francia, con exportaciones de hasta 20 mil toneladas que generaron un valor de producción aproximado de \$ 50 millones de dólares. Sin embargo, el principal consumidor es Estados Unidos de América, quién importa aproximadamente 1 650 t en fresco y 4 000 t de productos procesados para abastecer el consumo de los connacionales que residen en este país y que se concentran en Los Ángeles, San Diego, Houston, Dallas, San Antonio y Chicago (Flores-Valdez, 2003; Ramírez *et al.*, 2012).

Hasta el momento no existen antecedentes de rechazo de cargamentos de nopal verdura por problemas de contaminación biológica; sin embargo, Hernández *et al.* (2009) determinaron que existe el riesgo de contaminación microbiológica por el contacto de los cladodios con agua de riego y suelo contaminado. En cuanto a contaminación química, la FDA (2013), documentó que en 2013 detectaron residuos de clorpirifós etílico en un cargamento de nopal producido en Chihuahua.

Aunque existe un sistema producto de nopal por estado, no todos los productores implementan los SRRC, lo que dificulta el control de la calidad sanitaria de su producción con fines de exportación. Para prevenir el rechazo del nopal verdura destinado al mercado internacional, desde 2007 algunas unidades de producción ubicadas en el Distrito Federal, Puebla, Zacatecas y Estado de México lograron el reconocimiento en la aplicación de BPA (SENASICA, 2007).

(Callejas *et al.*, 2006), and highlights from prehispanic times for its cultural, nutritional, and economic (Flores-Valdez, 2003). In 2011 alone, the area cultivated cactus in Mexico was more than 12 644 hectares, generating a production value of \$ 1 340 million pesos (SIAP, 2012) and the livelihoods of around 2500 nopal producers (Terán-Varela and Alcántara-Hernández, 2009). 86% of domestic production is concentrated in the Federal District, Morelos and the State of Mexico (SIAP, 2012). About 70 % of domestic production is sold in the Central de Abasto of Iztapalapa, in Mexico City (Saravia-Tasayco, 2002; Callejas *et al.*, 2006).

While major markets are USA, Canada, Japan, Spain and France, with exports up 20 000 tonnes, which generated a production, value of approximately \$ 50 million. However, the main consumer is the United States of America, who cares about 1 650 t 4 000 t fresh and processed products to the consumption of Mexican nationals living in this country and are concentrated in Los Angeles, San Diego, Houston, Dallas, San Antonio and Chicago (Flores-Valdez, 2003, Ramírez *et al.*, 2012).

So far, there is no history of rejection of shipments by nopal biological pollution problems; however, Hernández *et al.* (2009) determined that there is the risk of microbiological contamination by contact of the cladodes with irrigation water and contaminated soil. As for chemical contamination, the FDA (2013) documented that in 2013 detected ethyl chlorpyrifos residues in a shipment of nopal produced in Chihuahua.

Although there is a system nopal product by state, not all producers implement the SRRC, making it difficult to control the sanitary quality of their production for export. To prevent rejection of nopal destined for the international market, since 2007 some production units located in Mexico City, Puebla, Zacatecas, State of Mexico recognition achieved in implementing BPA (SENASICA, 2007).

The State of Mexico is the third largest producer of nopal vegetable, and contributes 8% of domestic production, some producers of top producing municipalities are located in Otumba, San Martín de las Pirámides, Temascalapa, Nopaltepec, Axapusco, and San Juan Teotihuacán were grouped into 134 organizations to facilitate the commercialization of this vegetable (SAGARPA, 2012). However, only a group of 14 farmers in rural society constituted PRONACUA, S C R L C V, and GAP achieved

El Estado de México es el tercer productor más importante de nopal verdura, y aporta 8% de la producción nacional, algunos productores de los municipios con mayor producción están ubicados en Otumba, San Martín de las Pirámides, Temascalapa, Nopaltepec, Axapusco, y San Juan Teotihuacan se agruparon en 134 organizaciones para facilitar la comercialización de esta hortaliza (SAGARPA, 2012). Sin embargo, solo un grupo de 14 productores constituidos en la sociedad rural PRONACUA, S. C. de R. L. de C. V., logró el reconocimiento en BPA durante 2008 y 2009. Este grupo de productores pioneros pueden servir de ejemplo a otros productores, motivándolos a implementar los SRRC, y permitir la apertura de nuevos canales de comercialización que abastecen a los sectores que demandan productos inocuos.

De manera que la implementación de BPA en las unidades de producción de nopal verdura, debería reducir los riesgos de contaminación y permitir el cumplimiento de los límites microbiológicos y de residuos de plaguicidas establecidos en la normatividad nacional e internacional. Por lo que el objetivo del presente trabajo fue evaluar la calidad microbiológica y toxicológica de nopal verdura en punto de embarque de productores que usan las BPA como parte de sus SRRC.

Materiales y métodos

Productores participantes

Este trabajo se realizó con la participación de productores cooperantes de la sociedad rural PRONACUA, S. C. de R. L. de C. V, ubicada en el municipio Otumba, Estado de México. En la fecha en que se realizó el estudio, esta organización estaba integrada por 14 productores de nopal, cuyas unidades de producción fueron reconocidas por el SENASICA en la aplicación de BPA. Los muestreos se realizaron con base en la disposición de los productores y la disponibilidad de materia prima. En 2008, las fechas de muestreo fueron el 10 de marzo, 13 de junio, 02 de septiembre, y 21 de octubre, mientras que en 2009 el 21 de enero y 15 de mayo.

Calidad microbiológica

Se eligieron al azar 10 productores participantes, a los que se les identificó numéricamente del 1 al 10. Se tomaron muestras combinadas de nopal de 1 kg a partir de cajas provenientes de las unidades de producción de cada productor, que se encontraban colocadas en vehículos con

reconocimiento en 2008 and 2009. This pioneering producer group can serve as an example to other producers, encouraging them to implement the SRRC, and allow opening new marketing channels that cater to demand safe products sectors.

Therefore, the implementation of GAP in production units of nopal should reduce the risks of contamination and enable compliance with the microbiological limits for pesticide residues established by national and international standards. So the aim of this study was to evaluate the microbiological and toxicological quality nopal shipping point for producers using GAP as part of their SRRC.

Materials and methods

Producers participating

This work was conducted with the participation of cooperating producers of rural society PRONACUA, S C R L C V, located in the municipality Otumba, State of Mexico. At the time the study was conducted, this organization had 14 members of nopal producers, whose production units were recognized by SENASICA in implementing BPA. Sampling was conducted based on the willingness of producers and raw material availability. In 2008, sampling dates were March 10, June 13, September 02, and October 21, while in 2009 the January 21 and May 15.

Microbiological quality

10 were randomly selected participating farmers, who are identified numerically from 1 to 10. Combined samples were nopal 1 kg boxes from units from each producer, which were placed in vehicles cooling system, ready for shipment to domestic and international markets, in such a way that the end of the study analyzed 60 samples.

Microbiological quality was determined by aerobic mesophilic bacteria count (BMA), total coliforms (TC), and the detection of *Salmonella* sp. Dilution was prepared primary (1:10) by mixing 25 g of sample with thorns nopal 225 mL casein peptone (BD Bioxon®) at 0.1 %. The mixture was homogenized for 1 min at 200 rpm in a glass blender previously sterilized using an aluminum blender with two speed motor 400 watts. Subsequently, decimal dilutions from 10⁻¹ to 10⁻⁴ (Pascual and Calderón, 2000). All incubations

sistema de refrigeración, listas para su envío al mercado nacional e internacional; de tal forma, que al finalizar el estudio se analizaron un total de 60 muestras.

La calidad microbiológica se determinó mediante el recuento de bacterias mesófilas aerobias (BMA), coliformes totales (CT), y la detección de *Salmonella* sp. Se preparó una dilución primaria (1:10) mezclando 25 g de muestra de nopal verdura con espinas en 225 mL de peptona de caseína (BD Bioxon®) al 0.1%. La mezcla se homogenizó por 1 min a 200 rpm en un vaso de licuadora de aluminio previamente esterilizado, se utilizó una licuadora Oster® de dos velocidades, motor de 400 watts, mod. 450-20. Posteriormente, se prepararon diluciones decimales de 10^{-1} a 10^{-4} (Pascual y Calderón, 2000). Todas las incubaciones a 37 °C se realizaron en incubadora (Thermo Scientific®, modelo 3EG). El recuento de BMA se realizó en placas Petrifilm™ 3M (Saint Paul, MN, USA), para lo cual se sembraron por triplicado alícuotas de 1 mL de las diluciones 10^{-2} , 10^{-3} y 10^{-4} , y se incubaron a 37 °C durante 24 h. Los resultados se expresaron como unidades formadoras de colonias por gramo de muestra (UFC g⁻¹) (AOAC, 2000).

Para la detección de CT se inoculó por triplicado 1 mL de caldo lauril sulfato triptosa (Bioxon®) con las diluciones 10^{-2} , 10^{-3} y 10^{-4} , se colocaron tubos Durham para la detección de gas, y se incubaron a 37 °C por 48 h. Los resultados se expresaron como log¹⁰ del número más probable por gramo de muestra (logNMP g⁻¹). Para fines de discusión, el NMP g⁻¹ (cantidad de bacterias posiblemente presentes en un gramo muestra) se comparó con UFC g⁻¹ (número de colonias por gramo de muestra), considerando que una bacteria viable forma una colonia.

La presencia de *Escherichia coli* se determinó a partir de los tubos que fueron positivos a CT. Se sembraron tres azadas en caldo EC (Merck®), se incubaron a 45.5 °C en baño maría por 48 h, posteriormente, se tomó una azada de los tubos positivos (con gas dentro de los tubos Durham) y se resembró en medio de caldo lauril sulfato de sodio, inmediatamente se procedió al aislamiento y diferenciación de la bacteria en placas con agar eosina azul de metileno (EMB, BD Bioxon®). La confirmación se hizo mediante las pruebas bioquímicas IMViC (Pascual y Calderón, 2000).

La detección de *Salmonella* spp., se realizó conforme a la Norma NOM-114-SSA1-1994 (DOF, 2005). Debido a la restricción normativa por la presencia de *Salmonella* en alimentos, la confirmación de las colonias presuntivas se realizó por reacción en cadena de la polimerasa (PCR por

at 37 °C were performed in an incubator (Thermo Scientific® model 3EG). BMA count was performed on 3M Petrifilm plates (Saint Paul, MN, USA), for which were planted in triplicate aliquots of 1 mL of the dilutions 10-2, 10-3 and 10-4, and incubated at 37 °C for 24 h. The results were expressed as colony forming units per gram of sample (CFU g⁻¹) (AOAC, 2000).

For the detection of CT was inoculated in triplicate 1 mL lauryl sulfate tryptose broth (Bioxon®) dilutions 10-2, 10-3 and 10-4, Durham tubes were placed for detecting gas, and incubated at 37 °C for 48 h. The results were expressed as log₁₀ most probable number per gram of sample (g logMPN⁻¹). For discussion purposes, the MPN g⁻¹ (number of bacteria possibly present in one gram sample) was compared with CFU g⁻¹ (number of colonies per gram of sample), considering that a viable bacteria form a colony.

The presence of *Escherichia coli* was determined from the tubes that were positive for CT. Three hoes seeded EC broth (Merck®), incubated at 45.5 °C in a water bath for 48 h later took hoe positive tubes (with gas within the tubes Durham) and replanted amid sodium lauryl sulfate broth immediately proceeded to the isolation and differentiation of bacteria on plates with eosin methylene blue agar (EMB, BD Bioxon®). The confirmation was made by biochemical tests IMViC (Pascual and Calderón, 2000).

Detection of *Salmonella* spp., was made according to NOM-114-SSA1-1994 (DOF, 2005). Due to the restriction rules for the presence of *Salmonella* in foods, confirmation of presumptive colonies was performed by chain reaction (PCR). DNA extraction was performed from a bacterial culture grown on 1.5 mL of Luria Bertani (LB) at 37 °C for 18 h. The bacteria were recovered by centrifugation at 8000 rpm for 5 min, and the pellet was washed twice with bacterial distilled water. The bacteria were lysed by resuspending the bacterial pellet in 1 mL of distilled water and heating at 95 °C for 5 min in a water bath. Once cooled the sample was centrifuged at 13 000 rpm for 10 min, the supernatant was transferred (DNA problem) to sterile microfuge tubes and stored frozen until used in PCR amplification.

Stn 571 initiators were used (5'-GCGGTCGGTCCCCTTTCTTTTG-3') and Stn 971 (5'-ACTACCTGCTCTCGCCCAATGCTT-3'), which amplify a 260 bp fragment of the gene stn. The amplification reactions contained 3 µL DNA problem, one of the

sus siglas en inglés). La extracción de ADN se realizó a partir de un cultivo bacteriano crecido en 1.5 mL de medio Luria Bertani (LB) a 37 °C por 18 h. Las bacterias se recuperaron por centrifugación a 8000 rpm por 5 min, y se lavó la pastilla bacteriana dos veces con agua destilada. Las bacterias se lisaron resuspendiendo la pastilla bacteriana en 1 mL de agua destilada y calentando a 95 °C durante 5 min en baño María. Una vez fría la muestra, se centrifugó a 13 000 rpm por 10 min, se transfirió el sobrenadante (ADN problema) a tubos de microcentrífuga estériles y se guardó en congelación hasta su uso en la amplificación por PCR.

Se usaron los iniciadores Stn 571 (5'-GCGGTCGGTCCCACTTTCTTTG-3') y Stn 971 (5'-ACTACCTGCTCTCGCCCAATGCTT-3'), que amplifican un fragmento de 260 bp del gen *stn*. Las reacciones de amplificación contenían 3 µL del ADN problema, 1 µL de los oligonucleótidos Stn 10 pmol, 3 µL de buffer 10X para Taq Polimerasa, 2.5 µL de dNTPs 2.5 mM, 2.1 µL de MgCl₂ 25 mM, 0.3 µL de Taq Polimerasa 1.5 U y 17.1 µL de H₂O, para un volumen final de 30 µL. La amplificación se realizó en un termociclador (BIORAD®) y consistió de un ciclo de desnaturalización inicial a 94 °C por 5 min, seguidos por 25 ciclos de 94 °C por 1 min; 55 °C por 1 min; 72 °C por 1 min y un periodo final a 72 °C por 5 min. Se utilizó un control positivo (ADN de *Salmonella snt+*), un negativo (ADN de *Salmonella snt-*), así como un testigo adicional de uso común en el laboratorio. Los productos de amplificación fueron sometidos a electroforesis en geles de agarosa al 1% y teñidos con bromuro de etidio. Se utilizó un marcador de 100 pb (Gibco BRL Rockville, Md.) para la detección de los tamaños de los productos de PCR. Los resultados se observaron mediante un transiluminador de luz UV y las imágenes fueron capturadas con un fotodocumentador EDAS 290 (Kodak).

Análisis estadístico

El análisis estadístico de los resultados de las variables respuesta BMA y CT en nopal verdura, se realizó mediante un análisis de varianza (ANOVA). Para determinar diferencias significativas en las cargas microbianas entre las fechas de muestreo y entre productores, se utilizó la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$), con el Programa SAS 9.0 (SAS Institute Inc., 2002).

Calidad toxicológica

Para determinar la presencia de residuos de plaguicidas organoclorados, organofosforados, organonitrogenados y piretroides se utilizó el método de multiresiduos de la FDA

oligonucleotides PL Stn 10 pmol, 3 L of 10X Taq polymerase buffer, 2.5 L of 2.5 mM dNTPs, 2.1 L of 25 mM MgCl₂, 0.3 L of 1.5 U Taq Polymerase and 17.1 L of H₂O to a final volume of 30 µL. Amplification was performed in a thermal cycler (BioRad®) and consisted of one cycle of denaturation at 94 °C for 5 min, followed by 25 cycles of 94 °C for 1 min, 55 °C for 1 min, 72 °C for a period of 1 min at 72 °C for 5 min. We used a positive control (+ SNT *Salmonella* DNA) a negative one (SNT- *Salmonella* DNA) and an additional control commonly used in the laboratory. The amplification products were subjected to electrophoresis in 1% agarose and stained with ethidium bromide. Used a 100 bp marker (Gibco BRL Rockville, Md.) for detecting the sizes of the PCR products. The results were observed using a UV transilluminator and images were captured with a photo-documentary EDAS 290 (Kodak).

Statistical analysis

Statistical analysis of the results of response variables BMA and nopal CT was performed by analysis of variance (ANOVA). To determine significant differences in microbial loads between sampling dates and between producers we used the Tukey test ($p \leq 0.05$), with the program SAS 9.0 (SAS Institute Inc., 2002).

Toxicological quality

To determine the presence of residues of organochlorine pesticides, organophosphorus, organo and pyrethroids multiresidue method used by the FDA (1994), and a determination was made only in the laboratory CESAVEM certificate. Due to the high cost of service, in each sample were randomly selected four producers and four samples were taken 3 kg combined nopal, for a total of 24 samples for the six samples. The samples were collected aseptically into polyethylene bags 25 x 33 cm, previously sterilized with UV light at 265 nm, transported at 4 °C and kept frozen until analysis.

The detection limit was 0.01 to 0.08 ppm, with a recovery percentage > 80%. During sampling continued communication with technical staff and producers, CESAVEM for information related to the presence of cactus pests and pesticides that were applied in the study region.

The toxicological risk by consuming contaminated by pesticides nopal was estimated using the methodology described by Aldana-Madrid *et al.* (2008). The

(1994), y se realizó una determinación única en el laboratorio certificado del CESAVEM. Debido al alto costo del servicio, en cada muestreo se eligieron al azar cuatro productores y se tomaron cuatro muestras combinadas de 3 kg de nopal verdura, para obtener un total de 24 muestras durante los seis muestreos. Las muestras se colectaron asépticamente en bolsas de polietileno de 25 x 33 cm, previamente esterilizadas con luz UV a 265 nm, se transportaron a 4 °C y se mantuvieron en congelación hasta su análisis.

El límite de detección fue de 0.01 a 0.08 ppm, con un porcentaje de recuperación >80%. Durante el muestreo se mantuvo comunicación con el personal técnico del CESAVEM y con los productores, para obtener información relacionada a la presencia de plagas de nopal y a los plaguicidas que se aplicaban en la región de estudio.

El riesgo toxicológico por el consumo de nopal verdura contaminado por plaguicidas se estimó con la metodología descrita por Aldana-Madrid *et al.* (2008). El cálculo de la ingesta diaria estimada (IDE) se realizó con la fórmula descrita por Valenzuela *et al.* (2001):

$$IDE = \sum C_i \left[\frac{C}{NDK} \right]$$

Donde: $\sum C_i$ es la suma de las concentraciones de los plaguicidas evaluadas en nopal (mg kg^{-1}); C es el consumo anual de nopal por persona (5.8 kg/año) (Berger *et al.*, 2006); N es el número de muestras analizadas (N=4); D es el número de días en un año (365 días); y K es el peso corporal promedio del consumidor (70 kg). Las ingestas diarias admisibles (IDA) se obtuvieron de los datos publicados por la FAO-WHO (1993, 1996, 1997, 1998, 2000). El riesgo toxicológico por el consumo de nopal de la zona de estudio se estimó comparando la sumatoria de IDA's y las IDE's (Aldana-Madrid *et al.*, 2008), y por la relación IDE/IDA, si el la proporción excede a 1.0 el riesgo toxicológico se considera alto (Tsakiris *et al.*, 2011).

Resultados y discusión

Calidad microbiológica de cladodios de nopal verdura

Los valores promedio de las cargas microbiológicas para BMA estuvieron en un rango de 3.40 a 3.89 log UFC g^{-1} , y el de CT de 0.33 a 0.84 log NMP g^{-1} , sin que se detectaran diferencias significativas por medio de la prueba de Tukey

calculation of the estimated daily intake (EDI) was performed using the formula described by Valenzuela *et al.* (2001):

$$IDE = \sum C_i \left[\frac{C}{NDK} \right]$$

Where: $\sum C_i$ = the sum of the concentrations of pesticides evaluated in nopal (mg kg^{-1}), C = the annual consumption per person nopal (5.8 kg/year) (Berger *et al.*, 2006); N = number of samples analyzed (N = 4), D = the number of days in a year (365 days), and K = the average consumer body weight (70 kg). The daily intakes (ADIs) were obtained from data published by FAO-WHO (1993, 1996, 1997, 1998, 2000). The toxicological risk by eating cactus of the study area was estimated by comparing the sum of IDA's and IDE's (Aldana-Madrid *et al.*, 2008), and the relationship IDE/IDA, if the ratio exceeds 1.0 the toxicological risk is considered high (Tsakiris *et al.* 2011).

Results and discussion

Microbiological quality nopal cladodes

The average values for BMA microbiological loads ranged from 3.40 to 3.89 log CFU g^{-1} , and CT of 0.33 to 0.84 log MPN g^{-1} , no significant differences were detected using the Tukey test ($p \leq 0.05$, Table 1). The 4 nopal producer presented the highest average of BMA (3.89 ± 1.44 log CFU g^{-1}), while the producer 9 had the highest CT load (0.84 ± 0.91 log MPN g^{-1}). These results indicated that on average, the microbial load in the nopal was within the limits set by the ICMSF and countries such as Spain and Israel who consider maximum load of 5 log CFU g^{-1} for BMA and 2 log CFU g^{-1} for CT (ICMSF, 2002, FNB, 2003). However, five of the samples (8%) exceeded the maximum limit for BMA, and two (3%) for CT (Table 1, Figure 1). Suggesting that BMA in some cases were not adequately followed.

E. coli was identified in the sample only producer 9 that took the May 15, 2009. Although the diagnostic test used does not discriminate serotype of *E. coli* in samples. Its detection in foods could involve high risk to the health of consumers, especially when they have documented countless deaths and economic losses of some pathogenic strains such as O157:H7, O121:H19 and O26 (Tzschoppe *et al.*, 2012).

($p \leq 0.05$; Cuadro 1). El nopal verdura del productor 4 presentó un mayor recuento de BMA ($3.89 \pm 1.44 \log \text{ UFC g}^{-1}$), mientras que el del productor 9 tuvo la carga de CT más alta ($0.84 \pm 0.91 \log \text{ NMP g}^{-1}$). Éstos resultados indicaron que en promedio, la carga microbiana en el nopal verdura estuvo dentro de los límites establecidos por la ICMSF y países como España e Israel que consideran como máximo una carga de $5 \log \text{ UFC g}^{-1}$ para BMA y de $2 \log \text{ UFC g}^{-1}$ para CT (ICMSF, 2002; FNB, 2003). Sin embargo, cinco de las muestras (8%) rebasaron el límite máximo para BMA, y dos (3%) para CT (Cuadro 1, Figura 1). Lo que sugirió que en algunos casos no se siguieron adecuadamente las BPA.

In none of the samples showed the presence of *Salmonella*. However, six isolates were obtained that by their growth characteristics on selective media ASB (gray colonies with metallic sheen), XLD (pink colonies) and Hektoen (green colonies) were suspicious (Pascual and Calderón, 2000), and so analysis was performed by PCR identification (Figure 2), with this being demonstrated that none of the refugees corresponded to the genus *Salmonella*. This pathogen is a common contaminant in vegetables and has been detected in parsley, cilantro, broccoli, cauliflower, lettuce, spinach, celery and carrot premises issued in the City of Mexico and Hidalgo (Quiroz-Santiago *et al.*, 2009; Miranda *et al.*, 2009).

Cuadro 1. Cuentas de BMA y CT en nopal verdura producido por 10 productores con reconocimiento en BPA entre marzo de 2008 y mayo de 2009 en el municipio de Otumba, Estado de México.

Table 1. BMA accounts and CT nopal producers produced for 10 BPA recognition between March 2008 and May 2009 in the town of Otumba, State of Mexico.

Productor	BMA ^{**Φ} (log UFC g ⁻¹)	CT ^{*Φ} (log NMP g ⁻¹)	Núm. Muestras [§]		Presencia	
			BMA	CT	<i>E. coli</i>	<i>Salmonella</i> sp.
1 ^B	3.70±0.91 ^a	0.40±0.26 ^a	0	0	ND	ND
2 ^A	3.68±0.90 ^a	0.57±0.68 ^a	1	0	ND	ND
3 ^A	3.80±1.15 ^a	0.52±0.42 ^a	1	0	ND	ND
4 ^B	3.89±1.40 ^a	0.33±0.07 ^a	1	0	ND	ND
5 ^C	3.81±1.12 ^a	0.39±0.22 ^a	1	0	ND	ND
6	3.72±0.51 ^a	0.52±0.42 ^a	0	0	ND	ND
7	3.54±0.60 ^a	0.52±0.54 ^a	0	0	ND	ND
8	3.52±0.80 ^a	0.61±0.76 ^a	1	1	ND	ND
9 ^A	3.56±0.59 ^a	0.84±0.91 ^a	0	1	D	ND
10	3.40±0.39 ^a	0.52±0.54 ^a	0	0	ND	ND

^AUso de cajas sucias. ^BUso de lonas rotas o sucias. ^CUso de vehículos en malas condiciones de higiene. ^{*}Medio de determinación por triplicado con desviación estándar.

^ΦMedias con letras iguales no son estadísticamente diferentes (Tukey, 0.05; n=10). [§]Número de muestras que rebasaron el límite máximo de acuerdo a la ICMSF (2002).

D= detectado; ND= no detectado.

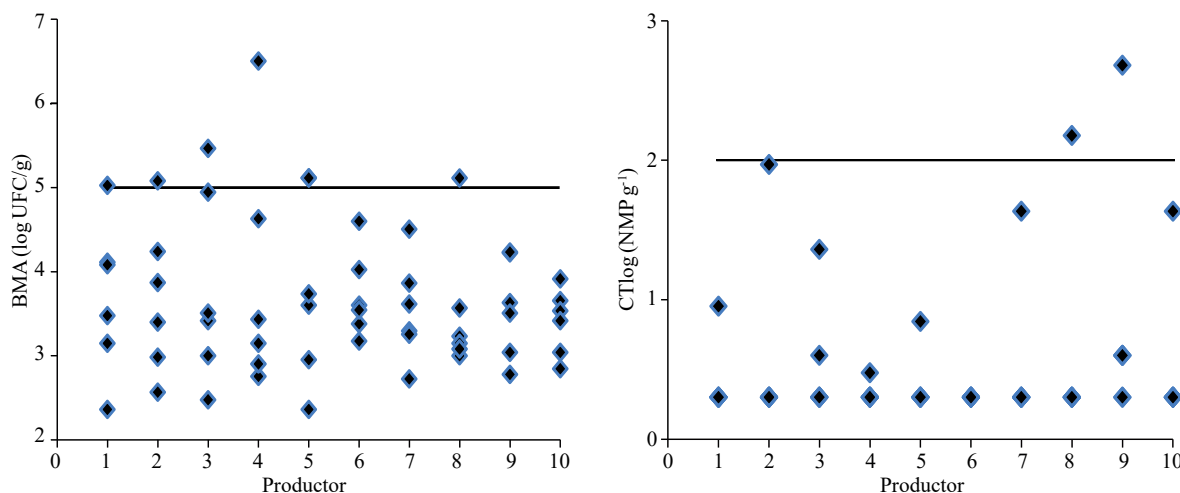


Figura 1. Cargas de BMA y CT en nopal verdura de productores de Otumba, México durante marzo de 2008 a mayo de 2009. Línea horizontal indica los límites máximos de acuerdo a la ICMSF (2002).

Figure 1. Loads of BMA and CT nopal producer Otumba, Mexico during March 2008 to May 2009. Horizontal line indicates the maximum according to ICMSF (2002).

E. coli se identificó solo en la muestra del productor 9, que se tomó el 15 de mayo de 2009. Aunque la prueba de diagnóstico usada, no discrimina el serotipo de *E. coli* presente en las muestras. Su detección en los alimentos podría implicar un alto riesgo a la salud del consumidor, en especial cuando se han documentado muertes e innumerables pérdidas económicas por algunas cepas patógenas como la O157:H7, O121:H19 y O26 (Tzschoppe *et al.*, 2012).

En ninguna de las muestras se detectó la presencia de *Salmonella*. Sin embargo, se obtuvieron seis aislados que por sus características de crecimiento en los medios selectivos ASB (colonias grises con brillo metálico), XLD (Colonias rosas) y Hektoen (colonias verdes) resultaron sospechosas (Pascual y Calderón, 2000), por lo que se realizó un análisis de identificación por PCR (Figura 2), con éste se demostró que ninguno de los aislados correspondía al género *Salmonella*. Este patógeno es un contaminante común en hortalizas y se ha detectado en perejil, cilantro, brócoli, coliflor, lechuga, espinaca, apio y zanahoria expeditas en locales comerciales de la Ciudad de México e Hidalgo (Quiroz-Santiago *et al.*, 2009; Miranda *et al.*, 2009).

En éste trabajo, la detección de cargas de BMA y CT superiores a las de la norma se relacionó con el transporte del nopal verdura en cajas y vehículos con escasa higiene, así como con el uso de lonas rotas y sucias (Cuadro 1). Al respecto, diversos autores(as) coinciden en que las cargas microbianas se incrementan cuando el producto está expuesto a la manipulación, exposición a contenedores, cámaras de almacenamiento y transporte con mala higiene, y en campo por la contaminación con agua de riego y lavado (García-Gómez *et al.*, 2002; Johnston *et al.*, 2006; Hernández *et al.*, 2009).

Por otra parte, la presencia de *E. coli* sugiere la exposición a materia fecal, y poca higiene durante la manipulación del nopal verdura. La fuente de contaminación posiblemente esté vinculada con el agua de riego, como se ha documentado en otras hortalizas (Ávila-Quezada *et al.*, 2008); al uso de compostas mal tratadas y hechas a base de estiércoles, u operadores con malos hábitos de higiene (Beuchat, 2002; Johnston *et al.*, 2006).

La manipulación de hortaliza pre cortadas o mínimamente procesadas, como la que se realiza en el corte de nopal verdura, puede aumentar el riesgo de contaminación, Badosa *et al.* (2008) reportaron que el procesamiento de hortalizas puede incrementar la carga de BMA y coliformes en una magnitud de un logaritmo. Éste efecto también se ha reportado en

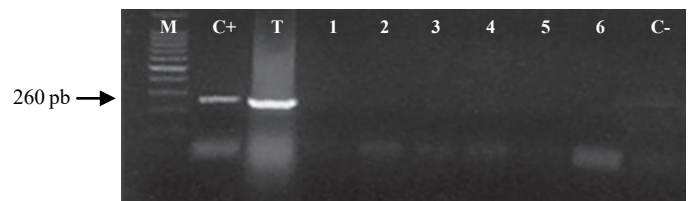


Figura 2. Identificación de *Salmonella* sp. por PCR. M= marcador de tamaño de 100 pb. C+= control positivo. C-= control negativo. T= testigo. Carriles 1 al 6 muestras problema.

Figure 2. Identification of *Salmonella* sp. by PCR. M= size marker 100 bp. C+= positive control. C-= negative control. T= control. Lanes 1 to 6 samples.

In this work, the detection of BMA and CT loads higher than those of the standard related to the transport of nopal in boxes and vehicles with poor hygiene and the use of tarps torn and dirty (Table 1). In this regard, several authors agree that microbial loads increase when the product is exposed to manipulation, exposure to container, storage and transportation cameras with poor hygiene, and field by irrigation water contamination and washing (García-Gómez *et al.*, 2002; Johnston *et al.*, 2006; Hernández *et al.*, 2009).

Moreover, the presence of *E. coli* suggests exposure to fecal matter, and poor hygiene while handling nopal. The source of contamination may be linked with the irrigation water, as documented in other vegetables (Ávila-Quezada *et al.*, 2008), the use of poorly treated and compost made from manure, or operators with bad habits hygiene (Beuchat, 2002; Johnston *et al.*, 2006).

The pre-cut vegetable handling or minimally processed, as is done in cutting nopal may increase the risk of contamination, Badosa *et al.* (2008) reported that processing of vegetables may increase the burden of BMA and coliforms in a magnitude of a logarithm. This effect has also been reported in salads BMA whose values increased from 2.4 log UFC g^{-1} , for fresh product, to 5.8 log UFC g^{-1} in salads (Seowa *et al.*, 2012).

In Mexico, there have been few studies to evaluate the microbiological quality of vegetables for export and domestic marketing, and even fewer reports nopal sanitary quality. The BMA and CT values determined in this study were lower than those reported in other vegetables produced in Mexico such as lettuce and cilantro (García-Gómez *et al.*, 2002), pepper and tomato (Ávila-Quezada *et al.*, 2008), parsley, tomato, onion, jalapeno and serrano

ensaladas cuyos valores de BMA incrementaron de 2.4 log UFCg⁻¹, para los productos frescos, a 5.8 log UFCg⁻¹ en las ensaladas (Seowa *et al.*, 2012).

En México se han hecho pocos estudios para evaluar la calidad microbiológica de hortalizas destinadas a la exportación y comercialización nacional, y son aún menos los reportes de calidad sanitaria en nopal verdura. Los valores de BMA y CT determinados en este trabajo fueron inferiores a los reportados en otras hortalizas producidas en México, como lechuga y cilantro (García-Gómez *et al.*, 2002); chile y tomate (Ávila-Quezada *et al.*, 2008); perejil, tomate, cebollín, chile jalapeño y chile serrano (Gómez-Govea *et al.*, 2012), cuyos rangos de BMA estuvieron entre 5.30 y 8 log UFC g⁻¹, y de CT entre 1.87 a 7 log NMP g⁻¹.

También fueron muy inferiores a los reportados en productos hortícolas mexicanos como cilantro, perejil, melón, brócoli y col importados por los Estados Unidos de América, cuyos rangos de BMA fueron de 5.95 a 6.09 log UFC g⁻¹ (Johnston *et al.*, 2006). Aunque no se tienen datos o reportes específicos de los conteos de BMA y CT para nopal verdura bajo ningún esquema de producción, los bajos niveles identificados en este trabajo sugieren que el uso de BPA en la producción de nopal verdura contribuyó significativamente a reducir los riesgos de contaminación por microorganismos.

Algunas de las acciones recomendadas para reducir el riesgo de contaminación biológica en hortalizas, es establecer programas de monitoreo de las condiciones sanitarias a lo largo de la cadena de producción, implementar las BPA y un sistema de rastreabilidad (Mattos *et al.*, 2009). Sin embargo, es imprescindible que cada participante cumpla con las medidas implementadas para este fin, de esta forma, existe una mayor posibilidad de elevar los estándares de calidad requeridos para el mercado y al mismo tiempo, asegurar la inocuidad de los vegetales y los beneficios que ofrecen al consumidor.

Calidad toxicológica de cladodios de nopal verdura

Detección de residuos de plaguicidas

Se detectó clorpirifós etílico, ometoato, dimetoato, paratión metílico, malatión y bifentrina en 8% de las muestras analizadas durante junio y octubre de 2008, así como en enero y mayo de 2009 (Cuadro 2). La presencia de estos plaguicidas coincidió con la aplicación de malatión, paratión metílico

chili (Gómez-Govea *et al.*, 2012), the BMA ranges were between 5.30 and 8 log CFU g⁻¹, and CT between 1.87 to 7 log MPN g⁻¹.

They were also much lower than those reported in Mexican horticulture as cilantro, parsley, cantaloupe, broccoli and cabbage imported by the United States of America, whose BMA ranges were 5.95 to 6.09 log CFU g⁻¹ (Johnston *et al.*, 2006). Although, there are no specific data or reports BMA counts and CT for nopal production under any scheme, low levels identified in this study suggest that the use of BPA in nopal production contributed significantly to reducing the risks of contamination by microorganisms.

Some of the actions recommended to reduce the risk of biological contamination in vegetables, is to establish monitoring programs sanitary conditions along the production chain, implement BMA and traceability systems (Mattos *et al.*, 2009). However, it is imperative that each participant meets the measures implemented to this end, in this way; there is a greater possibility of raising the quality standards required for the market and at the same time ensure plant safety and benefits offering the consumer.

Quality toxicological nopal cladodes

Detection of pesticide residues

Ethyl chlorpyrifos was detected, omethoate, dimethoate, methyl parathion, malathion and bifenthrin in 8% of the samples analyzed during June and October, 2008 and in January and May 2009 (Table 2). The presence of these pesticides coincided with the application of malathion, methyl parathion, dimethoate and omethoate to combat cochineal cactus (*Dactylopius indicus*) throughout the agricultural cycle of the weevil borer (*Cactophagus spinolae*) and spines weevil (*Cylindrocopturus birraddiatus*) in April to May, the prickly pear thrips (*Sericothrips opuntiae*) in February and April of gray bug (*Chelinidea tabulatus*) from September to December, and the red bug (*Hesperolabops gelastops*) from August to November. This situation shows that some producers still have bad practices in the proper use and handling of chemicals that are presented by the use of some pesticides rooted as malathion and parathion methyl, ethyl chlorpyrifos and diazinon (Badii and Flores, 2001; Aldana-Madrid *et al.*, 2008).

dimetoato, y ometoato para el combate de la cochinilla del nopal (*Dactylopius indicus*) durante todo el ciclo agrícola; del picudo barrenador (*Cactophagus spinolae*) y picudo de las espinas (*Cylindrocopturus birraddiatus*) en abril a mayo; de thrips del nopal (*Sericothrips opuntiae*) en febrero y abril; de la chinche gris (*Chelinidea tabulatus*) de septiembre a diciembre; y de la chinche roja (*Hesperolabops gelastops*) de agosto a noviembre. Situación que pone en evidencia que algunos productores aún mantienen malas prácticas en el buen uso y manejo de agroquímicos que se presenta por el uso arraigado de algunos plaguicidas como malatión y paratión metílico, clorpirifós etílico y diazinon (Badii y Flores, 2001; Aldana-Madrid *et al.*, 2008).

According to the list of agricultural pesticides (SENASICA, 2012), the products were found in the nopal in Otumba, State of Mexico are not authorized for this crop, indicating the lack of compliance with national regulations. This same situation is presented, considering other markets like the United States of America, which restricts the use of chlorpyrifos ethyl and methyl parathion and bifenthrin does not allow the use of omethoate, only allows carbaryl, diuron, glyphosate and metaldehyde with residue limits 12, 0.05, 0.5 and 0.07 mg kg⁻¹, respectively (EPA, 2011). The presence of pesticides in vegetables cactus indicates a latent risk to the consumer, which is increased because it is not possible to apply corrective measures to eliminate pesticide (Pardo *et al.*, 2011).

Cuadro 2. Relación de la concentración de insecticidas encontrados en nopal verdura en Otumba, Estado de México entre los meses de marzo de 2008 y mayo 2009.

Table 2. Concentration ratio found in nopal insecticides in Otumba, State of Mexico in the months of March 2008 and May 2009.

Productor ¹	Ingrediente activo	Concentración (mg kg ⁻¹)	Mes/año de muestreo	LMR (mg kg ⁻¹ d ⁻¹)	IDA ^φ (mg kg ⁻¹ d ⁻¹)	IDE (1 x 10 ⁻⁷) (mg kg ⁻¹ d ⁻¹)
6	Clorpirifós etílico	0.0135	06/08	0.05	0.1	3.054
3	Clorpirifós etílico	0.0045	08/08	0.05	0.1	1.018
6	Clorpirifós etílico	0.02575	01/09	0.05	0.1	5.825
4	Ometoato	0.03025	01/09	NA	0.0003	6.843
4	Dimetoato	0.02425	01/09	0.02	0.002	5.485
4	Paratión metílico	0.0075	01/09	0.02	0.02	1.696
4	Malatión	0.014	01/09	0.02	0.3	3.167
4	Bifentrina	0.059	01/09	0.05	0.02	1.334
6	Clorpirifós etílico	0.055	05/09	0.05	0.1	1.244
6	Malatión	0.01125	05/09	0.02	0.3	2.545

¹= sólo se incluyó a los productores con muestras positivas para algún plaguicida. LMR: Límite Máximo de Residuos para tuna en la Unión Europea (EC, 2011). IDA= ingesta diaria aceptable; IDE= ingesta diaria estimada; ^φ= FAO-WHO (2000); NA= no admisible.

De acuerdo al listado de plaguicidas de uso agrícola (SENASICA, 2012), los productos que se encontraron en el nopal en Otumba, Estado de México no están autorizados para este cultivo, lo que indica la falta de cumplimiento a la normatividad nacional. Esta misma situación se presenta, si se consideran otros mercados como Estados Unidos de América, que restringe el uso de clorpirifós etílico, bifentrina y paratión metílico y no permite el uso de ometoato, sólo permite carbaril, diurón, glifosato y metaldehído con límites de residuos de 12, 0.05, 0.5 y 0.07 mg kg⁻¹, respectivamente (EPA, 2011). La presencia de plaguicidas en nopal verdura indica un riesgo latente para el consumidor, que se incrementa porque no es posible aplicar medidas correctivas para la eliminación del plaguicida (Pardo *et al.*, 2011).

However, in assessing the toxicological risk for the population, which was performed by comparing the sum of the IDE and IDA, the first value was estimated from the concentration of pesticides in vegetables cactus and IDA are values established by international organizations. It was found that the EDI value was 0.055 mg kg⁻¹, while the IDA was of 1,042 mg kg⁻¹. That is, the toxicological risk to human health from the consumption of insecticides cactus gardens with good agricultural practices in Otumba, Mexico is 18805 times smaller than the permissible dose. The difference between the IDE and IDA was less than 1 (0.0000532), indicating that the toxicological risk is low with pesticide concentrations were found (Aldana-Madrid *et al.*, 2008; Tsakiris *et al.*, 2011).

Sin embargo, al evaluar el riesgo toxicológico para la población, que se realizó comparando la suma del IDE y del IDA, el primer valor que se estimó a partir de la concentración de plaguicidas en nopal verdura y el IDA son valores establecidos por organismos internacionales. Se encontró que el valor del IDE fue de $0.055 \mu\text{g kg}^{-1}$, mientras que la IDA resultó de 1.042 mg kg^{-1} . Es decir, el riesgo toxicológico para la salud humana por insecticidas provenientes del consumo de nopal de huertas con buenas prácticas agrícolas del municipio de Otumba, México es 18805 veces menor que la dosis admisible. La diferencia entre el IDE y el IDA fue menor a 1 (0.0000532), lo que indica que el riesgo toxicológico es bajo con las concentraciones de plaguicidas que se encontraron (Aldana-Madrid *et al.*, 2008; Tsakiris *et al.*, 2011).

Conclusiones

Los resultados indicaron que 8% de las muestras no cumplió con las especificaciones para BMA, y 3% para los límites para CT. *E. coli* se encontró en una muestra y no se identificó la presencia de *Salmonella*. Únicamente 8% de las muestras de nopal presentó residuos de plaguicidas, de acuerdo a las concentraciones a las que fueron detectados se identificó un riesgo toxicológico bajo. La implementación de BPA en las unidades de producción de nopal verdura permitió el cumplimiento de los requisitos sanitarios para exportación; sin embargo, es necesario que los productores reconozcan la importancia del cumplimiento total de las BPA para reducir de forma significativa los riesgos de contaminación.

Agradecimientos

Los autores(as) agradecen al Comité de Sanidad Vegetal Estado de México (CESAVEM) y a la sociedad rural PRONACUA, S. C. de R. L. de C. V. por su apoyo para la realización de este estudio, así como al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca otorgada a los estudiantes involucrados en la investigación.

Literatura citada

Aldana-Madrid, M. L.; García-Moraga, Ma. del C.; Rodríguez-Olibarria, G.; Silveira-Gramont, Ma. I. y Valenzuela-Quintanar, A. I. 2008. Determinación de insecticidas organofosforados en nopal fresco y deshidratado. *Rev. Fitotec. Mex.* 31(2):133-139.

Conclusions

The results indicated that 8% of the samples did not meet the specifications for BMA, and 3% for CT limits. *E. coli* was found in a sample and did not identify the presence of *Salmonella*. Only 8% of the samples presented cactus pesticide residues, according to the concentrations at which they were detected was identified low toxicological risk. The implementation of BMA in production units allowed nopal compliance with sanitary requirements for export, but the producers need to recognize the importance of full compliance with the EPS to significantly reduce the risk of contamination.

End of the English version



Association of Analytical Communities (AOAC). 2000. Official Method 990.12 Aerobic plate count in foods. Dry rehydratable film (Petriplate Aerobic Plate). Official Methods of Analysis of AOAC International 17th. 2(17):11-12.

Ávila-Quezada, G.; Sánchez, E.; Muñoz, E.; Martínez, L. R. y Villalobos, E. 2008. Diagnóstico de la calidad microbiológica de frutas y hortalizas en Chihuahua, México. *Phyton (B. Aires)*. 77:129-136.

Badii, M. H and Flores, A. E. 2001. Prickly pear pests in Mexico. *Florida Entomology*. 84(4):503-505.

Badosa, E.; Trias, R.; Pare's, D.; Pla, M. y Montesinos, E. 2008. Microbiological quality of fresh fruit and vegetable products in Catalonia (Spain) using normalized plate-counting methods and real time polymerase chain reaction (QPCR). *J. Sci. Food Agric.* 88:605-611.

Berger, H.; Rodríguez, A y Galletti, L. 2006. Operaciones de campo para la utilización agroindustrial de nopales. *In: utilización agroindustrial del nopal*. Rosell, C. (Ed.). Boletín de Servicio Agrícolas de la FAO No. 162. Roma. Italia. 24 p.

Beuchat, L. R. 2002. Ecological factors influencing survival and growth of human pathogens on raw fruits and vegetables. *Microbes and Infection*. 4(4):413-423.

Callejas, J. N.; Matus-Gardea, J. A.; García-Salazar, J. A.; Martínez-Damián, M. Á. y Salas-González, J. Ma. 2006. Situación actual y perspectivas de mercado para la tuna, el nopalito y derivados en el Estado de México. *Agrociencia* 43:73-82.

Diario Oficial de la Federación (DOF). 2007. Ley Federal de Sanidad Vegetal. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). <http://www.ordenjuridico.gob.mx/Federal/Combo/L-121.pdf>. (consultado mayo, 2013).

Diario Oficial de la Federación (DOF). 2005. NOM-114-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la determinación de *Salmonella* en alimentos. <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/114ssa14.html> (consultado mayo, 2013).

Environmental Protection Agency (EPA). 2011. Title 40: Protection of environment. Code of federal regulations. United States. http://ecfr.gpoaccess.gov/cgi/t/text/text-idx?c=ecfr&sid=1c8cd959ef0d373fb7620f42c8445cca&tpl=/ecfrbrowse/Title40/40cfr180_main_02.tpl. (consultado septiembre, 2012).

- European Commission (EC). 2011. Pesticide EU-MRLs. EU pesticides database. http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/pesticides_database/index_en.htm. (consultado septiembre, 2012).
- Flores-Valdez, C. A. 2003. Producción y comercialización de nopalitos. *In: nopalitos y tunas*. Florez-Valdez C. A. (Ed). Universidad Autónoma Chapingo-CIESTAAM- Programa nopal. 19-37 pp.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations-World Health Organization (FAO-WHO). 2000. Pesticide residues in food -1999. Report of the joint meeting of the FAO panel of experts on pesticide residues in food and the environment and the WHO core assessment group. FAO plant production and protection paper, 153. Rome, Italy.
- Food and Drug Administration (FDA). 1994. Pesticide analytical manual: Vol. 1. Multiresidue Methods. Food and Drug Administration. Washington. Section 302. 70 p.
- Food and Drug Administration (FDA). 2013. List of firms and their products subject to Detention without Physical Examination (DWPE) under this Import Alert (a.k.a. Red List). http://www.accessdata.fda.gov/cms_ia/importalert_259.html. (consultado mayo, 2013).
- Food and Nutrition Board (FNB). 2003. Scientific criteria to ensure safe food. Washington, D. C. National Academy Press. 317-358 pp.
- García-Gómez, R.; Chávez-Espinosa, J.; Mejía-Chávez, A. and Durán-Bazúa, C. 2002. Microbiological determinations of some vegetables from the Xochimilco zone in Mexico City, Mexico. *Rev. Latinoam. Microbiol.* 44(1):24-30.
- Gómez-Govea M.; Solís-Soto L.; Heredia N.; García S.; Moreno G.; Tovar O. and Isunza G. 2012. Analysis of microbial contamination levels of fruits and vegetables at retail in Monterrey, Mexico. *J. Food Agric. Environ.* 10(1):152-156.
- Hernández, A. M.; Landa, P.; Mora-A, G.; Eslava, A.; Call, J. E.; Porto-Fett, A. C. and Luchansky, J. B. 2009. Characterization of *Salmonella* spp. from nopal leaves and associated soil and water samples in Morelos, Mexico. *International Association for Food Protection*. http://www.ars.usda.gov/research/publications/publications.htm?seq_no_115=236181. (consultado septiembre, 2013).
- International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF, 2002). *Microorganisms in Foods 7. Microbiological testing in food safety management*. Kluwer Academic/Plenum Publishers. New York, USA. 362 p.
- Johnston, L. M.; Jaykus, L. A. and Moll, D. 2006. A field study of the microbiological quality of fresh produce of domestic and Mexican origin. *Inter. J. Food Microbiol.* 112(2):83-95.
- Mattos, L. M.; Moretti, C. L.; Moura, M. A.; Maldonado, I. R. é Silva, E. Y. Y. 2009. Produção segura e rastreabilidade de hortaliças. *Horticultura Brasileira*. 27:408-413.
- Miranda, J. M.; Mondragón, A. C.; Martínez, B.; Guarddon, M. and Rodríguez, J. A. 2009. Prevalence and antimicrobial resistance patterns of *Salmonella* from different raw foods in Mexico. *J. Food Protec.* 72:966- 971.
- Pardo, J. E.; Peñaranda, J. A.; Álvarez-Ortiz, M.; Zied, D. C and Pardo, A. 2011. Application of the hazard analysis and critical control point (HACCP) system on the mushroom processing line for fresh consumption. *Italian J. Food Sci.* 23:126-135.
- Pascual, A. M. R. y Calderón, P. V. 2000. *Microbiología alimentaria. Metodología analítica para alimentos y bebidas*. 2ª. (Ed.). Díaz de Santos S. A. Madrid, España. 464 p.
- Quiroz-Santiago, C.; Rodas-Suárez, O. R.; Vázquez, C. R.; Fernández, F. J.; Quiñonez-Ramírez, E. I. and Vázquez-Salinas, C. 2009. Prevalence of *Salmonella* in vegetables in Mexico. *J. Food Protec.* 72:1279-1282.
- Ramírez, P. J. C.; Sosa-López, R. y Santos Aduna B. 2012. Plan Rector del Sistema Producto Nopal y Tuna del Estado de Michoacán. SAGARPA. 73 p.
- Saravia-Tasayco, P. L. 2002. Agrupamientos productivos (cluster) del nopal. Secretaría de Economía (SE). http://www.contactopyme.gob.mx/estudios/docs/nopal_mexico.PDF (consultado febrero, 2013).
- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). 2012. Plan Rector del Sistema Producto Nopal y Tuna Estado de México. 29 p.
- Seowa J.; Ágoston R.; Phua L. and Yuk H. G. 2012. Microbiological quality of fresh vegetables and fruits sold in Singapore. *Food Control*. 25:39-44.
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). 2012. Cierre de la producción agrícola. Nopalitos. <http://www.siap.gob.mx>. (consultado mayo, 2013).
- Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA). 2007. Directorio de empresas reconocidas por la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo. Contaminación en la producción primaria de alimentos de origen agrícola rural, pesca y alimentación por la aplicación del sistema de reducción de riesgo. <http://www.senasica.gob.mx/?id=3449>. (consultado diciembre, 2007).
- Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA). 2012. Listado de plaguicidas. Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria. <http://www.senasica.gob.mx/?doc=22993>. (consultado septiembre, 2012).
- Statistical Analysis System Institute (SAS Institute Inc.). 2002. SAS/STAT Software: user's guide, Release 8.2. SAS Institute, Inc. Cary, NC, USA.
- Terán-Varela, O. M. y Alcántara Hernández, B. D. 2009. Estrategias de comercialización para los productores de nopal verdura. Instituto Politécnico Nacional (IPN). 19 p. <http://cocytex.hidalgo.gob.mx/descargables/ponencias/Mesa%20I/9.pdf>. (consultado mayo, 2012).
- Tsakiris, I. N.; Toutoudaki, M.; Kokkinakis, M.; Paraskevi, M. and Tsatsakis, A. M. 2011. A risk assessment study of greek population dietary chronic exposure to pesticide residues in fruits, vegetables and olive oil. *In: pesticides - formulations, effects, fate*. Stoytcheva, M. (Ed.). InTech. 253-268 pp.
- Tzschoppe, M.; Martin, A. and Beutin, L. 2012. A rapid procedure for the detection and isolation of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) serogroup O26, O103, O111, O118, O121, O145 and O157 strains and the aggregative EHEC O104:H4 strain from ready-to-eat vegetables. *Int. J. Food Microbiol.* 152(1-2):19-30.
- Valenzuela, A. I.; Picó, Y. and Font, G. 2001. determination of five pesticide residues in oranges by matrix solid-phase dispersion and liquid chromatography to estimate daily intake of consumers. *J. AOAC International*. 84(3):901-909.