



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA
MAESTRIA EN PROTECCIÓN VEGETAL

"MITOS Y POTENCIAL DEL CLORO Y OZONO EN LA REDUCCIÓN DE *Escherichia coli* EN AGUA POSTCOSECHA"

**QUE COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:**

MAESTRO EN CIENCIAS EN PROTECCIÓN VEGETAL

PRESENTA

LÓPEZ GARCÍA UZZIEL ISSRAEL



DIRECCIÓN GENERAL ACADÉMICA
DEPTO. DE SERVICIOS ESCOLARES
OFICINA DE EXAMENES PROFESIONALES

CHAPINGO, MÉXICO; JULIO de 2013.

**MITOS Y POTENCIAL DEL CLORO Y OZONO EN LA REDUCCIÓN DE
Escherichia coli EN AGUA POSTCOSECHA**

Tesis realizada por **Uzziel Israel López García** bajo la dirección del **Dr. Marcelo Acosta Ramos**, aprobada por el comité asesor indicado y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN PROTECCIÓN VEGETAL

DIRECTOR:



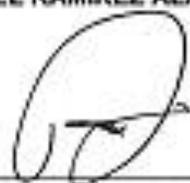
Dr. MARCELO ACOSTA RAMOS

ASESOR:



Dr. SAMUEL RAMÍREZ ALARCÓN

ASESOR:



M.C. DIMAS MEJÍA SÁNCHEZ

Chapingo, Estado de México, julio 2013.

AGRADECIMIENTOS

A la **Universidad Autónoma Chapingo**, en especial al **Departamento de parasitología Agrícola** que a través de la **Maestría en Protección Vegetal**, me dieron la oportunidad de cursar mis estudios de Posgrado.

Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT)** por el financiamiento proporcionado para realizar mis estudios de Maestría.

Al **Dr. Marcelo Acosta** Ramos por su dirección, confianza y apoyo en esta investigación.

Al **Dr. Samuel Ramírez Alarcón** por su participación, apoyo y disposición para la culminación de este trabajo.

Al **M.C. Dimas Mejía Sánchez** por su apoyo y consideración para la terminación de este trabajo.

A todos los maestros por sus enseñanzas que contribuyeron a mi formación académica y profesional.

DEDICATORIA

A Beatriz

Una vez en la vida encuentras a alguien que no solo llega a tu corazón, si no a tu alma, alguien que te ama por ser quien eres y no por quien podrías ser. Una vez en la vida si tienes suerte encuentras a alguien como yo te encontré a ti.

Por tu amor y apoyo incondicional. Te amo.

A Isai

Eres lo mejor que he podido conocer, espero seas mejor cada día, siempre lucha fuerte y sigue adelante, con todo mi corazón.

A mis padres, Israel y Gudelia

Por su apoyo, sacrificio, amor, dedicación, por alentarme siempre a seguir, gracias. Los quiero con todo mi amor.

A mis hermanos, Alma y Juan

Por su amistad, compañía, apoyo, cariño y ejemplo, siempre los voy a llevar conmigo.

Al señor Nicéforo y la señora Silvia

Gracias por su apoyo, confianza y paciencia.

DATOS BIOGRÁFICOS

Uzziel Isrrael López García es originario de Nochixtlan, Oaxaca. Curso sus estudios de primaria en el municipio de Ecatepec, Estado de México. La secundaria la cursó en el municipio de Cuautitlán Izcalli.

De 2001 a 2008 estudió en la Universidad Autónoma Chapingo la carrera de Ingeniero Agrónomo Especialista en Parasitología Agrícola.

En enero de 2011 ingreso a la Maestría en Protección Vegetal del Departamento de Parasitología Agrícola de la Universidad Autónoma Chapingo, y egreso en diciembre de 2012, realizando el presente trabajo de investigación.

Contenido

ÍNDICE DE CUADROS.....	ix
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xi
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 JUSTIFICACIÓN.....	2
1.2. OBJETIVOS.....	3
1.3 HIPÓTESIS.....	3
2. REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
2.1. LIMITES PERMISIBLES DE CALIDAD DEL AGUA.....	4
2.1.1. COLIFORMES TOTALES.....	4
2.1.2. COLIFORMES FECALES.....	5
2.2. PELIGROS ASOCIADOS CON PRODUCTOS HORTOFRUTICOLAS.....	5
2.3. VEHÍCULOS DE CONTAMINACIÓN.....	5
2.4. CONTAMINACIÓN CRUZADA.....	6
2.5. DESINFECCIÓN DEL AGUA.....	6
2.6. FACTORES QUE AFECTAN LA EFICACIA DE UN DESINFESTANTE QUÍMICO.....	6
2.7. INOCUIDAD.....	8
2.8. <i>Escherichia coli</i> (Bryan, 1984).....	8
2.8.1. ANTECEDENTES Y CLASIFICACIÓN.....	8
2.8.2. IMPORTANCIA.....	11
2.8.3. CICLO DE VIDA de <i>Escherichia coli</i>	12
2.8.4. SÍNTOMAS.....	12
2.8.5. CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS.....	13
2.8.6. CARACTERÍSTICAS DEL CULTIVO DE <i>Escherichia coli</i>	13
2.8.7. CARACTERÍSTICAS FISIOLÓGICAS.....	13
2.8.8. CONTROL Y TRATAMIENTO.....	14
2.9. CLORO.....	15
2.9.1. DESINFECCIÓN POR CLORO Y DERIVADOS.....	15
2.9.2. REACCIONES DEL CLORO CON COMPONENTES DEL AGUA.....	16
2.10. OZONO.....	17
2.10.1. MECANISMO DE ACCIÓN.....	18

2.11. DUREZA DEL AGUA.....	18
2.11.1. CAUSAS DE LA DUREZA.	19
2.11.2. PROBLEMAS CAUSADOS POR LA DUREZA.	19
2.12. CALIDAD DE AGUA PARA ASPERSION DE PLAGUICIDAS.....	20
2.13. pH.	21
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	23
3.1. OBTENCIÓN DE <i>Escherichia coli</i>	23
3.2. PREPARACIÓN Y CONCENTRACIÓN DEL PATÓGENO.....	23
3.3. TRATAMIENTOS CON CLORO Y MATERIA ORGÁNICA.....	24
3.4. TRATAMIENTO CON CLORO Y DIFERENTES VALORES DE pH EN AGUA.....	28
3.5. TRATAMIENTOS CON CLORO Y AGUA DURA SIMULANDO CONDICIONES DE DESINFESTACIÓN PARA FRUTOS EN POSTCOSECHA.....	31
3.6. TRATAMIENTO CON AGUA DURA Y OZONO COMO DESINFESTANTE EN LA REDUCCIÓN DE <i>Escherichi coli</i>	33
3.7. VARIABLE EVALUADA.....	35
3.8. DISEÑO EXPERIMENTAL.....	35
3.9. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	36
4. RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	37
4.1. INTERACCIÓN ENTRE EL CLORO Y LA MATERIA ORGÁNICA SIMULANDO TRATAMIENTOS EN AGUA EN POSTCOSECHA.....	37
4.1.1. APLICACIÓN DE CUATRO CONCENTRACIONES DE CLORO A LAS 0 HORAS DE SU PREPARACIÓN.....	37
4.1.2. APLICACIÓN DE CUATRO CONCENTRACIONES DE CLORO 2 HORAS DESPUES DE SU PREPARACIÓN.....	39
4.1.3. APLICACIÓN DE CUATRO CONCENTRACIONES DE CLORO 4 HORAS DESPUES DE SU PREPARACIÓN.....	41
4.1.4. POTENCIAL DESINFESTANTE DEL CLORO EN AGUA CON DIFERENTE PORCENTAJE DE M.O. A LAS 6 HORAS DESPUES DE SU PREPARACIÓN.....	42
4.1.5. POTENCIAL DESINFESTANTE DEL CLORO EN AGUA CON DIFERENTE PORCENTAJE DE M.O. A LAS 8 HORAS DESPUES DE SU PREPARACIÓN.....	44
4.1.6. POTENCIAL DESINFESTANTE DEL CLORO EN AGUA CON DIFERENTE PORCENTAJE DE M.O. A LAS 24 HORAS DESPUES DE SU PREPARACIÓN.....	45
4.2. POTENCIAL DESINFESTANTE DEL CLORO EN AGUA CON DIFERENTES NIVELES DE pH.....	47

4.3. POTENCIAL DESINFESTANTE DEL CLORO EN AGUA CON DIFERENTES NIVELES DE DUREZA DEL AGUA.....	49
4.4. POTENCIAL DESINFESTANTE DEL OZONO EN AGUA CON CINCO NIVELES DE DUREZA DEL AGUA PARA LA REDUCCIÓN DE <i>Escherichia coli</i>	51
5. CONCLUSIONES.....	54
6. LITERATURA CITADA.....	55
7. Anexos.....	60

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Límites permisibles de calidad del agua (NOM-127-SSA1-1994).....	4
Cuadro 2. Clasificación estándar de Dureza del agua según su contenido de CaCO ₃ (Palacios y Aceves, 1970).....	19
Cuadro 3. Concentraciones de cloro y porcentaje de materia orgánica con agua simulando tratamientos postcosecha.	25
Cuadro 4. Tratamientos con cloro y materia orgánica a través del tiempo con agua contaminada con <i>E. coli</i> simulando las condiciones expuestas en los empaques para desinfestación de frutos en postcosecha.	25
Cuadro 5. Ajuste en el porcentaje de materia orgánica.....	28
Cuadro 6. Concentraciones de cloro en agua simulando condiciones de tratamiento en postcosecha con cinco valores de pH.	29
Cuadro 7. Tratamientos con cuatro concentraciones de cloro y cinco valores de pH en agua contaminada con <i>E. coli</i>	30
Cuadro 8. Tratamientos con cuatro concentraciones de cloro y cuatro niveles de dureza del agua simulando condiciones en agua para frutos en postcosecha.	32
Cuadro 9. Tratamientos con dos concentraciones de ozono 5 y 10 ppm con 4 niveles de dureza del agua.....	34
Cuadro 10. Descripción de la escala utilizada para la evaluación de crecimiento o inhibición de <i>Escherichia coli</i>	35
Cuadro 11. Testigos con agua, <i>Escherichia coli</i> y bacteria mas materia orgánica.	37
Cuadro 12. Desarrollo e inhibición de <i>Escherichia coli</i> en agua con 3 porcentajes de materia orgánica y tratada con cuatro concentraciones de cloro a 0 horas después de su preparación.	38
Cuadro 13. Desarrollo e inhibición de <i>Escherichia coli</i> en agua con 3 porcentajes de materia orgánica y tratada con cuatro concentraciones de cloro 2 horas después de su preparación.	39
Cuadro 14. Desarrollo e inhibición de <i>Escherichia coli</i> en agua con 3 porcentajes de materia orgánica y tratada con cuatro concentraciones de cloro 4 horas después de su preparación.	41
Cuadro 15. Desarrollo e inhibición de <i>Escherichia coli</i> en agua con 3 porcentajes de materia orgánica y tratada con cuatro concentraciones de cloro 6 horas después de su preparación.	43
Cuadro 16. Desarrollo e inhibición de <i>Escherichia coli</i> en agua con 3 porcentajes de materia orgánica y tratada con cuatro concentraciones de cloro 8 horas después de su preparación.	44

Cuadro 17. Desarrollo e inhibición de <i>Escherichia coli</i> en agua con 3 porcentajes de materia orgánica y tratada con cuatro concentraciones de cloro 24 horas después de su preparación.	46
Cuadro 18. Evaluación de los testigos con agua, <i>E. coli</i> y valores de pH.	48
Cuadro 19. Desarrollo e inhibición de <i>Escherichia coli</i> con cuatro concentraciones de cloro a diferentes valores de pH del agua.	48
Cuadro 20. Respuesta de los testigos con agua, bacteria con una concentración de 10^{-9} y dos niveles de dureza de agua (75 y 350 ppm).	49
Cuadro 21. Comparación de medias en el desarrollo e inhibición de <i>Escherichia coli</i> con cuatro concentraciones de cloro a cinco niveles de dureza del agua.	50
Cuadro 22. Comparación de medias de dos concentraciones de ozono y cuatro niveles de dureza del agua en la reducción de <i>Escherichia coli</i>	51
Cuadro 23. Análisis de varianza de dos concentraciones de ozono (5 y 10 ppm) y con cuatro niveles de dureza del agua para la reducción de <i>Escherichia coli</i> simulando un tratamiento postcosecha.	52
Cuadro 24. Evaluaciones 24 horas después de realizarse los tratamientos con cloro y materia orgánica en agua contaminada con <i>Escherichia coli</i>	60
Cuadro 25. Evaluaciones 48 horas después de realizarse los tratamientos con cloro y materia orgánica en agua contaminada con <i>Escherichia coli</i>	60
Cuadro 26. Evaluaciones 72 horas después de realizarse los tratamientos con cloro y materia orgánica en agua contaminada con <i>Escherichia coli</i>	61
Cuadro 27. Primera evaluación 24 horas después de realizado los tratamientos con cuatro concentraciones de cloro y cinco valores de pH en agua contaminada con <i>E. coli</i>	62
Cuadro 28. Segunda evaluación 48 horas después de realizado los tratamientos con cuatro concentraciones de cloro y cinco valores de pH en agua contaminada con <i>E. coli</i>	62
Cuadro 29. Evaluación 24 horas después de realizados los tratamientos con cuatro concentraciones de cloro y cuatro niveles de dureza del agua contaminada con <i>E. coli</i>	63
Cuadro 30. Evaluación 48 horas después de realizados los tratamientos con cuatro concentraciones de cloro y cuatro niveles de dureza del agua contaminada con <i>E. coli</i>	63
Cuadro 31. Evaluación 24 horas después de realizados los tratamientos con ozono a 5 y 10 ppm con un tiempo de exposición de 5 minutos usando cuatro niveles de dureza del agua contaminada con <i>E. coli</i>	63
Cuadro 32. Evaluación 48 horas después de realizados los tratamientos con ozono a 5 y 10 ppm con un tiempo de exposición de 5 minutos usando cuatro niveles de dureza del agua contaminada con <i>E. coli</i>	64

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Cepa de <i>Escherichia coli</i> en medio de cultivo MC.	23
Figura 2. Crecimiento de <i>E. coli</i> en medio de cultivo infusión cerebro-corazón, a una dilución de 10^{-9}	24
Figura 3. Solucion con 3 litros de agua por contenedor (cubeta) y cloro a 50, 100, 150 y 200 ppm.....	27
Figura 4. Tratamientos con cloro en 157.5 mL de agua y porcentajes de materia orgánica.....	27
Figura 5. Materia orgánica que se adiciono a los tratamientos y vasos con las concentraciones de cloro.	28
Figura 6. Desarrollo óptimo de <i>Escherichia coli</i> en tratamientos testigos: a) Testigo 0, sin desarrollo de bacteria; b) testigo + con desarrollo de <i>E. coli</i> ; c) testigo +m.o., bacteria mas materia orgánica con desarrollo de <i>E. coli</i>	65
Figura 7. Desarrollo de <i>E. coli</i> en tratamientos con cuatro concentraciones de cloro y tres porcentajes de materia orgánica a 0 horas de preparada la solución desinfectante: a) testigo sin desarrollo de bacteria; b) cloro a 50 ppm y 1% de M.O.; c) cloro con 50 ppm y 2% de M.O.; d) cloro a 50 ppm y 3% de M.O.; e) cloro a 100 ppm y 1% de M.O.; f) cloro a 100 ppm y 2% de M.O.; g) cloro a 100 ppm y 3% de M.O.; h) cloro a 150 ppm y 1% de M.O.; i) cloro a 150 ppm y 2% de M.O.; j) cloro a 150 ppm y 3% de M.O.; k) cloro a 200 ppm y 1% de M.O.; l) cloro a 200 ppm y 2% de M.O.; m) cloro a 200 ppm y 3% de M.O.; b,c, d) 50 ppm al 1, 2 y 3%; e, f, g) 100 ppm al 1,2 y 3%; h, i, j) 150 ppm al 1, 2 y 3%; k, l, m) 200 ppm al 1, 2 y 3%.	65
Figura 8. Desarrollo de <i>E. coli</i> en tratamientos con cuatro concentraciones de cloro y tres porcentajes de materia orgánica pasadas 2 horas de preparada la solución desinfectante: a) testigo sin desarrollo de bacteria; b) cloro a 50 ppm y 1% de M.O.; c) cloro con 50 ppm y 2% de M.O.; d) cloro a 50 ppm y 3% de M.O.; e) cloro a 100 ppm y 1% de M.O.; f) cloro a 100 ppm y 2% de M.O.; g) cloro a 100 ppm y 3% de M.O.; h) cloro a 150 ppm y 1% de M.O.; i) cloro a 150 ppm y 2% de M.O.; j) cloro a 150 ppm y 3% de M.O.; k) cloro a 200 ppm y 1% de M.O.; l) cloro a 200 ppm y 2% de M.O.; m) cloro a 200 ppm y 3% de M.O.; b,c, d) 50 ppm al 1, 2 y 3%; e, f, g) 100 ppm al 1,2 y 3%; h, i, j) 150 ppm al 1, 2 y 3%; k, l, m) 200 ppm al 1, 2 y 3%.	66
Figura 9. Desarrollo de <i>E. coli</i> en tratamientos con cuatro concentraciones de cloro y tres porcentajes de materia orgánica pasadas 4 horas de preparada la solución desinfectante: a) testigo sin desarrollo de bacteria; b) cloro a 50 ppm y 1% de M.O.; c) cloro con 50 ppm y 2% de M.O.; d) cloro a 50 ppm y 3% de M.O.; e) cloro a 100 ppm y 1% de M.O.; f) cloro a 100 ppm y 2% de M.O.; g) cloro a 100 ppm y 3% de M.O.; h) cloro a 150 ppm y 1% de M.O.; i) cloro a 150 ppm y 2% de M.O.; j) cloro a	

150 ppm y 3% de M.O.; k) cloro a 200 ppm y 1% de M.O.; l) cloro a 200 ppm y 2% de M.O.; m) cloro a 200 ppm y 3% de M.O.; b,c, d) 50 ppm al 1, 2 y 3%; e, f, g) 100 ppm al 1,2 y 3%; h, i, j) 150 ppm al 1, 2 y 3%; k, l ,m) 200 ppm al 1, 2 y 3%. 67

Figura 10. Desarrollo de *E. coli* en tratamientos con cuatro concentraciones de cloro y tres porcentajes de materia orgánica pasadas 6 horas de preparada la solución desinfectante: a) testigo sin desarrollo de bacteria; b)cloro a 50 ppm y 1% de M.O.; c)cloro con 50 ppm y 2% de M.O.; d)cloro a 50 ppm y 3% de M.O.; e)cloro a 100 ppm y 1% de M.O.; f)cloro a 100 ppm y 2% de M.O.; g) cloro a 100 ppm y 3% de M.O.; h) cloro a 150 ppm y 1% de M.O.; i) cloro a 150 ppm y 2% de M.O.; j) cloro a 150 ppm y 3% de M.O.; k) cloro a 200 ppm y 1% de M.O.; l) cloro a 200 ppm y 2% de M.O.; m) cloro a 200 ppm y 3% de M.O.; b,c, d) 50 ppm al 1, 2 y 3%; e, f, g) 100 ppm al 1,2 y 3%; h, i, j) 150 ppm al 1, 2 y 3%; k, l ,m) 200 ppm al 1, 2 y 3%. 67

Figura 11. Desarrollo de *E. coli* en tratamientos con cuatro concentraciones de cloro y tres porcentajes de materia orgánica pasadas 8 horas de preparada la solución desinfectante: a) testigo sin desarrollo de bacteria; b)cloro a 50 ppm y 1% de M.O.; c)cloro con 50 ppm y 2% de M.O.; d)cloro a 50 ppm y 3% de M.O.; e)cloro a 100 ppm y 1% de M.O.; f)cloro a 100 ppm y 2% de M.O.; g) cloro a 100 ppm y 3% de M.O.; h) cloro a 150 ppm y 1% de M.O.; i) cloro a 150 ppm y 2% de M.O.; j) cloro a 150 ppm y 3% de M.O.; k) cloro a 200 ppm y 1% de M.O.; l) cloro a 200 ppm y 2% de M.O.; m) cloro a 200 ppm y 3% de M.O.; b,c, d) 50 ppm al 1, 2 y 3%; e, f, g) 100 ppm al 1,2 y 3%; h, i, j) 150 ppm al 1, 2 y 3%; k, l ,m) 200 ppm al 1, 2 y 3%. 68

Figura 12. Desarrollo de *E. coli* en tratamientos con cuatro concentraciones de cloro y tres porcentajes de materia orgánica pasadas 24 horas de preparada la solución desinfectante: a) testigo sin desarrollo de bacteria; b)cloro a 50 ppm y 1% de M.O.; c)cloro con 50 ppm y 2% de M.O.; d)cloro a 50 ppm y 3% de M.O.; e)cloro a 100 ppm y 1% de M.O.; f)cloro a 100 ppm y 2% de M.O.; g) cloro a 100 ppm y 3% de M.O.; h) cloro a 150 ppm y 1% de M.O.; i) cloro a 150 ppm y 2% de M.O.; j) cloro a 150 ppm y 3% de M.O.; k) cloro a 200 ppm y 1% de M.O.; l) cloro a 200 ppm y 2% de M.O.; m) cloro a 200 ppm y 3% de M.O.; b,c, d) 50 ppm al 1, 2 y 3%; e, f, g) 100 ppm al 1,2 y 3%; h, i, j) 150 ppm al 1, 2 y 3%; k, l ,m) 200 ppm al 1, 2 y 3%. 69

Figura 13. Desarrollo de *Escherichia coli* en tratamientos testigos sin aplicación de desinfectantes: a) testigo 0; b) testigo + (con bacteria); c) testigo con nivel 3 de pH y bacteria; d) testigo con nivel 6.5 de pH y bacteria; e) testigo con nivel 11 de pH y bacteria. 69

Figura 14. Desarrollo de *Escherichia coli* 24 horas después de su inoculación en tratamientos con cloro y cinco valores de pH del agua: a) testigo 0 sin desarrollo

bacteriano; b) cloro a 50 ppm y 3 de pH; c) cloro 50 ppm y 4.5 de pH; d) cloro 50 ppm y 6.5 de pH; e) cloro 50 ppm y 9 de pH; f) cloro 50 ppm y 11 de pH. 70

Figura 15. Desarrollo de *Escherichia coli* 24 horas después de su inoculación en tratamientos con cloro y cinco valores de pH del agua: a) testigo 0 sin desarrollo bacteriano; b) cloro a 100 ppm y 3 de pH; c) cloro 100 ppm y 4.5 de pH; d) cloro 100 ppm y 6.5 de pH; e) cloro 100 ppm y 9 de pH; f) cloro 100 ppm y 11 de pH. 70

Figura 16. Desarrollo de *Escherichia coli* 24 horas después de su inoculación en tratamientos con cloro y cinco valores de pH del agua: a) testigo 0 sin desarrollo bacteriano; b) cloro a 150 ppm y 3 de pH; c) cloro 150 ppm y 4.5 de pH; d) cloro 150 ppm y 6.5 de pH; e) cloro 150 ppm y 9 de pH; f) cloro 150 ppm y 11 de pH. 71

Figura 17. Desarrollo de *Escherichia coli* 24 horas después de su inoculación en tratamientos con cloro y cinco valores de pH del agua: a) testigo 0 sin desarrollo bacteriano; b) cloro a 200 ppm y 3 de pH; c) cloro 200 ppm y 4.5 de pH; d) cloro 200 ppm y 6.5 de pH; e) cloro 200 ppm y 9 de pH; f) cloro 200 ppm y 11 de pH. 71

Figura 18. Inhibición de *Escherichia coli* 24 horas después de su inoculación en tratamientos con cuatro concentraciones de cloro y cuatro niveles de dureza del agua: a) cloro a 200 ppm y 75 ppm de agua dura; b) cloro a 150 ppm y 75 ppm de agua dura; c) cloro a 100 ppm y 75 ppm de agua dura; d) cloro a 50 ppm y 75 ppm de agua dura; e) cloro a 200 ppm y 100 ppm de agua dura; f) cloro a 150 ppm y 100 ppm de agua dura; g) cloro a 100 ppm y 100 ppm de agua dura; h) cloro a 50 ppm y 100 ppm de agua dura; i) cloro a 200 ppm y 200 ppm de agua dura; j) cloro a 150 ppm y 200 ppm de agua dura; k) cloro a 100 ppm y 200 ppm de agua dura; l) cloro a 50 ppm y 200 ppm de agua dura; m) cloro a 200 ppm y 350 ppm de agua dura; n) cloro a 150 ppm y 350 ppm de agua dura; o) cloro a 100 ppm y 350 ppm de agua dura; p) cloro a 50 ppm y 350 ppm de agua dura. 72

Figura 19. Desarrollo de *Escherichia coli* 24 horas después de su inoculación en testigos con agua dura y ozono: a) testigo 0 con agua sin desarrollo de la bacteria; b) testigo con ozono (5ppm) sin desarrollo de la bacteria; c) testigo+ con bacteria presento desarrollo óptimo; d) testigo con desarrollo óptimo de bacteria a 350 ppm de dureza del agua; e) testigo con desarrollo óptimo de bacteria a 75 ppm de dureza del agua. 73

Figura 20. Desarrollo de *Escherichia coli* 24 horas después de su inoculación en tratamientos con 5ppm de ozono y cuatro niveles de dureza del agua : a) testigo 0 con agua sin desarrollo de la bacteria; b) desarrollo óptimo de la bacteria con ozono a 5ppm y 75 ppm de dureza del agua; c) desarrollo óptimo de la bacteria con ozono a 5ppm y 75 ppm de dureza del agua; d) desarrollo óptimo de la bacteria con ozono a 5ppm y 100 ppm de dureza del agua; e) desarrollo óptimo de la bacteria con ozono a 5ppm y 200 ppm de dureza del agua; f) desarrollo óptimo de la bacteria con ozono a 5ppm y 350 ppm de dureza del agua. 73

Figura 21. Desarrollo de *Escherichia coli* 24 horas después de su inoculación en tratamientos con 10ppm de ozono y cuatro niveles de dureza del agua : a) testigo 0 con agua sin desarrollo de la bacteria; b) desarrollo óptimo de la bacteria con ozono a 10 ppm y 75 ppm de dureza del agua; c) desarrollo óptimo de la bacteria con ozono a 10 ppm y 100 ppm de dureza del agua; d) desarrollo óptimo de la bacteria con ozono a 10 ppm y 200 ppm de dureza del agua; e) desarrollo óptimo de la bacteria con ozono a 10 ppm y 350 ppm de dureza del agua. 73

1. INTRODUCCIÓN

En el agua y el medio ambiente siempre están presentes los microorganismos, de los miles de familias y variedades de ellos, la gran mayoría no son nocivos al hombre, inclusive convivimos con ellos y son parte de los procesos de la vida. Los microorganismos que no son de tipo viral como las bacterias son capaces de reproducirse y efectuar todas las funciones vitales por sí mismas, a diferencia de los virus, los cuales deben penetrar en la pared celular del microorganismo. Algunos ejemplos de bacterias que afectan al hombre son: *Vibrio colerae* causante del cólera, *Escherichia coli* causante de la disentería y *Salmonella* la cual es causante de gastroenteritis (Ingraham, 1998).

Los microorganismos patógenos o causantes de enfermedades son llamados agentes infecciosos para distinguirlos de los que no los son. Los agentes infecciosos pueden ser transmitidos al hombre por vehículos como aire y alimentos pero el más común es el agua. Durante siglos y antes de los descubrimientos en microbiología, debido a que se desconocían las causas y por las pésimas condiciones de higiene, las epidemias infecciosas arrasaban con poblaciones enteras en Europa (Ingraham, 1998).

Una vez establecido y probado que los microorganismos eran la causa de las terribles enfermedades que causaban tantas muertes se busco la manera de evitar o disminuir la incidencia de contaminación de las aguas potables y sus fuentes, dando inicio a la ciencia de la higiene. Uno de los primeros tratamientos implementados para disminuir las enfermedades infecciosas producidas por el agua fue la sedimentación y filtración, que si disminuía la carga microbiana pero no garantizaba la desinfección total (Manahan, 2007).

El aumento significativo en todo el mundo de enfermedades transmitidas por alimentos ha sido reconocido en los últimos años, especialmente derivados de organismos entéricos. Este problema sugiere la necesidad de un control más efectivo y aunque el riesgo cero no existe, se puede garantizar alimentos sanos y seguros aplicando medidas de control a lo largo de toda la cadena de producción alimentaria (SAGARPA, 1998).

Los compuestos clorados tienen numerosas aplicaciones en la industria sirviendo como blanqueadores y decolorantes en la fabricación de papel y textiles; en los procesos de

cloración para la obtención de compuestos orgánicos e inorgánicos; como desinfectante para la potabilización de las aguas, el tratamiento de aguas residuales, piscinas y como componente de desinfectantes domésticos. La cloración de aguas se utiliza para destruir o desactivar a los microorganismos causantes de enfermedades (Burns, 2003).

Las nuevas tendencias en el consumo mundial de alimentos se orientan a la demanda de productos que cumplan, cada vez más, estrictas normas de sanidad, inocuidad y calidad. Este panorama es producto de un entorno comercial que día a día se torna más exigente y competitivo debido a la globalización de los mercados y a la interdependencia económica (Díaz, 2008).

La desinfección del agua podría evitar que ésta sea un vehículo para la transmisión de enfermedades como el cólera, hepatitis infecciosa, poliomielitis, fiebres tifoidea y paratifoidea, amibiasis, balantidiasis, campilobacteriosis, enteritis causada por rotavirus, y diarrea causada por cepas patógenas de *Escherichia coli* (Chaidez, 2001).

1.1 JUSTIFICACIÓN

Existen varios mitos en la reducción de riesgos biológicos, con el uso de desinfectantes como el hipoclorito de sodio y ozono aplicados en el agua para lavado de frutos en postcosecha, tales mitos dicen que se anula o reduce el potencial desinfectante del cloro con el uso de agua con pH ácidos ó alcalinos, uso de agua dura, aguas con contenidos de materia orgánica, soluciones del cloro al paso del tiempo (en horas) desde que se prepara la dosis o concentración a utilizar. Lo anterior, hace necesario dilucidar cómo se ve afectado el desinfectante en el agua en postcosecha bajo los diferentes escenarios, con la finalidad de que los desinfectantes sean eficaces, eficientes y racionales en la cadena de producción.

1.2. OBJETIVOS

1. Esclarecer los mitos y determinar el potencial desinfectante del cloro a diferentes concentraciones en agua postcosecha con 3 porcentajes de materia orgánica y contaminada con *E. coli*.
2. Esclarecer los mitos y conocer el potencial desinfectante del cloro en agua postcosecha a diferentes niveles de pH y dureza, contaminada con *E. coli*.
3. Evaluar el potencial desinfectante del ozono a diferentes niveles de dureza de agua contaminada con *Escherichia coli* para el lavado en postcosecha.

1.3 HIPÓTESIS

- Al menos una concentración de cloro inhibirá eficientemente el desarrollo de *Escherichia coli*.
- El contenido de materia orgánica afecta la eficacia del desinfectante, sin importar la concentración utilizada ni el tiempo transcurrido desde su preparación.
- Los pH alcalinos afectan el potencial desinfectante del cloro.
- A mayor dureza del agua menor es el potencial desinfectante del cloro.
- El poder de inhibición del ozono se ve afectado por algún nivel de dureza del agua.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

El abastecimiento de agua para uso y consumo humano con calidad adecuada es fundamental para prevenir y evitar la transmisión de enfermedades gastrointestinales y otras, para lo cual se requiere establecer límites permisibles en cuanto a sus características bacteriológicas, físicas, organolépticas, químicas y radioactiva (SAGARPA, 2007).

Con el fin de asegurar y preservar la calidad del agua en los sistemas, hasta la entrega al consumidor, se debe someter a tratamientos de potabilización con el fin de realizar una destrucción de organismos patógenos por medio de la aplicación de productos químicos o procesos físicos. Las frutas y verduras necesitan de limpieza y desinfección para prevenir posibles brotes infecciosos, ya que estos pueden ser portadores de agentes patógenos adquiridos durante su cosecha, empaque, traslado, llegando a un punto de venta y donde es adquirido por las personas. (SAGARPA, 2002).

2.1. LIMITES PERMISIBLES DE CALIDAD DEL AGUA

El contenido de organismos resultante del examen de una muestra simple de agua, se debe ajustar a lo establecido en el cuadro 1.

Cuadro 1. Límites permisibles de calidad del agua (NOM-127-SSA1-1994).

CARACTERISTICA	LIMITE PERMISIBLE
Organismos coliformes totales	2 NMP/100 ml
	2 UFC/100 ml
Organismos coliformes fecales	No detectable NMP/100 ml
	Cero UFC/100 ml

Los resultados de los exámenes bacteriológicos se deben reportar en unidades de NMP/100 ml (número más probable por 100 ml), si se utiliza la técnica del número más probable o UFC/100 ml (unidades formadoras de colonias por 100 ml), si se utiliza la técnica de filtración de membrana.

2.1.1. COLIFORMES TOTALES

Este grupo de bacterias pertenece a la familia Enterobacteriaceae, se caracterizan porque fermentan la lactosa con producción de gas a 35-37°C en 48 horas, son bacilos gram negativos, no formadores de esporas de vida libre y se transmiten por malos hábitos de manipulación en los alimentos. Este grupo incluye los géneros ***Escherichia***, ***Enterobacter***, ***Citrobacter***, ***Proteus*** y ***Klebsiella***. Son particularmente útiles como componentes de criterios microbiológicos para indicar contaminación post proceso térmico (SAGARPA 2007).

2.1.2. COLIFORMES FECALES

Son coliformes que fermentan la lactosa con producción de gas a una temperatura de 44 – 45°C ± de vida libre y se transmiten por malos hábitos de manipulación en los alimentos. En este grupo se incluye el 90% de las colonias de *Escherichia coli* y algunas cepas de *Enterobacter*, *Citrobacter* y *Proteus*. En el género *Enterobacter* están dos grupos importantes el de *Salmonella* y el de *Shigella*. Su presencia en el alimento brinda información sobre las condiciones higiénicas del producto y la eventual presencia de contaminación por patógenos como los anteriormente mencionados (SAGARPA 2007).

2.2. PELIGROS ASOCIADOS CON PRODUCTOS HORTOFRUTICOLAS

Las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) son enfermedades que resultan de la ingestión de alimentos que contienen microorganismos perjudiciales vivos y se pueden generar o manifestar a través de infecciones transmitidas por alimentos a partir de un alimento o de agua contaminada. Son llamadas así porque el alimento actúa como vehículo de transmisión de organismos dañinos y sustancias tóxicas (Avendaño, 2002).

El control sanitario en la preparación de alimentos es determinante para reducir los factores de riesgo que influyen en la transmisión de enfermedades por alimentos para proteger la salud del consumidor. Los criterios microbiológicos ofrecen a la industria alimentaria y a los organismos reguladores las alertas para controlar los sistemas de elaboración de alimentos (FDA, 1998).

2.3. VEHÍCULOS DE CONTAMINACIÓN

Directos

De contacto: a través de la manipulación de alimentos con las manos sucias.

Secreciones: Tos, estornudos de los manipuladores (SAGARPA, 2007).

Indirectos

Medio ambiente sucio, vehículos: agua, aire, el alimento mismo, vectores: moscas, ratas, cucarachas (SAGARPA 2007).

2.4. CONTAMINACIÓN CRUZADA

La contaminación cruzada es la transmisión de sustancias dañinas o microorganismos a los alimentos, a través de las manos cuando se tocan alimentos crudos y después alimentos cocidos o listos para consumirse, sin antes lavarse las manos. El uso de tablas, cuchillos, palas, mesas, rebanadoras, molinos o cualquier superficie en contacto con los alimentos crudos, que sin ser lavados y desinfectados, son utilizados para alimentos cocidos o listos para servirse. Trapos y esponjas para la limpieza de tablas, mesas, equipo, utensilios e inclusive manos que hayan tocado alimentos crudos, que no se lavan ni desinfectan y se utilicen para limpiar superficies de contacto con los alimentos (SAGARPA, 2007).

2.5. DESINFECCIÓN DEL AGUA

La desinfección del agua se refiere a la inactivación de los microorganismos especialmente los patógenos que son causantes de enfermedades, que pueden causar daños a los consumidores de agua, y cuya intensidad y gravedad varía dependiendo de muchos factores entre ellos: edad y condición física de la persona infectada, así como del tipo de microorganismo causante de la enfermedad y de la intensidad o concentración del agente infeccioso en el agua. La desinfección es tal vez el tratamiento más importante y de mayor trascendencia en la potabilización del agua. Aunque ya son muy esporádicos los casos en los cuales ocurren brotes infecciosos por consumo de aguas infectadas, en los países subdesarrollados las muertes y enfermedades por aguas contaminadas con microorganismos patógenos causan millones de víctimas cada año (Ingraham, 1998).

2.6. FACTORES QUE AFECTAN LA EFICACIA DE UN DESINFESTANTE QUÍMICO

La eficacia de los desinfestantes químicos está en función de parámetros tales como:

1: TIEMPO DE CONTACTO: Una de las variables más importantes en el mecanismo de desinfección es el tiempo de contacto. Ha sido observado que mientras mayor sea el tiempo de contacto mayor es la efectividad del desinfectante (SAGARPA, 2007).

Los microorganismos que forman esporas y quistes son muy resistentes al cloro y requieren de mayor tiempo de contacto y/o mayores dosis de cloro a una temperatura determinada a un pH específico (SAGARPA 2007).

2: CONCENTRACIÓN: La concentración del desinfectante junto con el tiempo de exposición, son los factores más importantes en los efectos bactericidas. A mayor concentración mayor es el poder bactericida, aunque se llega a un límite en el cual el efecto bactericida permanece constante aún cuando se incremente la concentración del bactericida (SAGARPA, 2007).

3: TEMPERATURA: La temperatura también es factor de importancia en la efectividad germicida.

4: NUMERO DE MICROORGANISMOS: Otro factor a considerar en el proceso de desinfección, es la población de microorganismos. Mientras mayor sea el número de microorganismos a destruir mayor es el tiempo de contacto requerido y/o la concentración del desinfectante empleado (SAGARPA, 2007).

5: TIPO DE MICROORGANISMOS: Algunas bacterias mueren fácilmente en contacto con el agente bactericida; otros son altamente resistentes y requieren de una acción mas intensa. Los microorganismos que producen esporas, son especialmente resistentes a la acción bactericida y solo son destruidos por efectos caloríficos, o por una larga e intensa exposición a algún agente físico o químico (SAGARPA, 2007).

6: pH DEL LIQUIDO SUSPENDIDO: El pH indica el valor de acidez del agua, es también una indicación del numero de iones hidrogeno, si se habla de un pH neutro, se tiene un valor de 7 en el cual se tiene la misma cantidad de iones hidrogeno y de iones hidroxilo. Cuando el pH es acido se tiene un valor superior a 7 y una cantidad mayor de iones hidroxilos por lo que se dice que es un nivel alcalino (Manahan, 2007).

2.7. INOCUIDAD

Los gobiernos de casi todos los países se han visto obligados a incrementar esfuerzos que permitan una más eficiente atención a los problemas relacionados con el consumo de alimentos, el tema de la inocuidad alimentaria para la producción de productos inocuos, es decir, la garantía de que los alimentos no causen daño a la salud, se ha convertido en una prioridad, tanto para la protección de la salud pública, como para seguir manteniendo la competitividad, posicionamiento y un mayor acceso de los productos agroalimentarios en los mercados. Además de tener implicaciones en los aspectos antes mencionados, esta forma tiene un impacto en la oferta y la demanda, higiene y sanidad laboral; lo cual repercute en la estructura de costos en la cadena agroalimentaria (Campos, 2000).

La influencia de la ley de inocuidad alimentaria en México ha tenido una gran influencia en los productores de frutas y hortalizas frescas en México, ya que de alguna manera con esto se forman barreras técnicas no arancelarias para la comercialización de los productos agroalimentarios con el principal mercado mundial, ya que como lo indican datos de la SAGARPA, durante el primer semestre de 2010 las exportaciones agroalimentarias aumentaron 12.7%, lo que representó 5 mil millones de dólares. En 2009 las exportaciones de México a Estados Unidos representaron el 68.2%, de los cuales 52% fueron vegetales, frutas frescas y procesadas, así como jugos de frutas y vegetales (Avendaño, 2002).

2.8. *Escherichia coli* (Bryan, 1984)

2.8.1. ANTECEDENTES Y CLASIFICACIÓN

La bacteria *Escherichia coli* se clasifica de la manera siguiente.

Reino: Protista

División: Protofitas

Clase: Ezquizomycetos

Orden: Eubacteriales

Suborden: Eubacteriineae

Familia: Enterobacteriaceae

Tribu: Eschericheae

Género: *Escherichia*

Especie: *E. coli* (Bryan, 1984)

El término enterobacteriáceas significa etimológicamente “bacterias del intestino”, pero no todas las bacterias que tienen su hábitat habitual en el intestino quedan incluidas en el concepto bacteriológico de enterobacteriáceas ni todas las incluidas en esta familia se encuentran en el intestino (Levine, 1987).

La familia Enterobacteriaceae está formada por bacilos Gram negativos, no esporulados, pueden ser móviles o inmóviles con flagelos peritricos. Se desarrollan bien en medios artificiales simples. Todas las especies son oxidasa negativos, reducen nitratos a nitritos y fermentan glucosa (Pelczar, 1998).

Las cepas patogénicas de *Escherichia coli* se dividen, de acuerdo con los síntomas clínicos que producen y por sus mecanismos de infección en:

Escherichia coli enteropatógena (ECEP). Este grupo fue el primero que se identificó hacia los años 1940. Su patogenicidad se observó en niños menores de dos años considerándose una de las principales causas de diarrea infantil, se caracterizó por diarrea acuosa, en ocasiones vómito y fiebre baja. La transmisión que ocurre en adultos es por el consumo de agua y alimentos contaminados o directamente siguiendo la ruta ano-mano-boca. Los portadores asintomáticos parecen ser el reservorio más importante (Fernández, 2000).

Escherichia coli interinvasiva (ECEI). Las cepas de este grupo muestran semejanzas bioquímicas y posee antígenos que comparte con *Shigella*. Una proporción elevada de cepas de ECEI son anaerogénicas y fermentan la lactosa en 48 horas. Sus características de patogenicidad, radican en la capacidad para invadir y proliferar dentro del epitelio intestinal provocando lisis celular, además tiene la capacidad de elaborar una o más enterotoxinas que son importantes en la producción de diarrea (Fernández, 2000).

Los síntomas característicos son diarrea acuosa, con sangre y moco, fiebre y ocasionalmente aparece vomito. Las cepas se asocian más a brotes que a casos aislados, en los cuales la transmisión puede ser de persona a persona, por ingestión de alimentos y agua contaminada, convirtiéndose en un patógeno importante en niños mayores de seis meses (Fernández, 2000).

E. coli enterotoxigénica (ECET). Fue reconocida como causa importante de diarrea en humanos en Bangladesh e India en 1968, países donde las infecciones por este microorganismo son endémicas y constituye una de las principales causas de deshidratación infantil (Fernandez, 2000).

Son importantes en lactantes, principalmente en niños menores de dos años, y en particular durante los primeros seis meses de vida. En los niños y adultos puede ser asintomáticos y poco frecuente o producir diarrea del viajero. Son capaces de producir enterotoxinas LT (enterotoxina termolábil), bastante parecida a la toxina del cólera y ST (enterotoxina termoestable), que parece encubrir a un grupo de varias toxinas parecidas (Fernández, 2000).

El cuadro clínico se caracteriza por diarrea aguda, generalmente sin sangre, ni moco, dolor abdominal, malestar y náuseas, mientras que el vómito y la fiebre son menos frecuentes, en ocasiones en su forma más severa semeja al cólera por la diarrea profusa. La contaminación fecal del agua y alimentos es la principal fuente de infección, siendo la dosis infectiva de 10^8 UFC (Unidades Formadoras de Colonias) (Roels et al, 1998).

Escherichia coli enteroadherente (ECEA). Esta cepa es las más recientemente reconocida. Este germen se identifica como causante de la diarrea en niños. Sin embargo es un agente etiológico de diarrea en adultos y adolescentes. Las cepas de este grupo no forman toxinas termolábiles o termoestables, así como también no son invasivas (Fernández, 2000).

Escherichia coli enteroadherente (ECEG). Se refiere tanto a casos individuales con brotes asociados a alimentos. El cuadro clínico se presenta con diarrea acuosa con moco, y eventualmente sangre; tiende a ser muy persistente, hasta 14 días de duración (Fernández, 2000).

Escherichia coli enterohemorrágica (O157:H7)

Escherichia coli son bacterias que normalmente viven en los intestinos humanos y animales. Aunque la mayoría de las cepas son inofensivas, se conoce que varias producen toxinas que pueden causar diarrea. Una cepa de *E. coli* en particular, llamada O157:H7, puede causar diarrea severa y lesiones en los riñones.

Cualquier persona, de cualquier edad, se puede infectar con *E. coli* O157:H7, pero es más factible que los más jóvenes y los más ancianos desarrollen complicaciones graves (Fernández, 2000).

El organismo puede vivir en el intestino de algún ganado saludable y la contaminación de la carne puede ocurrir durante el proceso de matanza. La infección de *E. coli* O157:H7 se puede contraer comiendo carne, sobre todo carne molida semi-cruda o no cocinada completamente. Beber jugos de frutas no pasteurizados, leche cruda o aguas residuales contaminadas también son causa de infección, así como comer frutas o verduras contaminadas. También puede ocurrir por transmisión de persona a persona (Fernández, 2000).

Escherichia coli (O104:H4)

La bacteria de *E. Coli* responsable de una epidemia mortal que dejó muertos y afectados en Europa, se trato de una nueva cepa que jamás había sido vista antes, informó la Organización Mundial de la Salud (OMS) (Euronews, 2011).

La OMS indicó que los estudios preliminares de genética sugirieron que la cepa fue una forma mutante de otras dos bacterias diferentes de *E. Coli* y ésta tiene genes letales, lo que explica la razón por la cual la epidemia ocurrida en Europa fue tan generalizada y peligrosa. El problema inicio en el norte de Alemania, lo que daño fuertemente las exportaciones, esto se origino en vegetales orgánicos. La Union Europea cordo pagar 210 millones de Euros a productores por que los productos fueron señalados falsamente, afectando a países como Francia, España, Italia (Cnn-mexico, 2011).

2.8.2. IMPORTANCIA

Escherichia coli por su origen es un microorganismo específicamente fecal, está siempre presente en grandes cantidades en las heces de los seres vivos de sangre caliente y rara

vez se encuentran en agua o en suelo que no hayan sufrido algún tipo de contaminación fecal. Por lo que la presencia de *E. coli* se puede interpretar: “Cuando está presente en un gran número, ha tenido lugar una polución fuerte y/o reciente por desechos de animales o humanos” (Jay, 2000).

2.8.3. CICLO DE VIDA de *Escherichia coli*.

La fuente de infección de *E. coli* son las personas infectadas ya sea por alimentos contaminados, agua contaminada o carne mal cocida. La diseminación es por vía fecal-oral. Generalmente el periodo de incubación para la mayoría de las cepas de *E. coli* es de 6 horas a 6 días (Ingraham, 1998).

Las personas que se encuentran sanas o libre de este patógeno al consumir alimentos o verduras contaminadas que fueron regados por aguas contaminadas por *E. coli*, adquieren de inmediato la bacteria. Esto ocurre por falta de higiene, el no lavarse las manos, debido a que esta bacteria se disemina de manera fecal-oral (Lozano, 2000).

Estos microorganismo patógenos llegan al agua a través de excrementos de humanos o animales y esto es porque tanto las personas como los animales defecan al aire libre y microorganismos como *E. coli* llegan al agua por escurrimiento de lluvias, polvo aéreo y desechos vegetales. Estos microorganismos pueden sobrevivir ahí por largos periodos de tiempo (Brock, 1998).

La infección procedente del agua es una fuente importante de enfermedad, por lo que las aguas potables o de riego se deben proteger de toda contaminación de origen intestinal (SAGARPA, 2007).

2.8.4. SÍNTOMAS

Un grupo raro que producen una potente toxina es *Escherichia coli* O157, la cual puede causar un daño severo a las capas del intestino. Brotes de este grupo están asociados con carne de res cruda o mal cocida y leche no pasteurizada. Algunas personas, sobre todo los más viejos o muy jóvenes, desarrollan anemia y falla renal. Esta enfermedad

puede tener una tasa de mortalidad de hasta 50% entre las personas de más edad (Bryan, 1984).

2.8.5. CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS

Los miembros de *E. coli* son bastones gruesos y cortos, que miden de 0.4 a 0.7 μ de ancho y 1.0 a 4.0 μ de longitud. Pueden estar solos o en parejas. Delgados o gruesos y ocasionalmente bipolares. También se presentan en formas pleomórficas. *E. coli* no produce esporas. Es capaz de fermentar la glucosa y la lactosa (Delaat, 1992).

2.8.6. CARACTERÍSTICAS DEL CULTIVO DE *Escherichia coli*.

E. coli es aeróbica, pero facultativamente anaeróbica. Los miembros de esta especie se desarrollan bien en medios sencillos de laboratorio, es decir, los que tienen una fuente de nitrógeno inorgánico y glucosa. Producen colonias grandes, húmedas, convexas, hasta en formas de cúpula, enteras, opacas, butirosas, sobre agar sangre en 24 horas. El crecimiento óptimo ocurre a temperaturas entre 20 y 40 °C y a un pH entre 6 y 8. El desarrollo se inhibe con verde brillante y con una mezcla de desoxicolato de sodio y citrato de sodio (Delaat, 1992).

2.8.7. CARACTERÍSTICAS FISIOLÓGICAS.

Estas bacterias crecen abundantemente en los medios nutritivos ordinarios y se pueden cultivar en los medios nutritivos más sencillos, es decir, los que tiene una fuente de nitrógeno inorgánico y glucosa. El crecimiento se presenta a una temperatura que oscila entre 10 y 46 °C, siendo el nivel óptimo de 37°C, la mayor parte de las cepas se destruyen al exponerlas a 60 °C durante 30 minutos, pero se pueden encontrar ocasionalmente variedades más resistentes (Freeman, 1992).

Temperatura óptima: 37 °C, aerobio y anaerobio facultativo, reduce los nitritos a nitratos, la forma indol en caldo de peptona, la prueba de rojo de metilo es positiva, la reacción de Voges-Proskauer es negativa, no produce sulfuro de hidrógeno, pero produce ácidos y gas (CO₂:H₂:1:1) (Bióxido de carbono de hidrogeno a partes iguales) de la glucosa, la levulosa, la galactosa, la lactosa, la maltosa, la arabinosa, la xilosa, la ramnosa y el manito; variable en la sacarosa, la rafinosa, la silicina y el dulcitol (Cattral, 1992).

2.8.8. CONTROL Y TRATAMIENTO.

Una manera de controlar a *E. coli* es tener cuidado de lo que se come en la calle, ya que esta bacteria se puede obtener en los alimentos mal procesados, mal lavados o mal preparados (Weestrech, 1980).

Las estrategias de control de los microorganismos patógenos consisten en:

- a) evitar el acceso de los microorganismos a los alimentos
- b) inhibir el desarrollo
- c) inactivar los microorganismos

Entre las medidas que evitan el acceso de los microorganismos a frutas y verduras de consumo en fresco, se debe: tener cuidado con el agua con la que se riega, ya que si el agua está contaminada por heces fecales, las frutas y verduras estarán contaminadas y posteriormente pasaran al hombre o a quien las consuma (Weestrech, 1980).

Pelczar (1998) mencionó que un aumento de la temperatura con otro agente que puede ser químico, apresura la destrucción de los microorganismos; la destrucción de *E.coli* en presencia de una solución de fenol se acelera considerablemente cuando la temperatura aumenta de 30 a 42°C. Así una cantidad pequeña del agente químico a una temperatura elevada logrará el mismo resultado que una cantidad mayor del mismo agente a temperatura más baja.

2.9. CLORO

El cloro es un elemento muy reactivo, por lo que no se encuentra en la naturaleza como elemento aislado pero sí formando parte de muchos compuestos minerales y orgánicos en la litosfera, en la hidrosfera y en los seres vivos (Burns, 2003).

El mar constituye la mayor reserva natural de cloro que por fotólisis de sus cloruros produce ácido clorhídrico, emitido también a la atmósfera por las erupciones volcánicas; mientras que algunos seres vivos entre los que se encuentran ciertas algas marinas, los hongos, bacterias y plantas contribuyen a la formación de clorometanos (Burns, 2003).

Por su parte, en la combustión de plantas, maderas y minerales, la presencia del ión cloruro produce compuestos organoclorados (dioxinas y furanos) (Lim, 1998).

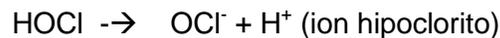
Existen compuestos de cloro en los tejidos como la piel, en la sangre, en los dientes, en el sistema inmunitario y en el aparato digestivo de los seres humanos. Así, la producción natural de los compuestos clorados se neutraliza por la propia naturaleza, manteniendo un equilibrio dinámico del que solo pueden destacarse efectos beneficiosos (Ingraham, 1998).

2.9.1. DESINFECCIÓN POR CLORO Y DERIVADOS

El cloro y sus derivados son por mucho los agentes desinfectantes que más se emplean en el mundo. Es posible emplear compuestos tales como: el gas cloro, el hipoclorito de sodio, el hipoclorito de calcio o compuestos organoclorados como el ácido tricloroisocianurico (cloro 90). Eventualmente todos ellos producen el ácido hipocloroso HClO y el ión hipoclorito OCl^- que son los agentes activos, y su efectividad depende de la cantidad de estos componentes que el compuesto clorado proporcione al estar en solución acuosa. Con frecuencia la cloración se refiere a la adición de algún componente clorado que produzca el agente activo, independientemente de la sal o compuesto del que provenga.

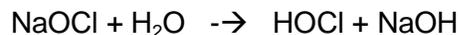
www.cloro.info/index.asp?page=589

El cloro gaseoso Cl₂ en contacto con el agua reacciona de la siguiente manera:

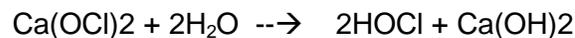


www.cloro.info/index.asp?pge=589

En el caso de una sal de hipoclorito, como es el caso del hipoclorito de sodio, la reacción es la siguiente:



Con el hipoclorito de calcio ocurre la reacción



En ambos casos, el ácido hipocloroso HClO formado por la hidrólisis del hipoclorito de sodio o por el hipoclorito de calcio, se disocia a iones hidrogeno y ion hipoclorito.

www.cloro.info/index.asp?pge=589

2.9.2. REACCIONES DEL CLORO CON COMPONENTES DEL AGUA

El cloro cuando genera hipoclorito y ácido hipocloroso no solo reacciona con las células microbianas. Es un agente químico sumamente activo y reacciona con el material orgánico y con otras especies químicas que se encuentran presentes en el agua a desinfectar (Manahan, 2007).

Destruye materia orgánica formando compuestos organoclorados:



Con el ácido sulfhídrico produce azufre elemental



www.cloro.info/index.asp?pge=589

Algunas de estas reacciones son deseables, ya que de esta manera es posible eliminar el ácido sulfhídrico de intenso olor y sabor desagradable, que se encuentra disuelto en algunas aguas naturales (Manaham, 2007).

La formación de organoclorados cuando hay presente materia orgánica en el agua, es uno de los principales argumentos para los que no están de acuerdo en que la cloración es la mejor forma de desinfectar el agua (Burns, 2003).

La presencia de trihalometanos como el cloroformo, CCl_4 , el tricloro metano CHCl_3 , el dicloro, bromo, metano CHCl_2Br y otros mas puede ser detectada en aguas que han sido desinfectadas por este medio. Son cantidades mínimas al nivel de partes por billón, pero aún así son motivo de preocupación y controversia ya que cuando estos compuestos se dosifican de manera frecuente a animales de laboratorio en cantidades apreciables, desarrollan tumores cancerosos y esta es la causa de tal preocupación (LAVANGUARDIA, 2001).

2.10. OZONO

El ozono está clasificado como agente irritante X_i no estando clasificado como carcinogénico. Su clasificación como agente irritante se refiere exclusivamente a sus concentraciones en el aire, es decir a los problemas derivados de su inhalación que dependen de la concentración a la que las personas están expuestas (Seese, 1989).

Los valores limites ambientales (VLA) del año 2000 establecen para el ozono, límites de exposición en función de la actividad realizada siendo el valor más restrictivo 0 ppm en exposiciones de 8 horas y 0.2 ppm para periodos inferiores a 2 horas. La norma emitida por la OMS recomienda una concentración máxima de ozono en el aire, para el público en general de 0.05 ppm (0.1 mg/m^3) (Manahan, 2007).

2.10.1. MECANISMO DE ACCIÓN

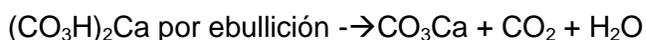
El ozono puede ejercer su poder oxidante mediante tres mecanismos de acción (SAGARPA, 2007).

1. Oxidación directa de la pared celular (lisis), mediante el ozono molecular.
2. Daños a constituyentes del núcleo (nucleótidos), por ruptura de enlaces carbono-nitrógeno (despolimerización).
3. Oxidación por radicales libres.

2.11. DUREZA DEL AGUA.

El agua natural normalmente contiene iones de calcio (Ca^{2+}), magnesio (Mg^{2+}), otros metales como el hierro (Fe^{3+}). La dureza del agua es una característica ocasionada por la presencia de cationes metálicos polivalentes, generalmente cationes de calcio (Ca^{2+}), magnesio (Mg^{2+}) y hierro (Fe^{3+}) y aniones de SO_4^{2-} y CO_3^{2-} , que forman incrustaciones (Tasistro, 2000).

Herce (1963), señala que existen tres clases de durezas de agua: 1) dureza temporal, que se debe a $(\text{CO}_3\text{H})_2\text{Ca}$ y $(\text{CO}_3\text{H})_2\text{Mg}$ (se denomina temporal porque desaparece mediante la ebullición, como lo prueba las siguientes reacciones):



Al precipitar los respectivos carbonatos desaparecen la dureza correspondiente, que en lugar de temporal, sería preferible denominar de bicarbonatos; 2) Dureza permanente, en oposición a lo anterior, ésta no desaparece por ebullición. Se debe a la presencia de sales de Ca^{2+} y Mg^{2+} correspondiente a ácidos fuertes (en la práctica, aniones; Cl^- y SO_4^{2-}), de modo que serán las sales siguientes: Cl_2Ca , SO_4Ca , Cl_2Mg y SO_4Mg ; 3) Dureza total, es la suma de las dos anteriores. Las seis sales que se han señalado anteriormente, son productoras de la dureza en las aguas, se refieren a un solo compuesto: CO_3Ca o CaO (Richards, 1973).

2.11.1. CAUSAS DE LA DUREZA.

La forma de dureza más común y problemática es la causada por la presencia de bicarbonato de sodio ($\text{Ca}(\text{HCO}_3)_2$). El agua la adquiere cuando la lluvia pasa por piedra caliza (CaCO_3). Cuando el agua de lluvia cae disuelve dióxido de carbono (CO_2) del aire y forma ácido carbónico (H_2CO_3), por lo que se acidifica ligeramente (Hay, 1981).

La combinación de iones de calcio Ca^{2+} y magnesio Mg^{2+} con iones cloruro (Cl^-), sulfato (SO_4^{2-}) y nitrato (NO_3^{2-}) se conoce como dureza permanente. Por ejemplo en algunas áreas el sulfato de calcio CaSO_4 puede causar una dureza considerable. La dureza permanente no puede ser removida hirviendo el agua (Anderson, 1977).

El término dureza total es usado para describir la combinación de dureza de magnesio y calcio. Sin embargo, los valores de dureza se reportan por lo general en términos de carbonato de calcio (CaCO_3) porque es la causa principal de las incrustaciones (cuadro 2) (Tasistro 2000).

Cuadro 2. Clasificación estándar de Dureza del agua según su contenido de CaCO_3 (Palacios y Aceves, 1970).

Dureza	mg/L de CaCO_3
Blanda	0-75
Semiblanda	76-150
Dura	151-300
Muy Dura	Mayor de 300

2.11.2. PROBLEMAS CAUSADOS POR LA DUREZA.

- Se necesita más jabón para lavar (el jabón no hace espuma). Algunos detergentes modernos son menos eficientes porque los aniones (también conocidos como surfactantes), reaccionan con los iones calcio Ca^{2+} y magnesio Mg^{2+} y por consiguiente no retienen las partículas de mugre en suspensión (Seese, 1989).

- El sarro puede tapar tuberías y conexiones. Además de hacer menos eficiente hasta en un 90% los elementos de calefacción con una capa de 25mm de carbonato de calcio (CaCO₃) (Seese, 1989).

2.12. CALIDAD DE AGUA PARA ASPERSION DE PLAGUICIDAS.

El agua se usa en varios procesos y de acuerdo a su uso requiere ciertas exigencias de pureza. Por ejemplo, si se necesita agua para irrigar un terreno, esta debe ser baja en sales para evitar un incremento en la salinidad del suelo en condiciones de alta evaporación. Para uso doméstico e industrial se requiere de agua blanda con un contenido de sales disueltas. La calidad del agua puede variar significativamente según el tipo y cantidad de sales disueltas. Las sales se encuentran en cantidades relativamente pequeñas pero significativas y tienen sus orígenes en la disolución o meteorización de las rocas y de los suelos (Cuevas, 1977).

La presencia de solutos disueltos en agua, causan cambios en la estructura y propiedades de la misma, por ejemplo cuando se disuelve NaCl en agua, este se disocia y los iones de Na⁺ y Cl⁻ rodean los polos de la molécula de agua. Así las sales disueltas tienden a romper la estructura normal del agua líquida (Lehningger, 1970).

En la mayoría de las aplicaciones de plaguicidas se usa agua como vehículo para hacer llegar pequeñas cantidades de ingrediente activo a la superficie foliar o al suelo. Aun cuando el agua no tiene efecto biológico sobre la plaga, puede influir considerablemente en el desempeño del plaguicida. El problema de la mala calidad del agua para la aspersión de plaguicidas ha sido reconocido desde hace mucho tiempo por el usuario como por los técnicos involucrados en el control de plagas. Lo más evidente para el usuario son aquellas impurezas que puede ver, tales como fragmentos de plantas, sin embargo, los problemas más graves pueden ser provocados por impurezas que pasan inadvertidas, por ejemplo los cationes o arcillas, y muy recientemente se ha empezado a poner atención también a la calidad biológica del agua (Ocampo, 2000).

Anderson (1977), señaló que al usarse agua dura en la aspersión de herbicidas, puede afectar en gran medida el líquido de aspersión y como consecuencia la acción biológica del herbicida. El grado de dureza es una medida de concentración total, por peso, de los

iones contenidos en el agua, normalmente expresado en partes por millón (ppm). Las características indeseable de las aguas duras con respecto a la aplicación de herbicidas y su efectividad, es que los iones, sobre todo Ca^{2+} , Mg^{2+} y Fe^{3+} , reaccionan con las sales de los herbicidas y con algunos surfactantes para formar sales insolubles que precipitan, eliminando el herbicida y el surfactante de la solución de aspersión.

La efectividad biológica de los plaguicidas es afectada por la dureza del agua, Oxley, et al (1999), señala que lamda-cyhalothrina reduce significativamente su persistencia en agua dura. Se encontró que iones de Ca^{2+} alteran la actividad de herbicidas como el metsulfuron, bromoxinil e imazemathabenz en el control de *Stellaria media*.

Imai, et al (1997), ensayo un jabón insecticida contra *Myzus persicae* ante el rango de dureza de agua de 0 a 417 ppm; encontró que a medida que se incrementa la dureza del agua hay una ligera disminución en el control, teniendo una reducción significativa a 500 ppm, que correspondió a una mortalidad del 42.41% de los insectos.

Smit, et al (2002), encontró que la efectividad biológica del fungicida mancozeb, y de los insecticidas lamda-cyhalothrina, clorpirifos y cipermetrina, redujeron su acción sobre *Alternaría alternata* y escarabajo colorado de la papa (*Leptinotarsa decemlineata*) respectivamente, conforme se fue incrementando el grado de dureza del agua.

Las sales disueltas en el agua influyen sobre la estabilidad de la emulsión debido a que los iones comprimen la caoa difusa y disminuye la estabilidad del coloide. La inestabilidad crece con la fuerza iónica; los iones cálcicos y magnésicos pueden precipitar algunos emulgentes (Barbera, 1989).

2.13. pH.

Un factor importante que hay que tomar en cuenta para la aplicación de plaguicidas es el pH, el rango va de 0 a 14; rangos de pH menores de 7 son considerados ácidos, y mayores de 7 son alcalinos. El ph óptimo de aplicación depende del producto usado, los niveles comúnmente óptimos van de 4.0 a 6.0 y los de mayores problemas de 7.0 a 9.0 (Valdivia y Lastres, 1992).

El pH de los arroyos o fuentes de agua generalmente caen en el rango de 4-9. La mayoría de las aguas están en el rango de ligeramente básico debido a la presencia de carbonatos disueltos y sales de bicarbonatos (Bohmont, 1990).

La razón por la cual el pH del agua de aplicación puede tener efecto sobre los plaguicidas es porque éstos tienen moléculas complejas que se rompen fácilmente en dos o más moléculas inactivas al ser expuestas a extremos alcalinos de pH. Este proceso de rompimiento de la molécula se conoce como hidrólisis alcalina. La hidrólisis alcalina es una reacción química que puede reducir o destruir la efectividad de un plaguicida (Valdivia y Lastres, 1992).

Esta hidrólisis de los plaguicidas se mide en términos de vida media, por ejemplo, si un producto es 100% efectivo cuando se mezcla con el agua, este tendría una vida media de 4 horas, la eficiencia se acorta a la mitad (hasta 50%), en este periodo (Bohmont, 1990). La vida media se define como el periodo de tiempo en el cual el efecto de un plaguicida se reduce en 50%. Por ejemplo el dimetoato a pH 8.0 tiene una vida media de 20 minutos, pero a pH 6.0 tiene una vida media de 3 días (Valdivia y Lastres, 1992).

Los insecticidas están mucho más sujetos a la hidrólisis alcalina que los reguladores de crecimiento, herbicidas, fungicidas, desecantes y defoliantes. Sin embargo, en la actualidad se conoce que hay incrementos dramáticos en el efecto de los herbicidas y desecantes o defoliantes cuando las condiciones de agua alcalinas han sido reducidas o eliminadas. Lo mismo ocurre con los fungicidas y reguladores de crecimiento. El problema de hidrólisis alcalina es muy común en insecticidas organofosforados o herbicidas tio carbamatos, pero otros también pueden ser afectados (Valdivia y Lastres, 1992).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

En el experimento se uso agua destilada, medio selectivo MC para crecimiento y desarrollo de la bacteria *Escherichia coli*, vasos de plástico como contenedores, materia orgánica (M.O.) la cual se adquirió de manera comercial a una concentración de 15.75 % por bolsa, cloro comercial a una concentración de 5 y 6%; un generador de ozono para los tratamientos con ozono, ácidos y sales para modificar el nivel de pH y ajustarlos a sus respectivos niveles de prueba, todo el material se llevo al laboratorio de postgrado de la Maestría en Protección Vegetal del Departamento de Parasitología Agrícola de la Universidad Autónoma Chapingo.

3.1. OBTENCIÓN DE *Escherichia coli*.

Se utilizo la bacteria *Escherichia coli*, la cual se obtuvo del Hospital General “Dr Mauro Belanzauran Tapia”, ubicado en Cuautla, Morelos, la cual se reprodujo en medio selectivo MC (Figura 1).



Figura 1. Cepa de *Escherichia coli* en medio de cultivo MC.

3.2. PREPARACIÓN Y CONCENTRACIÓN DEL PATÓGENO

La concentración utilizada de la Bacteria *E. coli* fue de 1×10^9 , la cual se obtuvo realizando la técnica de dilución seriada: se tomo una muestra con un asa bacteriológica

de una caja con desarrollo bacteriano y se paso en tubos con medio de cultivo infusión cerebro corazón para el desarrollo de la bacteria en estudio (figura 2) (Rodriguez, 2006). Luego las muestras se incubaron a 32°C por 24-48 horas, posteriormente se realizó la comparación con el tubo con solución Mc Farland (para observar y comparar el crecimiento o desarrollo de la bacteria), en seguida se comprobó por la técnica de dilución de placa el número más probable de la concentración. De acuerdo a la metodología siguiente:

Se marcaron 9 tubos con agua destilada, al primer tubo se le agrego 1 mL de la solución bacteriana, por lo que fue 10^{-1} , de este tubo se paso 1 mL al siguiente tubo marcado como 10^{-2} y así sucesivamente. Se agito cada tubo una vez agregada la solución bacteriana para que cada una se mezclara, el procedimiento se repitió hasta llegar al tubo con la dilución 10^{-9} . Finalmente se procedió a tomar esta concentración para posibles efectos de conteo como UFC (unidades formadoras de colonias) (Rodriguez, 2006).



Figura 2. Crecimiento de *E. coli* en medio de cultivo infusión cerebro-corazón, a una dilución de 10^{-9}

3.3. TRATAMIENTOS CON CLORO Y MATERIA ORGÁNICA.

Se realizó primeramente el experimento con Cloro, M.O. y agua destilada (Cuadro 3), se usaron cuatro concentraciones de cloro y en cada una de las mismas se probaron tres diferentes porcentajes de materia orgánica. Una vez obtenida las soluciones con cada concentración de cloro y con diferente nivel de M.O. se

procedió a agregarle a cada tratamiento 1mL de la solución bacteriana a una concentración de 10^{-9} , y evaluar su desarrollo en un tiempo de exposición de cinco minutos, repitiendo estos tratamientos a través del tiempo en horas después de preparada la solución desinfectante.

Cuadro 3. Concentraciones de cloro y porcentaje de materia orgánica con agua simulando tratamientos postcosecha.

COLORO (ppm)	Materia orgánica (%)
50	1
50	2
50	3
100	1
100	2
100	3
150	1
150	2
150	3
200	1
200	2
200	3

El experimento se evaluó a diferentes intervalos de tiempo (2, 4, 6, 8 y 24 horas) simulando la realidad de cómo se usa el agua en los empaques y evaluar la persistencia de las diferentes concentraciones de cloro. Los tratamientos se hicieron con tres repeticiones y tuvieron tres testigos que fueron los siguientes: un testigo 0 (T1=testigo solo agua), testigo + (T2=testigo con bacteria), testigo + M.O. (T3=testigo bacteria y materia orgánica). Los diferentes testigos se realizaron para evitar posibles factores de confusión en cuanto a la calidad del agua utilizada y la materia orgánica, además de confirmar el desarrollo óptimo de la bacteria.

Cuadro 4. Tratamientos con cloro y materia orgánica a través del tiempo con agua contaminada con *E. coli* simulando las condiciones expuestas en los empaques para la desinfección de frutos en postcosecha.

TRATS.	CONCENTRACION CLORO	MATERIA ORGANICA (%)	TIEMPO (HORAS)
T1	Testigo 0, testigo con agua	-----	-----
T2	Testigo + , testigo con bacteria	-----	-----
T3	Testigo + M.O., testigo bacteria y materia orgánica	-----	-----
T4*	50 ppm	1	0
T5	50 ppm	2	2
T6	50 ppm	3	4
			6
			8
			24
T7	100 ppm	1	0
T8	100 ppm	2	2
T9	100 ppm	3	4
			6
			8
			24
T10	150 ppm	1	0
T11	150 ppm	2	2
T12	150 ppm	3	4
			6
			8
			24
T13	200 ppm	1	0
T14	200 ppm	2	2
T15	200 ppm	3	4
			6
			8
			24

*Los tratamientos T4, T5, T6, T7, T8, T9, T10, T11, T12, T13, T14, y T15 se repetirán a través del tiempo comenzando a la hora cero, luego a las 2, 4, 6, 8 y 24 horas.

Se prepararon las soluciones que contenían cloro (50, 100, 150 y 200 ppm) y sin materia orgánica, partiendo de un mismo periodo de tiempo. Los tratamientos T4 al T15, se repitieron, tomando de la solución con cloro preparada inicialmente a las 0 horas, y evaluar el potencial desinfectante después de 2 horas. Este procedimiento se repitió para las 4, 6, 8 y 24 horas utilizando los mismos tratamientos T4 a T15.

Preparación de las soluciones con cloro: Se utilizaron cuatro cubetas como contenedores donde se prepararon la solución de 50, 100, 150 y 200 ppm. La cantidad total de la solución preparada a la hora cero fue de 3 litros de agua a una concentración de 50 ppm, 3 litros de agua a una concentración de 100 ppm, 3 litros de agua a una concentración de 150 ppm, 3 litros de agua a una concentración de 200 ppm.

Para cada tratamiento se tomo 157.5 mL de cada solución de cloro preparada previamente, en cada vaso contenedor, lo cual se repitió para evaluar el potencial desinfectante a través del tiempo a las 2, 4, 6, 8, y 24 horas.



Figura 3. Solucion con 3 litros de agua por contenedor (cubeta) y cloro a 50, 100, 150 y 200 ppm.



Figura 4. Tratamientos con cloro en 157.5 mL de agua y porcentajes de materia orgánica.

La presentación comercial de materia orgánica utilizada, contenía 15.75% y por tanto fue necesario ajustar el porcentaje ya que el interés fue utilizar 1, 2, y 3% de materia orgánica. Para realizar el ajuste de porcentaje de materia orgánica se utilizo una cantidad 157.5 mL de agua en cada tratamiento, utilizando la formula $V_1C_1=V_2C_2$ se obtuvieron los valores en peso (gramos) para adicionar al agua y obtener los porcentajes deseados para el experimentos fueron 1, 2 y 3% de materia orgánica (Cuadro 5).

Cuadro 5. Ajuste en el porcentaje de materia orgánica.

CONCENTRACION INICIAL DE M.O.	CONCENTRACION FINAL M.O. (g)
15.75 %	1% (10g)*
	2% (20g)
	3% (30g)

*se adicionaron 10g de M.O. a 157.5 mL de agua para los tratamientos con 1% de materia orgánica; se adicionaron 20g de M.O. a 157.5 mL de agua para los tratamientos con 2% de materia orgánica; se adicionaron 30g de M.O. a 157.5 mL de agua para los tratamientos con 3% de materia orgánica.



Figura 5. Materia orgánica que se adiciona a los tratamientos y vasos con las concentraciones de cloro.

Una vez realizado cada tratamiento de cloro, materia orgánica se le agregó la solución con bacteria a una concentración de 10^{-9} , se dejaron transcurrir 5 minutos simulando el tiempo de inmersión de frutos en tinas o contenedores con agua para desinfestación; pasado este tiempo se procedió a tomar las muestras con un asa bacteriológica, las cuales se sembraron en cajas petri con medio selectivo MC. Se realizó el procedimiento anterior a las 2, 4, 6, 8 y 24 horas.

3.4. TRATAMIENTO CON CLORO Y DIFERENTES VALORES DE pH EN AGUA.

Se realizó el experimento con la interacción Cloro y pH, manteniendo para el cloro las mismas cuatro concentraciones que en el experimento anterior y para cada una se probaron diferentes valores de pH (Cuadro 6). En un vaso de plástico se agregaron 200 mL de agua con un nivel de pH y una concentración de cloro, agregándole posteriormente 1 mL

de la solución bacteriana a una concentración de 10^{-9} , se dejaron transcurrir 5 minutos simulando el tiempo de inmersión de frutos en tinas o contenedores con agua para desinfección, se realizaron 3 repeticiones para cada tratamiento.

Cuadro 6. Concentraciones de cloro en agua simulando condiciones de tratamiento en postcosecha con cinco valores de pH.

CONCENTRACION CLORO	VALOR Ph
50 ppm	3
50 ppm	4.5
50 ppm	6.5
50 ppm	9
50 ppm	11
100 ppm	3
100 ppm	4.5
100 ppm	6.5
100 ppm	9
100 ppm	11
150 ppm	3
150 ppm	4.5
150 ppm	6.5
150 ppm	9
150 ppm	11
200 ppm	3
200 ppm	4.5
200 ppm	6.5
200 ppm	9
200 ppm	11

El agua destilada que se utilizo para los tratamientos presento un valor de pH de 6.5 y se ajusto (utilizando ácidos y sales, midiendo con el medidor de pH al momento de agregar el

ácido o la sal y hasta que se mantenía en el nivel buscado) a cuatro valores más 3, 4.5, 9 y 11 de pH.

Se procedió a realizar testigos que fueron los siguientes: testigo 0 (T0 agua destilada), testigo + (agua más bacteria con una concentración de 10^{-9}), y testigos con bacteria a una concentración de 10^{-9} en los extremos de cada valor de pH, en este caso los valores de 3 y 11 que fueron el más bajo y el de nivel más alto respectivamente (cuadro 7).

Cuadro 7. Tratamientos con cuatro concentraciones de cloro y cinco valores de pH en agua contaminada con *E. coli*.

TRATAMIENTO	CLORO (ppm)	pH
To, testigo con agua.	TESTIGOS	6.5
T+ , testigo con bacteria.		
T ₃ , testigo con bacteria y agua con nivel pH de 3		3
T ₁₁ , testigo con bacteria y agua con nivel pH de 11		11
T1	50	3
T2	100	3
T3	150	3
T4	200	3
T5	50	4.5
T6	100	4.5

T7	150	4.5
T8	200	4.5
T9	50	6.5
T10	100	6.5
T11	150	6.5
T12	200	6.5
T13	50	9
T14	100	9
T16	150	9
T17	200	9
T18	50	11
T19	100	11
T20	150	11
T21	200	11

Los tratamientos se expusieron 5 minutos a una solución con bacteria con una concentración de 10^{-9} , posteriormente se realizó la toma de muestras rayando cajas petri con medio MC utilizando un asa bacteriológica.

3.5. TRATAMIENTOS CON CLORO Y AGUA DURA SIMULANDO CONDICIONES DE DESINFESTACIÓN PARA FRUTOS EN POSTCOSECHA.

Se manejaron cuatro niveles de agua dura y se probó el efecto de la interacción con cloro a cuatro diferentes concentraciones como desinfectante.

Se midieron los valores de pH del agua antes de agregar las concentraciones de cloro y poder observar alguna relación de acidez o alcalinidad, para los niveles dureza del agua (todas fueron manejadas con carbonato de calcio y carbonato de magnesio en una solución madre de 1000 ppm, ajustándose por medio de la fórmula $C_1V_1=C_2V_2$) a 75 ppm el pH fue de 6.85; para 100 ppm su pH fue de 6.44; para 200 ppm su pH fue de 6.60 y para 350 ppm el pH fue de 5.92.

Una vez establecido los tratamientos de cloro con diferente nivel de dureza del agua (Cuadro 8) se agregó a cada uno 1 mL de solución bacteriana con una concentración de 10^{-9} . Se hicieron los testigos siguientes para realizar las comparaciones: T₀= testigo con solo agua, T₊= testigo con bacteria, T₇₅= testigo con bacteria y un nivel de dureza del agua de 75 ppm, T₃₅₀= testigo con bacteria y un nivel de dureza del agua de 350 ppm. Los testigos T₇₅ y T₃₅₀ se realizaron para observar los efectos de la solución bacteriana a niveles de agua blanda y agua muy dura; con estos niveles se espera observar una afectación del cloro al permitir o inhibir el crecimiento o desarrollo de la bacteria.

Cuadro 8. Tratamientos con cuatro concentraciones de cloro y cuatro niveles de dureza del agua simulando condiciones en agua contaminada con *E. coli* para frutos en postcosecha.

TRATAMIENTO	COLORO (ppm)	DUREZA DEL AGUA (PPM)
T ₀ , testigo con agua.	TESTIGOS	
T ₊ , testigo con bacteria.		
T ₇₅ , testigo con bacteria y agua suave		75
T ₃₅₀ , testigo con bacteria y agua muy dura		350
T1	50	75 (SUAVE)
T2	100	

T3	150	
T4	200	
T5	50	100
T6	100	
T7	150	
T8	200	
T9	50	200
T10	100	
T11	150	
T12	200	
T13	50	350 (MUY DURA)
T14	100	
T15	150	
T16	200	

Con los tratamientos ya preparados se procedió a inocular la solución bacteriana a una concentración de 10^{-9} y después de 5 minutos tiempo promedio de inmersión de los frutos en las tinas para su desinfestación en poscosecha. Luego de la inoculación de la bacteria, se procedió a tomar una muestra con un asa bacteriológica de cada tratamiento y se rayaron cajas petri con medio selectivo MC.

3.6. TRATAMIENTO CON AGUA DURA Y OZONO COMO DESINFESTANTE EN LA REDUCCIÓN DE *Escherichi coli*.

Utilizando diferentes niveles de dureza del agua, se colocaron 200 mL de agua en un vaso para cada tratamiento. A cada vaso se le agrego 1 mL de solución bacteriana a una concentración de 10^{-9} , posteriormente a la inoculación de la bacteria, cada tratamiento se

expuso por cinco minutos (el tiempo promedio que pasan los frutos en las tinajas para su desinfección en poscosecha) en un generador de ozono a fin de observar la interacción del agua dura con el ozono y el desarrollo o inhibición de *Escherichia coli*. Se probaron dos niveles del generador de ozono (5 y 10 ppm) y en cada uno se expuso el mismo número de tratamientos con los diferentes niveles de dureza de agua.

Se establecieron los testigos siguientes: T₇₅ agua suave mas bacteria; T₃₅₀= agua muy dura más bacteria; T_{O₃(5)}= testigo con ozono (5 ppm); T₀= testigo 0, testigo solo con agua, T₊= testigo con bacteria (Cuadro 9).

Cuadro 9. Tratamientos con dos concentraciones de ozono 5 y 10 ppm con 4 niveles de dureza del agua.

TRATAMIENTO	DUREZA DEL AGUA (ppm)
To, testigo con agua.	TESTIGO
T+, testigo con bacteria.	
T ₇₅ , testigo con bacteria y agua suave.	75
T ₃₅₀ , testigo con bacteria y agua muy dura.	350
T _{O₃} , testigo con ozono.	OZONO (5 ppm)
T1 O ₃ (5)	75 (SUAVE)
T2 O ₃ (5)	100
T3 O ₃ (5)	200
T4 O ₃ (5)	350 (DURA)
T5 O ₃ (10)	75 (SUAVE)
T6 O ₃ (10)	100
T7 O ₃ (10)	200
T8 O ₃ (10)	350 (DURA)

Luego de la exposición de los tratamientos durante cinco minutos (el tiempo promedio que pasan los frutos en las tinas para su desinfección en poscosecha) al tratamiento con ozono (5 y 10 ppm), con un asa bacteriológica se tomaron muestras de cada vaso y se sembraron en cajas petri con medio de cultivo MC.

3.7. VARIABLE EVALUADA

Se evaluó el desarrollo o inhibición de la bacteria *Escherichia coli*. Usando una escala arbitraria como se describe a continuación (Cuadro 10) (Gonzalez, 2010).

Cuadro 10. Descripción de la escala utilizada para la evaluación de crecimiento o inhibición de *Escherichia coli*.

DESCRIPCION	VALOR
SIN CRECIMIENTO DE <i>Escherichia coli</i>	0
PRESENCIA O DESARROLLO DE <i>E. coli</i>	1

3.8. DISEÑO EXPERIMENTAL.

Para realizar el análisis de los datos, se utilizó el diseño en parcelas divididas, con tres repeticiones, donde los tratamientos fueron: la materia orgánica, el pH, los niveles de dureza del agua y el tiempo. Los subtratamientos fueron las concentraciones de los desinfectantes. Se obtendrá también la eficacia para cada tratamiento a partir de la diferencia de medias por 100 para obtener el porcentaje.

$$\frac{\text{media}_{\text{testigo}} - \text{media}_{\text{tratamiento}}}{\text{media}_{\text{testigo}}} \times 100 = \text{Eficacia}$$

El modelo lineal correspondiente fue el siguiente:

$$Y_{ijk} = \mu + B_i + T_j + \varepsilon_{ij} + S_k + (TS)_{jk} + e_{ijk}$$

3.9. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Dado que los valores individuales obtenidos en la evaluación fueron valores enteros, correspondientes a una escala nominal (binaria), se realizó un análisis utilizando Estadística no Paramétrica, se utilizó el modelo de regresión logística usando la distribución binomial y la función **Proc GENMOD**, mediante el paquete de análisis estadístico Statistical Analysis System (SAS® versión 9.0)

El modelo de regresión logística es uno de los métodos estadísticos más utilizados cuando la variable respuesta de interés es binaria, y quiere ser explicada a través de un conjunto de variables explicatoria. Por ejemplo, la presencia o ausencia de un patógeno puede ser expresada por una variable binaria Y, donde Y=1 si el patógeno está presente y Y=0 si el patógeno está ausente. En general Y=1 representa el éxito y Y=0 representa fracaso.

Se realizó el análisis de varianza y la comparación múltiple de medias con el método de Tukey con una confiabilidad del 95% y un nivel de significancia de $\alpha=0.05\%$. Para el análisis de varianza se transformaron los datos por medio de la función arco seno, con el fin de pasar la variable categórica (escala binomial) a una variable numérica.

4. RESULTADOS Y DISCUSIONES.

4.1. INTERACCIÓN ENTRE EL CLORO Y LA MATERIA ORGÁNICA SIMULANDO TRATAMIENTOS EN AGUA EN POSTCOSECHA.

Los resultados en los testigos fueron los siguientes: testigo 0 (T0) no presento crecimiento o desarrollo de algún organismo por lo que se considera libre de contaminación y viable para realizar las soluciones con cloro de los tratamientos; para el testigo + (T+) todas las repeticiones mostraron el desarrollo de *Escherichia coli* y para el testigo con bacteria y materia orgánica (T+m.o.) también se presento crecimiento de la bacteria en estudio por lo que se considera que los testigos inoculados con *Escherichia coli* sin la intervención del agente desinfectante presentaron un desarrollo optimo (Cuadro 11), esto confirma que para el experimento el agente infeccioso se encuentra en condiciones optimas para comparar, evaluar y confirmar los resultados.

Cuadro 11. Testigos con agua, *Escherichia coli* y bacteria mas materia orgánica.

T0			T+			T+ m.o.		
R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
*0	0	0	1	1	1	1	1	1

*0=sin crecimiento o desarrollo de *Escherichia coli*.

1=desarrollo de *Escherichia coli*.

4.1.1. APLICACIÓN DE CUATRO CONCENTRACIONES DE CLORO A LAS 0 HORAS DE SU PREPARACIÓN.

Los tratamientos a las concentraciones de 50 y 100 ppm de cloro al 1% de materia orgánica afectaron o alteraron la eficacia del cloro ya que se presento el desarrollo de *Escherichia coli* en dichos tratamientos. En el caso de las concentraciones 150 y 200 ppm de cloro al 1% de materia orgánica, las evaluaciones no mostraron crecimiento de *Escherichia coli* por lo que se considero como un efecto de control excelente del desinfectante, después de 72 horas de la última evaluación.

Los datos sugieren que las dos concentraciones más bajas (50 y 100 ppm) de cloro aplicado en agua contaminada con *E. coli* y al 1% de M.O. le redujo o minimizó su efecto

desinfectante. Las concentraciones más altas de cloro (150 y 200 ppm) aplicadas en agua contaminada con *E. coli* a una concentración de 1% de materia orgánica permitieron el control hasta el último día (día 3) de evaluación, mostrando el análisis de varianza ser estadísticamente diferente a los demás tratamientos (Cuadro 12).

Las soluciones de cloro que se manejaron con 2 y 3% de M.O. se vieron afectadas, ya que la bacteria se desarrollo en todos los tratamientos sin importar la concentración del cloro, por lo que se consideró que el desinfectante se afectó drásticamente reduciendo su potencial y no importando que los tratamientos se hayan preparado y utilizado casi inmediatamente como en la evaluación de la hora cero, comportándose estadísticamente igual al testigo + (testigo con bacteria) (cuadro 12).

Cuadro 12. Desarrollo e inhibición de *Escherichia coli* en agua con 3 porcentajes de materia orgánica y tratada con cuatro concentraciones de cloro a 0 horas después de su preparación.

Trat	Descripción *	Media	Tukey *	Eficacia (%)
1	T0, testigo con agua.	0	A	100
10	Cloro a 150 ppm y 1% de materia orgánica.	0	A	100
13	Cloro a 200 ppm y 1% de materia orgánica.	0	A	100
11	Cloro a 150 ppm y 2% de materia orgánica.	0.52	A B	66.87
7	Cloro a 100 ppm y 1% de materia orgánica.	0.52	A B	66.87
14	Cloro a 200 ppm y 2% de materia orgánica.	1.05	A B	33.12
4	Cloro a 50 ppm y 1% de materia orgánica.	1.05	A B	33.12
2	T+, testigo con bacteria.	1.57	B	0
12	Cloro a 150 ppm y 3% de materia orgánica.	1.57	B	0
15	Cloro a 200 ppm y 3% de materia orgánica.	1.57	B	0
8	Cloro a 100 ppm y 2% de	1.57	B	0

	materia orgánica			
6	Cloro a 50 y 3% de materia orgánica.	1.57	B	0
5	Cloro a 50 ppm y 2% de materia orgánica.	1.57	B	0
9	Cloro a 100 ppm y 3% de materia orgánica.	1.57	B	0

*Medias con una letra en común no son significativamente diferentes

Los mejores resultados están dados por las evaluaciones que tienen la mayor concentración de cloro (150 y 200 ppm) interactuando con el 1% de materia orgánica, puesto que estas soluciones fueron diferentes en su comparación de medias y con un porcentaje de eficacia del 100% (cuadro 12).

4.1.2. APLICACIÓN DE CUATRO CONCENTRACIONES DE CLORO 2 HORAS DESPUES DE SU PREPARACIÓN.

El agua con materia orgánica al 1% afecto el poder desinfectante del cloro a 50 ppm, mientras que a las concentraciones de 100, 150 y 200 ppm no afectaron la capacidad desinfectante del cloro ya que no se desarrollo *Escherichia coli*.

Sin embargo el agua a 2 y 3% de materia orgánica perdieron su potencial desinfectante, ya que se observo el desarrollo de la bacteria en los tratamientos, al igual que en el testigo positivo (T+); en el cual hubo un crecimiento optimo de *E. coli* con lo anterior se confirma que a mayor cantidad de materia orgánica en el agua tratada con cloro se minimiza la acción del desinfectante sin importar su concentración.

Cuadro 13. Desarrollo e inhibición de *Escherichia coli* en agua con 3 porcentajes de materia orgánica y tratada con cuatro concentraciones de cloro 2 horas después de su preparación.

Trat	Descripción	Media	Tukey *	Eficacia (%)
1	T0, testigo con agua	0	A	100
7	Cloro a 100 ppm y 1% de materia orgánica.	0	A	100

10	Cloro a 150 ppm y 1% de materia orgánica.	0	A	100
13	Cloro a 200 ppm y 1% de materia orgánica.	0	A	100
12	Cloro a 150 ppm y 3% de materia orgánica.	0.52	A B	66.87
15	Cloro a 200 ppm y 3% de materia orgánica.	1.05	A B	33.12
2	T+, testigo con bacteria.	1.57	B	0
5	Cloro a 50 ppm y 2% de materia orgánica.	1.57	B	0
4	Cloro a 50 ppm y 1% de materia orgánica.	1.57	B	0
8	Cloro a 100 ppm y 2% de materia orgánica.	1.57	B	0
6	Cloro a 50 ppm y 3% de materia orgánica.	1.57	B	0
14	Cloro a 200 ppm y 2% de materia orgánica.	1.57	B	0
11	Cloro a 150 ppm y 2% de materia orgánica.	1.57	B	0
9	Cloro a 100 ppm y 3% de materia orgánica.	1.57	B	0

* Medias con una letra en común no son significativamente diferentes

Los tratamientos mejores fueron el cloro a 100,150 y 200 ppm usado después de 2 horas de preparado en agua al 1% de materia orgánica; ya que inhibieron el desarrollo de *Escherichia coli* mientras que en los demás tratamientos se manifestó el desarrollo de la bacteria y el comportamiento fue similar al de la hora cero, viéndose afectado su efecto desinfectante por el aumento en el porcentaje de M.O.

4.1.3. APLICACIÓN DE CUATRO CONCENTRACIONES DE CLORO 4 HORAS DESPUES DE SU PREPARACIÓN.

Los tratamientos con 100, 150 y 200 ppm de cloro mostraron un control excelente del desinfectante al inhibir el desarrollo de *Escherichia coli* y dichas concentraciones no se afectaron por la concentración de 1% de M.O. ya que fueron estadísticamente iguales al testigo 0 (Cuadro 14). Sin embargo el tratamiento con 50 ppm y 1% de materia orgánica se comporto de manera similar al testigo +, en el cual la bacteria tuvo un desarrollo optimo y fueron siendo estadísticamente iguales (Cuadro 14). Indicando que ha dicha concentración y porcentaje de materia orgánica no se inhibe el desarrollo de *E. coli*.

Todos los tratamientos a base de cloro a 2 y 3% de materia orgánica no tuvieron resultados favorables, ya que la bacteria se desarrollo en todas las concentraciones de cloro, por lo que el desinfectante se vio afectado en su potencial, ya que dichos tratamientos fueron iguales al testigo + (Cuadro 14).

Cuadro 14.Desarrollo e inhibición de *Escherichia coli* en agua con 3 porcentajes de materia orgánica y tratada con cuatro concentraciones de cloro 4 horas después de su preparación.

Trat	Descripción	Media	Tukey *	Eficacia (%)
1	T0, testigo con agua	0	A	100
7	Cloro a 100 ppm y 1% de materia orgánica.	0	A	100
10	Cloro a 150 ppm y 1% de materia orgánica.	0	A	100
13	Cloro a 200 ppm y 1% de materia orgánica.	0	A	100
2	T+, testigo con bacteria	1.57	B	0
11	Cloro a 150 ppm y 2% de materia orgánica.	1.57	B	0
15	Cloro a 200 ppm y 3% de materia orgánica.	1.57	B	0
4	Cloro a 50 ppm y 1% de	1.57	B	0

	materia orgánica.			
9	Cloro a 100 ppm y 3% de materia orgánica.	1.57	B	0
8	Cloro a 100 ppm y 2% de materia orgánica.	1.57	B	0
6	Cloro a 50 ppm y 3% de materia orgánica.	1.57	B	0
14	Cloro a 200 ppm y 2% de materia orgánica.	1.57	B	0
12	Cloro a 150 ppm y 3% de materia orgánica.	1.57	B	0
5	Cloro a 50 ppm y 2% de materia orgánica.	1.57	B	0

* Medias con una letra en común no son significativamente diferentes

Después de cuatro horas de haber preparado las concentraciones de cloro, solo los tratamientos con 100, 150 y 200 ppm y con 1% de M.O. mantuvieron el efecto germicida, ya que inhibieron a *Escherichia coli* con una eficacia del 100%. Dichas dosis de cloro fueron estadísticamente iguales y diferentes significativamente al testigo + (Cuadro 14).

4.1.4. POTENCIAL DESINFESTANTE DEL CLORO EN AGUA CON DIFERENTE PORCENTAJE DE M.O. A LAS 6 HORAS DESPUES DE SU PREPARACIÓN.

El tratamiento con 50 ppm de cloro aplicado 6 horas después de su preparación en agua con 1% de materia orgánica y *Escherichia coli* a una concentración de 10^{-9} no logro inhibir a la bacteria, ya que esta se desarrollo en todas las repeticiones al igual que el testigo + siendo estadísticamente iguales.

Los tratamientos con cloro a 100, 150 y 200 ppm aplicados al agua con 1% de M.O. inhibieron el desarrollo de la bacteria por lo que al 1% de materia orgánica no se afectó el potencial del desinfectante a dosis superiores a 100 ppm de cloro.

Todos los tratamientos con cloro y con 2 y 3% de materia orgánica no fueron capaces de inhibir a *Escherichia coli*, ya que se desarrollo dicha bacteria.

Después de 6 horas de preparado el cloro se puede observar que su potencial no se vio afectado por el lapso de tiempo transcurrido desde su preparación, ya que se comportaron de manera similar a las primeras evaluaciones de las 0, 2 y 4 horas. Lo que si fue evidente y que si afecto el potencial del cloro fueron los porcentajes de 2 y 3% de materia orgánica (Cuadro 15).

Cuadro 15. Desarrollo e inhibición de *Escherichia coli* en agua con 3 porcentajes de materia orgánica y tratada con cuatro concentraciones de cloro 6 horas después de su preparación.

Trats.	Descripción	Media	Tukey*	Eficacia (%)
1	T0, testigo con agua	0	A	100
13	Cloro a 200 ppm y 1% de materia orgánica.	0	A	100
7	Cloro a 100 ppm y 1% de materia orgánica.	0	A	100
10	Cloro a 150 ppm y 1% de materia orgánica.	0	A	100
4	Cloro a 50 ppm y 1% de materia orgánica.	1.05	A B	33.12
2	T+, testigo con bacteria	1.57	B	0
6	Cloro a 50 ppm y 3% de materia orgánica.	1.57	B	0
8	Cloro a 100 ppm y 2% de materia orgánica.	1.57	B	0
9	Cloro a 100 ppm y 3% de materia orgánica.	1.57	B	0
5	Cloro a 50 ppm y 2% de materia orgánica.	1.57	B	0
15	Cloro a 200 ppm y 3% de materia orgánica.	1.57	B	0
11	Cloro a 150 ppm y 2% de	1.57	B	0

	materia orgánica.			
12	Cloro a 150 ppm y 3% de materia orgánica.	1.57	B	0
14	Cloro a 200 ppm y 2% de materia orgánica.	1.57	B	0

* Medias con una letra en común no son significativamente diferentes.

4.1.5. POTENCIAL DESINFESTANTE DEL CLORO EN AGUA CON DIFERENTE PORCENTAJE DE M.O. A LAS 8 HORAS DESPUES DE SU PREPARACIÓN.

Las concentraciones de cloro a 100, 150 y 200 ppm aplicadas en agua al 1% de materia orgánica inhibieron el desarrollo de *Escherichia coli*, lo cual sugiere que el porcentaje de Materia orgánica no afectó el potencial desinfectante y que mantuvo un control excelente aun después de un tiempo considerable después de su preparación, es decir después de 8 horas o durante una jornada de trabajo. Sin embargo la concentración de 50 ppm de cloro en agua con 1% de materia orgánica no mantuvo un efecto de control, ya que se desarrolló *E. coli*, comportándose estadísticamente igual al testigo +.

Un comportamiento similar ocurrió en todas las dosis de cloro aplicadas en agua con 2 y 3 % de materia orgánica, ya que no pudieron mantener el control de *Escherichia coli* viéndose afectado su potencial desinfectante y por lo tanto permitieron el desarrollo de la bacteria, y dichas dosis se comportaron estadísticamente iguales al testigo + (Cuadro 16).

Cuadro 16. Desarrollo e inhibición de *Escherichia coli* en agua con 3 porcentajes de materia orgánica y tratada con cuatro concentraciones de cloro 8 horas después de su preparación.

Trats.	Descripción	Media	Tukey *	Eficacia (%)
1	T0, testigo con agua	0	A	100
7	Cloro a 100 ppm y 1% de materia orgánica.	0	A	100
10	Cloro a 150 ppm y 1% de materia orgánica.	0	A	100
13	Cloro a 200 ppm y 1% de	0	A	100

	materia orgánica.			
14	Cloro a 200 ppm y 2% de materia orgánica.	1.05	A B	33.12
2	T+, testigo con bacteria.	1.57	B	0
8	Cloro a 100 ppm y 2% de materia orgánica.	1.57	B	0
15	Cloro a 200 ppm y 3% de materia orgánica.	1.57	B	0
9	Cloro a 100 ppm y 3% de materia orgánica.	1.57	B	0
11	Cloro a 150 ppm y 2% de materia orgánica.	1.57	B	0
12	Cloro a 150 ppm y 3% de materia orgánica.	1.57	B	0
4	Cloro a 50 ppm y 1% de materia orgánica.	1.57	B	0
5	Cloro a 50 ppm y 2% de materia orgánica.	1.57	B	0
6	Cloro a 50 ppm y 3% de materia orgánica.	1.57	B	0

*Medias con una letra en común no son significativamente diferentes.

4.1.6. POTENCIAL DESINFESTANTE DEL CLORO EN AGUA CON DIFERENTE PORCENTAJE DE M.O. A LAS 24 HORAS DESPUES DE SU PREPARACIÓN.

Para esta última evaluación ha transcurrido un tiempo considerable de 24 horas después de la preparación de las dosis de cloro y se esperaba que los resultados fueran menores en comparación a los resultados de los tiempos anteriores. Sin embargo los tratamientos se comportaron de manera similar a las evaluaciones anteriores ya que no se afectó el poder desinfectante del cloro a 50, 100, 150 y 200 ppm aplicadas en agua con 1% de materia orgánica.

En el caso de aguas con 2% de materia orgánica tratadas con 50 y 100 ppm si se vieron afectadas, ya que disminuyeron su potencial desinfectante al permitir el desarrollo de la bacteria, pero las dosis de 150 y 200 ppm de cloro no se vieron afectado su potencial de acción, ya que inhibieron el crecimiento de *E. coli* manteniendo el 100% del control de la bacteria a pesar del tiempo transcurrido desde su preparación.

Finalmente el agua contaminada con *Escherichia coli* y 3% de materia orgánica y tratada con cloro (50, 100, 150 y 200 ppm) desarrollaron crecimiento de la bacteria y por consiguiente una disminución drástica del potencial desinfectante, comportándose estadísticamente igual al testigo + (cuadro 17).

Cuadro 17. Desarrollo e inhibición de *Escherichia coli* en agua con 3 porcentajes de materia orgánica y tratada con cuatro concentraciones de cloro 24 horas después de su preparación.

Trats.	Descripción	Media	Tukey	Eficacia (%)
1	T0, testigo con agua.	0	A	100
13	Cloro a 200 ppm y 1% de materia orgánica	0	A	100
4	Cloro a 50 ppm y 1% de materia orgánica	0	A	100
7	Cloro a 100 ppm y 1% de materia orgánica	0	A	100
10	Cloro a 150 ppm y 1% de materia orgánica	0	A	100
14	Cloro a 200 ppm y 2% de materia orgánica	0	A	100
11	Cloro a 150 ppm y 2% de materia orgánica	0	A	100
12	Cloro a 150 ppm y 3% de materia orgánica	1.05	A B	33.12
2	T+, testigo con bacteria	1.57	B	0
15	Cloro a 200 ppm y 3% de materia orgánica	1.57	B	0
5	Cloro a 50 ppm y 2% de	1.57	B	0

	materia orgánica			
6	Cloro a 50 ppm y 3% de materia orgánica	1.57	B	0
8	Cloro a 100 ppm y 2% de materia orgánica	1.57	B	0
9	Cloro a 100 ppm y 3% de materia orgánica	1.57	B	0

* Medias con una letra en común no son significativamente diferentes.

Es importante señalar que el cloro en todas sus concentraciones (50, 100, 150 y 200 ppm) aplicadas en agua con *Escherichia coli* y con 1% de materia orgánica, mantuvieron el control de la bacteria, inhibiendo su desarrollo. Sin embargo el tratamiento de 50 ppm resulto ser diferente a lo observado en las evaluaciones antes señaladas, ya que fue capaz de inhibir el desarrollo de *E. coli*, aunque también se puede deber a que la población bacteriana se ve afectada por el tiempo transcurrido desde su preparación, ya que los factores como la cantidad de medio nutritivo y el crecimiento exponencial de la bacteria pueden ser limitantes, las cuales nos dicen que transcurrido cierto tiempo, el patógeno comienza a entrar en una fase de inactivación o disminución en su metabolismo y posteriormente ocurre la muerte debido a la reducción de los nutrientes esenciales para su desarrollo (Ferrera, 2007).

4.2. POTENCIAL DESINFESTANTE DEL CLORO EN AGUA CON DIFERENTES NIVELES DE pH.

El testigo 0 indico nulo desarrollo de *Escherichia coli* por lo que se puede decir que se encuentra libre de contaminación. Para el testigo+, significa el desarrollo de la bacteria, evidenciándose que esta lista para que se apliquen los tratamientos, mientras que los testigos T₃ y T₁₁ son tratamientos que incluyeron valores extremos de pH, y así observar si alguno de ellos afecta de alguna manera el desarrollo de *E. coli*. En este caso los resultados de los testigos no presentaron efectos que pudieran ser un factor de confusión al momento de realizar los tratamientos, ya que no alteraron el desarrollo de la bacteria (cuadro 18).

Cuadro 18. Evaluación de los testigos con agua, *E. coli* y valores de pH.

TESTIGOS	R1	R2	R3	pH
T0= testigo con agua	0	0	0	
T+= testigo con bacteria	1	1	1	
T_{3B}= testigo con bacteria y agua a 3 de pH	1	1	1	3
T_{6.5B}= testigo con bacteria y agua a 6.5 de pH	1	1	1	6.5
T_{11B}= testigo con bacteria y agua a 11 de pH	1	1	1	11

* 0= sin desarrollo de *E. coli.*, 1= con desarrollo de *E. coli*

Las evaluaciones realizadas en el experimento con cloro a diferentes dosis o concentraciones mostraron efectos inhibitorios sobre la bacteria en todos los niveles de pH, lo que confirma que no se afectó su potencial desinfectante del cloro aunque los valores se encuentren en los extremos como son 3 y 11 de pH o al menos no se disminuyó la acción germicida de manera directa. Los resultados son confiables ya que se pueden comparar con los testigos en los cuales el T+ contiene solo a la bacteria, se desarrollo de forma óptima.

Finalmente se eliminó el mito de que el pH afecta el potencial desinfectante del cloro, ya que en este estudio se trato a agua contaminada con *E. coli.* a cinco diferentes valore de pH (3, 4.5, 6.5, 9 y 11), con cloro de 50 a 200 ppm y todas las dosis inhibieron el desarrollo de *Escherichia coli*, mostrando una eficacia de control del 100%.

Cuadro 19. Desarrollo e inhibición de *Escherichia coli* con cuatro concentraciones de cloro a diferentes valores de pH del agua.

Trats.	Descripción	Valor de pH	Resultados *	Eficacia (%)
1	T+, testigo con bacteria		1	0
2	Cloro a 50 ppm	3	0	100
3	Cloro a 50 ppm	4.5	0	100
4	Cloro a 50 ppm	6.5	0	100
5	Cloro a 50 ppm	9	0	100
6	Cloro a 50 ppm	11	0	100
7	Cloro a 100 ppm	3	0	100

8	Cloro a 100 ppm	4.5	0	100
9	Cloro a 100 ppm	6.5	0	100
10	Cloro a 100 ppm	9	0	100
11	Cloro a 100 ppm	11	0	100
12	Cloro a 150 ppm	3	0	100
13	Cloro a 150 ppm	4.5	0	100
14	Cloro a 150 ppm	6.5	0	100
15	Cloro a 150 ppm	9	0	100
16	Cloro a 150 ppm	11	0	100
17	Cloro a 200 ppm	3	0	100
18	Cloro a 200 ppm	4.5	0	100
19	Cloro a 200 ppm	6.5	0	100
20	Cloro a 200 ppm	9	0	100
21	Cloro a 200 ppm	11	0	100

*1= desarrollo de la bacteria *E. coli*; 0= sin crecimiento bacteriano de *E. coli*.

4.3. POTENCIAL DESINFESTANTE DEL CLORO EN AGUA CON DIFERENTES NIVELES DE DUREZA DEL AGUA.

La variable respuesta en los testigos indicó que para el testigo 0 el cual era solo con agua no mostro contaminación de algún tipo, ya que no evidencio el crecimiento bacteriano. Para los testigos T+ (testigo con bacteria a una concentración de 10^{-9}), T₇₅ (testigo con un nivel de dureza del agua de 75 ppm) y T₃₅₀ (testigo con un nivel de dureza del agua de 350 ppm) si hubo evidencia de crecimiento de *Escherichia coli* lo que sugiere un desarrollo sin afectaciones de la bacteria (cuadro 20).

Cuadro 20. Respuesta de los testigos con agua, bacteria con una concentración de 10^{-9} y dos niveles de dureza de agua (75 y 350 ppm).

TESTIGOS	R1	R2	R3	Dureza del agua (ppm)
T0, testigo solo con agua.	*0	0	0	
T+, testigo con bacteria.	1	1	1	
T75, testigo con bacteria y agua suave.	1	1	1	75
T350, testigo con bacteria y agua muy dura.	1	1	1	350

*0= sin crecimiento de *Escherichia coli* 1= crecimiento de *Escherichia coli*.

El cloro a 50, 100, 150 y 200 ppm aplicado a agua contaminada con *Escherichia coli* y a diferentes niveles de dureza del agua (75,100, 150 y 200 ppm), no se le afectó su potencial desinfectante, ya que en los 4 niveles de salinidad evaluados, dichas dosis inhibieron el desarrollo de la bacteria. Concluyéndose que el nivel de salinidad en el agua no afecta negativamente la capacidad desinfectante del cloro (50- 200 ppm) para inhibir o reducir los riesgos biológicos por *Escherichia coli* (cuadro 21).

Cuadro 21. Comparación de medias en el desarrollo e inhibición de *Escherichia coli* con cuatro concentraciones de cloro a cinco niveles de dureza del agua.

Trats.	Descripción	Medias	Tukey	Eficacia (%)
1	T+, testigo con bacteria.	1.57	B	0
2	T0, testigo con agua.	0	A	100
3	Cloro a 50 ppm y 100 ppm de dureza del agua.	0	A	100
4	Cloro a 100 ppm y 200 ppm de dureza del agua.	0	A	100
5	Cloro a 100 ppm y 350 ppm de dureza del agua.	0	A	100
6	Cloro a 50 ppm y 100 ppm de dureza del agua.	0	A	100
7	Cloro a 200 ppm y 350 ppm de dureza del agua.	0	A	100
8	Cloro a 150 ppm y 350 ppm de dureza del agua.	0	A	100
9	Cloro a 150 ppm y 75 ppm de dureza del agua.	0	A	100
10	Cloro a 150 ppm y 100 ppm de dureza del agua.	0	A	100
11	Cloro a 200 ppm y 200 ppm de dureza del agua.	0	A	100
12	Cloro a 50 ppm y 75 ppm de dureza del agua.	0	A	100
13	Cloro a 100 ppm y 100 ppm de dureza del agua.	0	A	100
14	Cloro a 150 ppm y 200 ppm de	0	A	100

	dureza del agua.			
15	Cloro a 50 ppm y 350 ppm de dureza del agua.	0	A	100
16	Cloro a 50 ppm y 200 ppm de dureza del agua.	0	A	100
17	Cloro a 50 ppm y 75 ppm de dureza del agua.	0	A	100
18	Cloro a 50 ppm y 100 ppm de dureza del agua.	0	A	100

* Medias con una letra en común no son significativamente diferentes.

4.4. POTENCIAL DESINFESTANTE DEL OZONO EN AGUA CON CINCO NIVELES DE DUREZA DEL AGUA PARA LA REDUCCIÓN DE *Escherichia coli*.

La respuesta de los testigos fueron las siguientes: el testigo 0 se comporto como se esperaba, ya que sin influencia de la bacteria se mantuvo libre de contaminación, haciéndose viable para el desarrollo del experimento. El testigo $O_{3(5)}$ (ozono a 5 ppm) no presento desarrollo de algún organismo por lo que de igual manera que el testigo T0 se mantiene viable para el uso como desinfectante en los tratamientos. Los testigos T+ (testigo con bacteria a una concentración de 10^{-9}), T₇₅ y T₃₅₀ (testigos con bacteria y dureza del agua a 75 y 350 ppm) presentaron crecimiento óptimo de la bacteria, lo que confirma el desarrollo de *E. coli* sin verse afectada por la concentración salina de los niveles probados en los testigos (cuadro 22).

Cuadro 22. Comparación de medias de dos concentraciones de ozono y cuatro niveles de dureza del agua en la reducción de *Escherichia coli*.

TESTIGOS	R1	R2	R3	Dureza del agua (ppm)
T0, testigo solo con agua.	0	0	0	
T ₀₍₅₎ , testigo con agua y ozono a 5ppm.	0	0	0	
T+, testigo con bacteria	1	1	1	
T ₇₅ , testigo con bacteria y agua suave.	1	1	1	75

T ₃₅₀ , testigo con bacteria y agua muy dura.	1	1	1	350
--	---	---	---	-----

*0= sin crecimiento de *E. coli*; 1= crecimiento de *E. coli*.

Los tratamientos desinfectantes con niveles de ozonización de 5 y 10 ppm no fueron eficaces ya que no inhibieron en ninguno de los tratamientos el desarrollo de ***Escherichia coli***. Los tratamientos evaluados evidenciaron el desarrollo de la bacteria en todas las repeticiones.

Cabe señalar que a pesar del desarrollo de *E. coli*, los tratamientos con un nivel de ozonización de 10ppm, tuvieron un desempeño diferente, a pesar de ser estadísticamente iguales a los tratamiento con 5 ppm y al T+ (testigo con bacteria), la severidad fue diferente, ya que el desarrollo de *E. coli* no fue el mismo para dichos tratamientos, ya que disminuyo considerablemente, por lo que se concluye que para obtener un control efectivo es necesario un mayor tiempo de exposición o el aumento en la concentración de ozono (figura 23).

Cuadro 23. Análisis de varianza de dos concentraciones de ozono (5 y 10 ppm) y con cuatro niveles de dureza del agua para la reducción de *Escherichia coli* simulando un tratamiento postcosecha.

Trats.	Tratamiento	Medias	Tukey	Eficacia (%)
1	T0, testigo con agua.	0	A	100
2	T+, testigo con bacteria.	1.57	B	0
3	Ozono a 10 ppm y dureza del agua a 100ppm.	1.57	B	0
4	Ozono a 10 ppm y dureza del agua a 200ppm.	1.57	B	0
5	Ozono a 10 ppm y dureza del agua a 350ppm.	1.57	B	0
6	Ozono a 10 ppm y dureza del agua a 75ppm.	1.57	B	0
7	Ozono a 5 ppm y dureza del agua a 100ppm.	1.57	B	0

8	Ozono a 5 ppm y dureza del agua a 200ppm.200/5	1.57	B	0
9	Ozono a 5 ppm y dureza del agua a 350ppm.	1.57	B	0
10	Ozono a 5 ppm y dureza del agua a 75ppm.	1.57	B	0

* Medias con una letra en común no son significativamente diferentes.

5. CONCLUSIONES.

1. El cloro a 100, 150 y 200 ppm aplicado en agua contaminada con *Escherichia coli* y con 1% de materia orgánica, inhibieron el desarrollo de la bacteria con una eficacia del 100%.
2. La relación entre el tiempo de preparación de las dosis del cloro y el momento de usarlo (0, 2, 4, 6, 8 y 24 horas), no afectó el potencial desinfectante del cloro, ya que las dosis de 150 y 200 ppm aplicadas en agua contaminada con *Escherichia coli* y niveles de materia orgánica del 1% inhibieron el desarrollo de la bacteria con eficacias del 100%, aplicado inmediatamente o 24 horas después de su preparación.
3. La acumulación de materia orgánica al 2 y 3% en agua contaminada con *E. coli*, afectó fuertemente el potencial desinfectante del cloro.
4. Es cierto el mito de que a mayor contenido de materia orgánica en el agua, menor es el potencial desinfectante del cloro (50 a 200 ppm).
5. Es falso el mito de que el pH ácido (3) o alcalino (11) del agua usada como vehículo para el cloro (50 a 200 ppm) afecte su potencial desinfectante.
6. Se rechaza el mito de que la dureza del agua (75-350 ppm) afecte el potencial desinfectante del cloro (50 a 200 ppm).
7. El ozono a 5 y 10 ppm aplicado en agua contaminada con *Escherichia coli* durante cinco minutos y 4 diferentes niveles de dureza del agua, no fue efectivo en la reducción de riesgos biológicos (*E. coli*) en aguas para tratamientos postcosecha.

6. LITERATURA CITADA.

Anderson, W.P. 1977. Weed Science: Principles. Ed. West Publishing Company. E.U. pp.430-598.

Avendaño, R.B., Schwentesius, R., Lugo, M.S. 2002. Inocuidad en hortalizas Beneficio para el consumidor o nueva barrera al comercio. CIESTAAM-UACH. México. pp. 10-32.

Avendaño, R.B., Schwentesius, R., Lugo, M.S., Mungaray L. 2006^a. La inocuidad alimentaria en México: Las hortalizas frescas de exportación. Ed. Porrúa. Universidad Autónoma de Baja California. Mexicali, B.C. pp. 16-40.

Brock, T.D. Fred, E.B. Biología de los microorganismos. Professor of Natural Sciences. Universidad de Wisconsin. pp. 110-167.

Brust-Carmona, H.A. Aguilar., Benítez, A., Bernal, J., Zarco, J. Y Vidrio, H. (1995) Tecnología apropiada para la desinfección del agua para uso y consumo humano, eficiencia de la celda MOGGOD-CEDAT. En memorias del seminario sobre desinfección del agua. México, pp. 18-28.

Bryan, H.A. 1984. Bacteriología. Principios y prácticas. CECSA. México, D.F. pp. 42-345.

Burns, R.A. 2003. Fundamentals of chemistry. fourth edition. Prentice Hall, Upper Saddle River, New Jersey. Pp. 89-99.

Campos, S. J. 2000. Diferenciación bioquímica de *Shigellaspp.* y *Salmonella spp.* Obtenidas de zanahoria (*Daucus carota*) en Chapingo, México. Tesis de Licenciatura Parasitología Agrícola. Chapingo, Méx.

Cerrato, R.F. Alarcón, A. 2007. Microbiología Agrícola. Ed. Trillas, S.A. de C.V. pp. 38-45.

Chaidez, Q.C. 2001. Inocuidad de Frutas y Hortalizas frescas: efectos del agua contaminada. Sociedad Americana de Microbiología. EU. pp. 1-4.

Codex Alimentarius. 2005. Manual de procedimiento de la comisión del Codex Alimentarius, Programa conjunto FAO/OMS sobre Normas Alimentarias. 3 Ed. Roma, Italia. En <http://www.codexalimentarius.net>.

Cuevas, Q.F. 1997. Calidad del agua de bombeo en el DR 051 costa de Hermosillo, Sonora. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Chapingo. Departamento de Suelos. pp. 39-83.

Delaat, N.C. 1992. Microbiología. Interamericana McGrawHill. México, D.F. pp. 302-303.

Díaz, A. 2008. Buenas Prácticas Agrícolas. Guía para pequeños y medianos productores. Honduras. pp. 3-18.

Dirección General de Epidemiología (DGEPI)/(SSA). Anuarios de morbilidad. En <http://www.dgepi.salud.gob.mx/infoepi/index.htm>.

Domínguez, C.S. 2005. Laboratorio de Microbiología. Arola Editors. España. pp. 211-217.

Euan, P. W. O. 2004. Comportamiento de formulaciones plaguicidas sólidas, polvos humectables y gránulos dispersables, a diferentes grados de dureza del agua. Tesis Licenciatura Parasitología Agrícola. Chapingo, Méx. pp. 9-19.

FDA. 1998. Guía para reducir al mínimo el riesgo microbiano en los alimentos, en el caso de las frutas y vegetales. En <http://www.foodsafety.gob>.

Freeman, B.A. 1992. Microbiología de Burrows. Interamericana McGrawHill. México, D.F. pp. 498-514.

Frezier, W.C y Westhoff, D.C.2000. Microbiología de los alimentos. Ed. 4, Editorial Acribia S.A., Zaragoza, España.

Garzaroli, C., Battistella, M., and Rondinini, G. 1994. Enterobacteria in diary product: source and sensivity to desinfectants. Microbiologie, Aliments, Nutrition. 12 (3):285-293.

Ingraham, J.L. Ingraham, C.A. 1998. Introducción a la Microbiología. Ed. Reverte. pp. 350-400, 560-570.

Jay, J.M. 2000. Microbiología moderna de los alimentos. Ed. Acribia, Zaragoza, España. pp. 19-36.

Lehninger, 1970. Biochemistry, the molecular basis of cell structure and function. Worth Publishers Inc. New York. pp. 39-45.

Levine, M.M. 1987. *Escherichia coli* that cause diarrhea: enterotoxigenic, enteropathogenic, enteroinvasive, enterohemorrhagic, and enteroahrent J. infect. Dis. pp. 373-389.

Lozano, R.N. 2000. Supervivencia de *Escherichiacolien* fresa (*Fragaria chiloensis*) en postcosecha. Tesis Licenciatura Parasitología Agrícola. Chapingo, Méx.

Manahan, S.E. 2007. Introducción a la Química Ambiental. Universidad Nacional Autónoma de México. Pp. 240-250.

Mendez, L.O. 2004. Efecto del grado de dureza del agua en la calidad de la mezcla en tanque de aspersión de plaguicidas. Tesis Licenciatura Parasitología Agrícola. Chapingo, Méx. pp. 45-54.

Lim, D. 1998. Microbiology. University of South Florida. pp. 89-323.

Munguia, G. A. 2012. Reducción de riesgos biológicos (*Escherichia coli* y *Salmonella* spp.) en agua con tratamientos químicos. Tesis Maestría Protección Vegetal. Chapingo, Méx. pp. 34-48.

Norma Oficial Mexicana NOM-093-SSA1. 1994. Bienes y Servicios. Practicas de higiene y sanidad en la Preparación de Alimentos que se ofrecen en Establecimientos Fijos.

Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA-1994. Salud Ambiental, Agua para uso y consumo humano-límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización.

Palacios, O. Aceves, E. 1970. Instructivo para el muestreo, registro de datos e interpretación de la calidad de agua para riego agrícola. Rama de riego y drenaje. Serie de apuntes No.15. Colegio de Postgraduados. Escuela Nacional de Agricultura. Chapingo, Mex. pp. 5-8.

Pelczar J. Micheal, D. ReidRoyer y Chan E.C.S. 1998. Microbiología. Ed. McGraw-Hill, México, D.F. pp. 29-38.

SAGARPA 1998. Secretaría de Agricultura, Ganadería, desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. InfoAserca Claridades Agropecuarias."El jitomate la hortaliza de excelencia en exportación". Publicación mensual (octubre) No. 62. México, Distrito Fderal. (consultado, 2013) <http://www.aserca.gob.mx/sicsa/claridades/revistas.asp>.

SAGARPA 2002. Secretaría de Agricultura, Ganadería, desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Dirección General de Inocuidad Agroalimentaria Acuícola y Pesquera. “Manual de buenas prácticas agrícolas”.

SAGARPA 2007. Secretaría de Agricultura, Ganadería, desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Dirección General de Inocuidad Agroalimentaria Acuícola y Pesquera. “Lineamientos generales para la operación y certificación de sistemas de reducción de riesgos de contaminación en la producción primaria de alimentos de origen agrícola”.

Staner, R.Y. Adelberg, E.A. Ingraham, J.L.1976. The Microbial World. Englewood Cliffs, New Jersey. pp. 290-320.

Tasistro, S.A. 2000. Introducción y clasificación de coadyuvantes para agroquímicos. I Simposium Latinoamericano sobre coadyuvantes para agroquímicos. Puerto Vallarta, Jalisco.

7. Anexos.

Cuadro 24. Evaluaciones 24 horas después de realizarse los tratamientos con cloro y materia orgánica en agua contaminada con *Escherichia coli*.

0 horas		50 ppm			100 ppm			150 ppm			200 ppm		
		R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
	1% m.o.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2% m.o.	1	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
	3% m.o.	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1
2 horas													
	1% m.o.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2% m.o.	1	1	1	0	0	1	0	0	1	1	1	0
	3% m.o.	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0
4 horas													
	1% m.o.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2% m.o.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	3% m.o.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
6 horas													
	1% m.o.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2% m.o.	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	0	0
	3% m.o.	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0
8 horas													
	1% m.o.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2% m.o.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	3% m.o.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
24 horas													
	1% m.o.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2% m.o.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	3% m.o.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

*0= sin desarrollo de *E. coli*; 1= con desarrollo de *E. coli*.

Cuadro 25. Evaluaciones 48 horas después de realizarse los tratamientos con cloro y materia orgánica en agua contaminada con *Escherichia coli*.

0 horas		50 ppm			100 ppm			150 ppm			200 ppm		
		R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
	1% m.o.	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0

	2% m.o.	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	0
	3% m.o.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
2 horas													
	1% m.o.	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2% m.o.	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1
	3% m.o.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1
4 horas													
	1% m.o.	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2% m.o.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	3% m.o.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
6 horas													
	1% m.o.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2% m.o.	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	0	0
	3% m.o.	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1
8 horas													
	1% m.o.	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2% m.o.	1	1	0	1	1	1	1	1	0	1	1	0
	3% m.o.	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1
24 horas													
	1% m.o.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2% m.o.	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0
	3% m.o.	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1

*0= sin desarrollo de *E. coli*; 1= con desarrollo de *E. coli*.

Cuadro 26. Evaluaciones 72 horas después de realizarse los tratamientos con cloro y materia orgánica en agua contaminada con *Escherichia coli*.

0 horas		50 ppm			100 ppm			150 ppm			200 ppm		
		R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
	1% m.o.	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	2% m.o.	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	0
	3% m.o.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
2 horas													
	1% m.o.	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2% m.o.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	3% m.o.	1	1	1	1	1	1	0	0	1	0	1	1
4 horas													
	1% m.o.	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2% m.o.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

	3% m.o.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
6 horas													
	1% m.o.	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2% m.o.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	3% m.o.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
8 horas													
	1% m.o.	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2% m.o.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
	3% m.o.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
24 horas													
	1% m.o.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2% m.o.	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0
	3% m.o.	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1

*0= sin desarrollo de *E. coli*; 1= con desarrollo de *E. coli*.

Cuadro 27. Primera evaluación 24 horas después de realizado los tratamientos con cuatro concentraciones de cloro y cinco valores de pH en agua contaminada con *E. coli*.

pH	Cloro											
	50			100			150			200		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4.5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6.5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

*0= sin desarrollo de *E. coli*; 1= con desarrollo de *E. coli*.

Cuadro 28. Segunda evaluación 48 horas después de realizado los tratamientos con cuatro concentraciones de cloro y cinco valores de pH en agua contaminada con *E. coli*.

Ph	Cloro											
	50			100			150			200		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4.5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6.5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

*0= sin desarrollo de *E. coli*; 1= con desarrollo de *E. coli*.

Cuadro 29. Evaluación 24 horas después de realizados los tratamientos con cuatro concentraciones de cloro y cuatro niveles de dureza del agua contaminada con *E. coli*.

Dureza (ppm)	Cloro											
	50			100			150			200		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
75	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
350	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

*0= sin desarrollo de *E. coli*; 1= con desarrollo de *E. coli*.

Cuadro 30. Evaluación 48 horas después de realizados los tratamientos con cuatro concentraciones de cloro y cuatro niveles de dureza del agua contaminada con *E. coli*.

Dureza	Cloro											
	50			100			150			200		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
75	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
350	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

*0= sin desarrollo de *E. coli*; 1= con desarrollo de *E. coli*.

Cuadro 31. Evaluación 24 horas después de realizados los tratamientos con ozono a 5 y 10 ppm con un tiempo de exposición de 5 minutos usando cuatro niveles de dureza del agua contaminada con *E. coli*.

TRATAMIENTOS	NIVEL DE OZONO (O ₃)	NIVEL DUREZA DE AGUA	R1	R2	R3
T1	5	75	1	1	1

T2	5	100	1	1	1
T3	5	200	1	1	1
T4	5	350	1	1	1
T5	10	75	1	0	1
T6	10	100	1	1	1
T7	10	200	0	1	1
T8	10	350	1	0	1

*0= sin desarrollo de *E. coli*; 1= con desarrollo de *E. coli*.

Cuadro 32. Evaluación 48 horas después de realizados los tratamientos con ozono a 5 y 10 ppm con un tiempo de exposición de 5 minutos usando cuatro niveles de dureza del agua contaminada con *E. coli*.

TRATAMIENTOS	NIVEL DE OZONO (O ₃)	NIVEL DUREZA DE AGUA	R1	R2	R3
T1	5	75	1	1	1
T2	5	100	1	1	1
T3	5	200	1	1	1
T4	5	350	1	1	1
T5	10	75	1	0	1
T6	10	100	1	1	1
T7	10	200	0	1	1
T8	10	350	1	0	1

*0= sin desarrollo de *E. coli*; 1= con desarrollo de *E. coli*.



Figura 6. Desarrollo óptimo de *Escherichia coli* en tratamientos testigos: a) Testigo 0, sin desarrollo de bacteria; b) testigo + con desarrollo de *E. coli*; c) testigo +m.o., bacteria mas materia orgánica con desarrollo de *E. coli*.

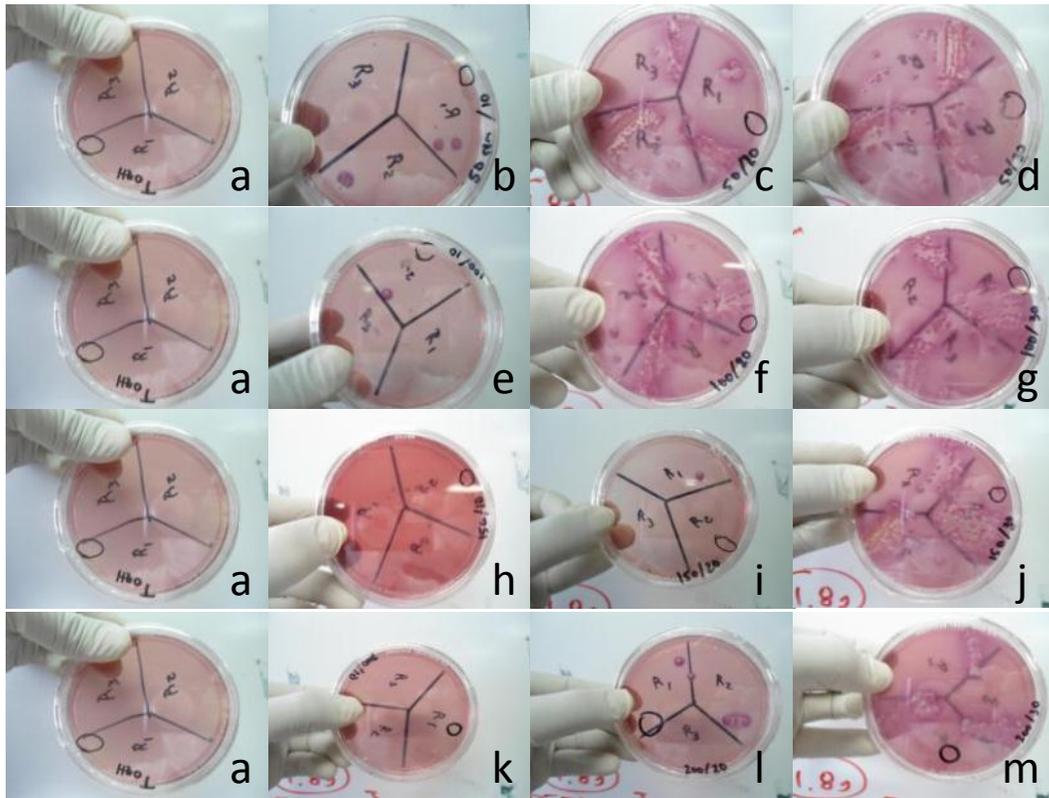


Figura 7. Desarrollo de *E. coli* en tratamientos con cuatro concentraciones de cloro y tres porcentajes de materia orgánica a 0 horas de preparada la solución desinfectante: a) testigo sin desarrollo de bacteria; b) cloro a 50 ppm y 1% de M.O.; c) cloro con 50 ppm y 2% de M.O.; d) cloro a 50 ppm y 3% de M.O.; e) cloro a 100 ppm y 1% de M.O.; f) cloro a 100 ppm y 2% de M.O.; g) cloro a 100 ppm y 3% de M.O.; h) cloro a 150 ppm y 1% de M.O.; i) cloro a 150 ppm y 2% de M.O.; j) cloro a 150 ppm y 3% de M.O.; k) cloro a 200 ppm y 1% de M.O.; l) cloro a 200 ppm y 2% de M.O.; m) cloro a 200 ppm y 3% de M.O.; b,c, d) 50 ppm al 1, 2 y 3%; e, f, g) 100 ppm al 1,2 y 3%; h, i, j) 150 ppm al 1, 2 y 3%; k, l, m) 200 ppm al 1, 2 y 3%.

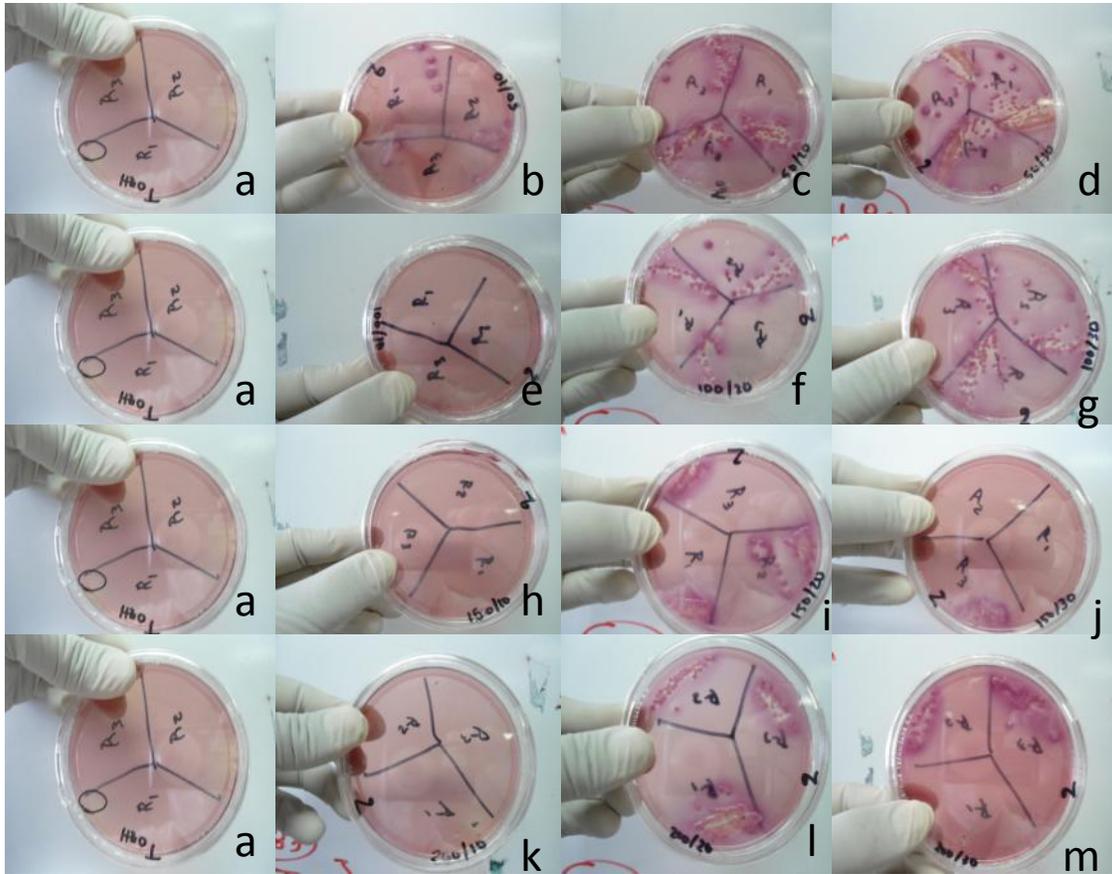


Figura 8. Desarrollo de *E. coli* en tratamientos con cuatro concentraciones de cloro y tres porcentajes de materia orgánica pasadas 2 horas de preparada la solución desinfectante: a) testigo sin desarrollo de bacteria; b) cloro a 50 ppm y 1% de M.O.; c) cloro a 50 ppm y 2% de M.O.; d) cloro a 50 ppm y 3% de M.O.; e) cloro a 100 ppm y 1% de M.O.; f) cloro a 100 ppm y 2% de M.O.; g) cloro a 100 ppm y 3% de M.O.; h) cloro a 150 ppm y 1% de M.O.; i) cloro a 150 ppm y 2% de M.O.; j) cloro a 150 ppm y 3% de M.O.; k) cloro a 200 ppm y 1% de M.O.; l) cloro a 200 ppm y 2% de M.O.; m) cloro a 200 ppm y 3% de M.O.; b, c, d) 50 ppm al 1, 2 y 3%; e, f, g) 100 ppm al 1, 2 y 3%; h, i, j) 150 ppm al 1, 2 y 3%; k, l, m) 200 ppm al 1, 2 y 3%.

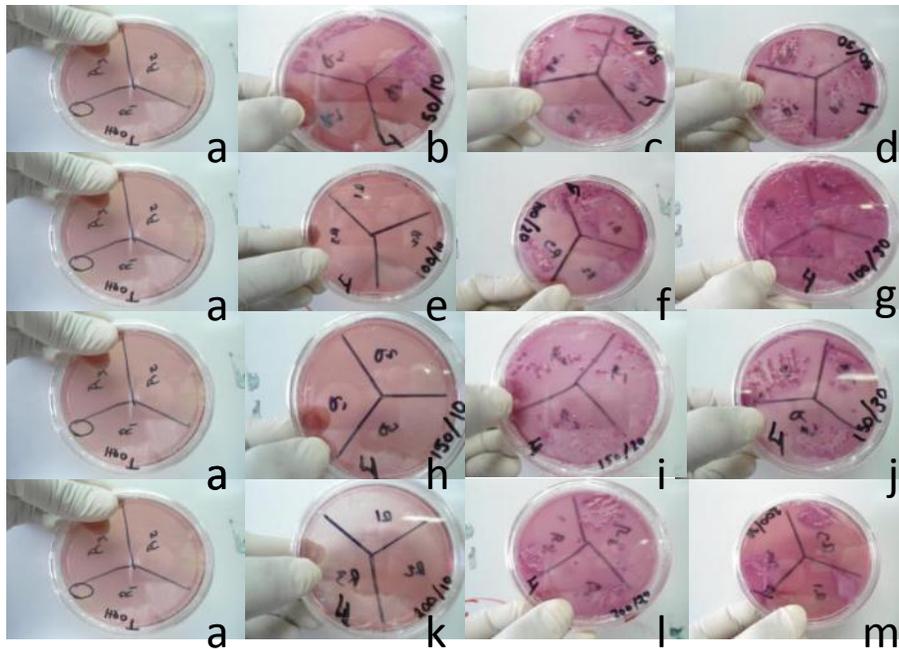


Figura 9. Desarrollo de *E. coli* en tratamientos con cuatro concentraciones de cloro y tres porcentajes de materia orgánica pasadas 4 horas de preparada la solución desinfectante: a) testigo sin desarrollo de bacteria; b) cloro a 50 ppm y 1% de M.O.; c) cloro con 50 ppm y 2% de M.O.; d) cloro a 50 ppm y 3% de M.O.; e) cloro a 100 ppm y 1% de M.O.; f) cloro a 100 ppm y 2% de M.O.; g) cloro a 100 ppm y 3% de M.O.; h) cloro a 150 ppm y 1% de M.O.; i) cloro a 150 ppm y 2% de M.O.; j) cloro a 150 ppm y 3% de M.O.; k) cloro a 200 ppm y 1% de M.O.; l) cloro a 200 ppm y 2% de M.O.; m) cloro a 200 ppm y 3% de M.O.; b,c, d) 50 ppm al 1, 2 y 3%; e, f, g) 100 ppm al 1,2 y 3%; h, i, j) 150 ppm al 1, 2 y 3%; k, l, m) 200 ppm al 1, 2 y 3%.

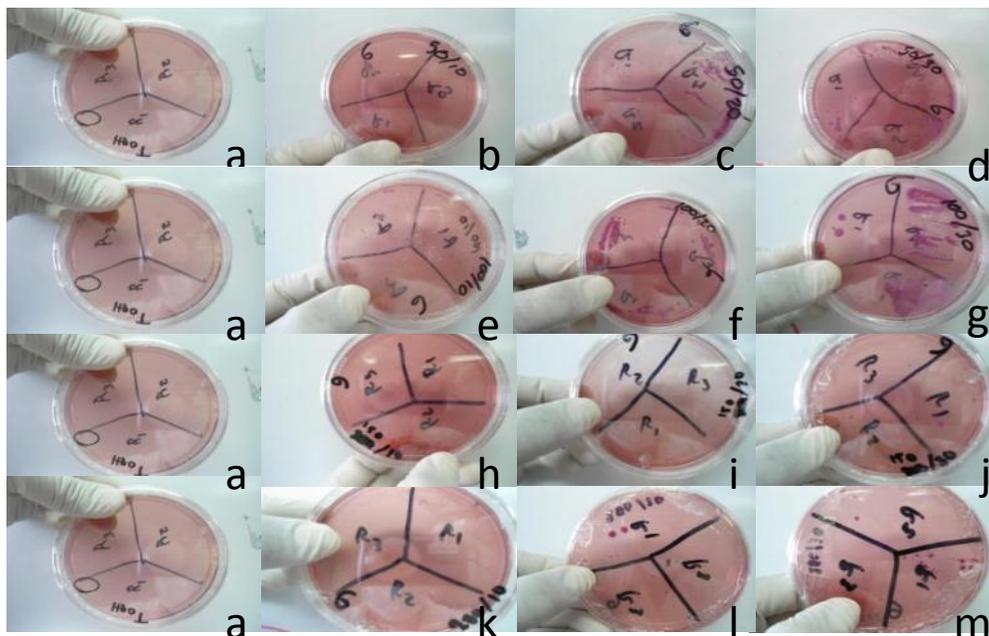


Figura 10. Desarrollo de *E. coli* en tratamientos con cuatro concentraciones de cloro y tres porcentajes de materia orgánica pasadas 6 horas de preparada la solución desinfectante: a) testigo sin desarrollo de bacteria; b) cloro a 50 ppm y 1% de M.O.; c) cloro con 50 ppm y 2% de M.O.; d) cloro a 50 ppm y 3% de M.O.; e) cloro a 100 ppm y 1% de M.O.; f) cloro a 100

ppm y 2% de M.O.; g) cloro a 100 ppm y 3% de M.O.; h) cloro a 150 ppm y 1% de M.O.; i) cloro a 150 ppm y 2% de M.O.; j) cloro a 150 ppm y 3% de M.O.; k) cloro a 200 ppm y 1% de M.O.; l) cloro a 200 ppm y 2% de M.O.; m) cloro a 200 ppm y 3% de M.O.; b,c, d) 50 ppm al 1, 2 y 3%; e, f, g) 100 ppm al 1,2 y 3%; h, i, j) 150 ppm al 1, 2 y 3%; k, l, m) 200 ppm al 1, 2 y 3%.

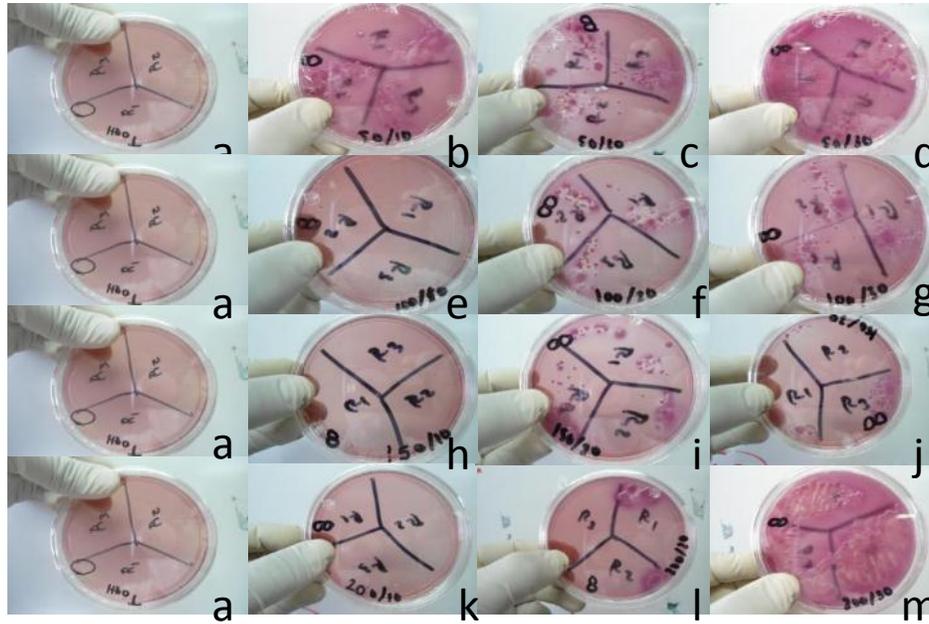


Figura 11. Desarrollo de *E. coli* en tratamientos con cuatro concentraciones de cloro y tres porcentajes de materia orgánica pasadas 8 horas de preparada la solución desinfectante: a) testigo sin desarrollo de bacteria; b) cloro a 50 ppm y 1% de M.O.; c) cloro con 50 ppm y 2% de M.O.; d) cloro a 50 ppm y 3% de M.O.; e) cloro a 100 ppm y 1% de M.O.; f) cloro a 100 ppm y 2% de M.O.; g) cloro a 100 ppm y 3% de M.O.; h) cloro a 150 ppm y 1% de M.O.; i) cloro a 150 ppm y 2% de M.O.; j) cloro a 150 ppm y 3% de M.O.; k) cloro a 200 ppm y 1% de M.O.; l) cloro a 200 ppm y 2% de M.O.; m) cloro a 200 ppm y 3% de M.O.; b,c, d) 50 ppm al 1, 2 y 3%; e, f, g) 100 ppm al 1,2 y 3%; h, i, j) 150 ppm al 1, 2 y 3%; k, l, m) 200 ppm al 1, 2 y 3%.

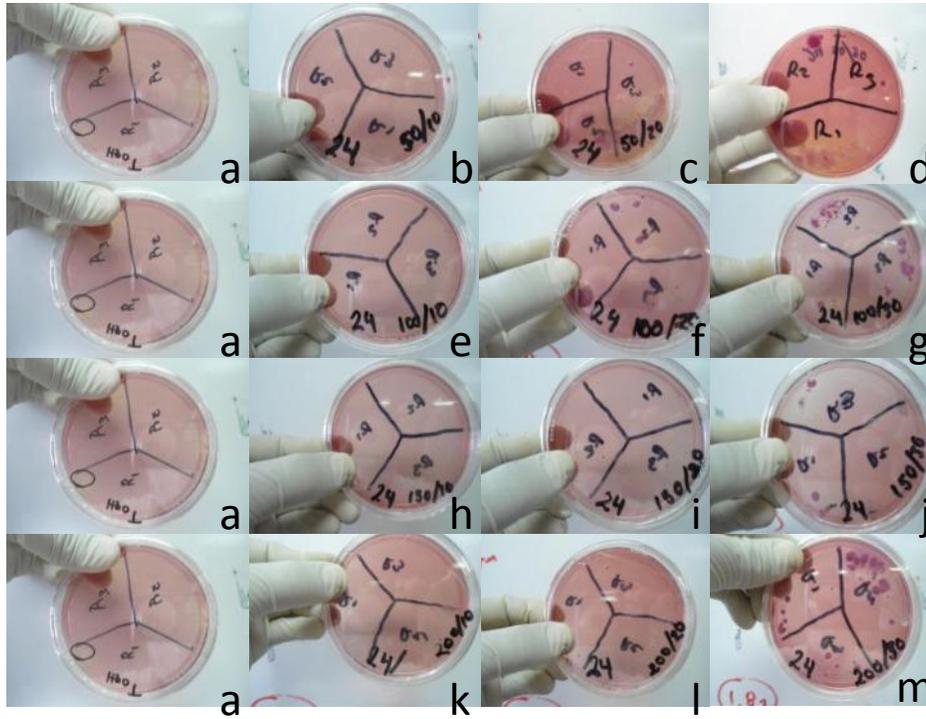


Figura 12. Desarrollo de *E. coli* en tratamientos con cuatro concentraciones de cloro y tres porcentajes de materia orgánica pasadas 24 horas de preparada la solución desinfectante: a) testigo sin desarrollo de bacteria; b) cloro a 50 ppm y 1% de M.O.; c) cloro con 50 ppm y 2% de M.O.; d) cloro a 50 ppm y 3% de M.O.; e) cloro a 100 ppm y 1% de M.O.; f) cloro a 100 ppm y 2% de M.O.; g) cloro a 100 ppm y 3% de M.O.; h) cloro a 150 ppm y 1% de M.O.; i) cloro a 150 ppm y 2% de M.O.; j) cloro a 150 ppm y 3% de M.O.; k) cloro a 200 ppm y 1% de M.O.; l) cloro a 200 ppm y 2% de M.O.; m) cloro a 200 ppm y 3% de M.O.; b,c, d) 50 ppm al 1, 2 y 3%; e, f, g) 100 ppm al 1,2 y 3%; h, i, j) 150 ppm al 1, 2 y 3%; k, l, m) 200 ppm al 1, 2 y 3%.

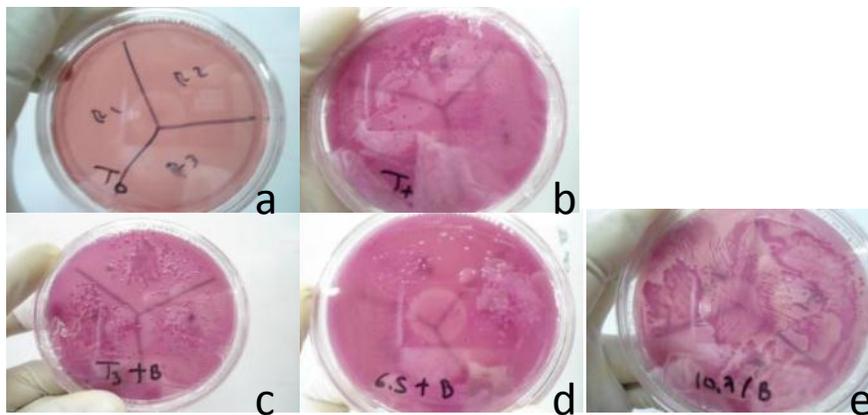


Figura 13. Desarrollo de *Escherichia coli* en tratamientos testigos sin aplicación de desinfectantes: a) testigo 0; b) testigo + (con bacteria); c) testigo con nivel 3 de pH y bacteria; d) testigo con nivel 6.5 de pH y bacteria; e) testigo con nivel 11 de pH y bacteria.

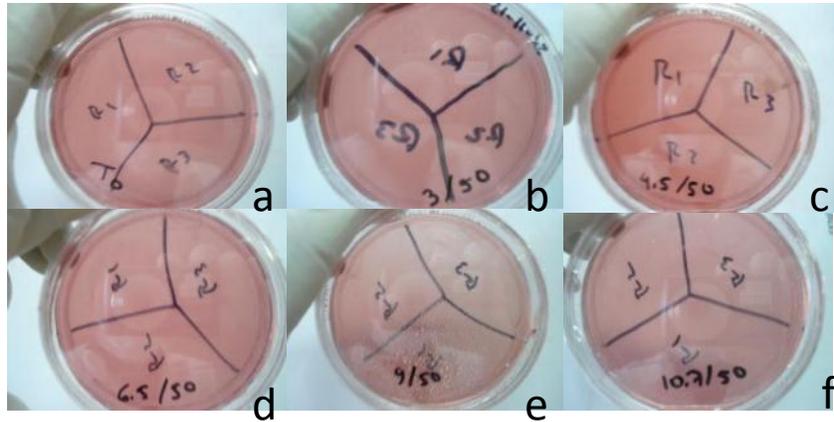


Figura 14. Desarrollo de *Escherichia coli* 24 horas después de su inoculación en tratamientos con cloro y cinco valores de pH del agua: a) testigo 0 sin desarrollo bacteriano; b) cloro a 50 ppm y 3 de pH; c) cloro 50 ppm y 4.5 de pH; d) cloro 50 ppm y 6.5 de pH; e) cloro 50 ppm y 9 de pH; f) cloro 50 ppm y 11 de pH.

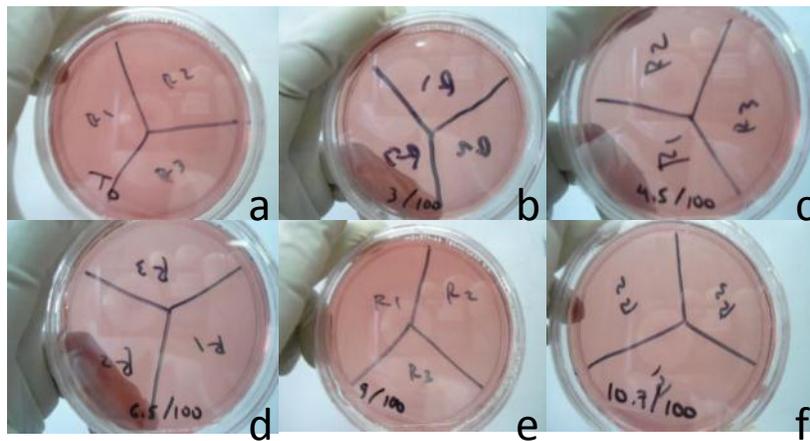


Figura 15. Desarrollo de *Escherichia coli* 24 horas después de su inoculación en tratamientos con cloro y cinco valores de pH del agua: a) testigo 0 sin desarrollo bacteriano; b) cloro a 100 ppm y 3 de pH; c) cloro 100 ppm y 4.5 de pH; d) cloro 100 ppm y 6.5 de pH; e) cloro 100 ppm y 9 de pH; f) cloro 100 ppm y 11 de pH.

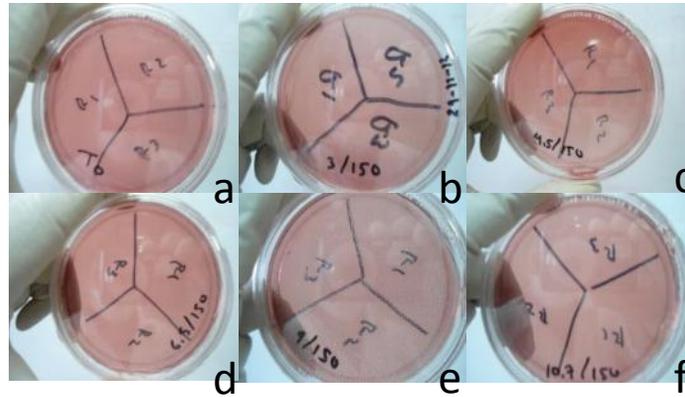


Figura 16. Desarrollo de *Escherichia coli* 24 horas después de su inoculación en tratamientos con cloro y cinco valores de pH del agua: a) testigo 0 sin desarrollo bacteriano; b) cloro a 150 ppm y 3 de pH; c) cloro 150 ppm y 4.5 de pH; d) cloro 150 ppm y 6.5 de pH; e) cloro 150 ppm y 9 de pH; f) cloro 150 ppm y 11 de pH.

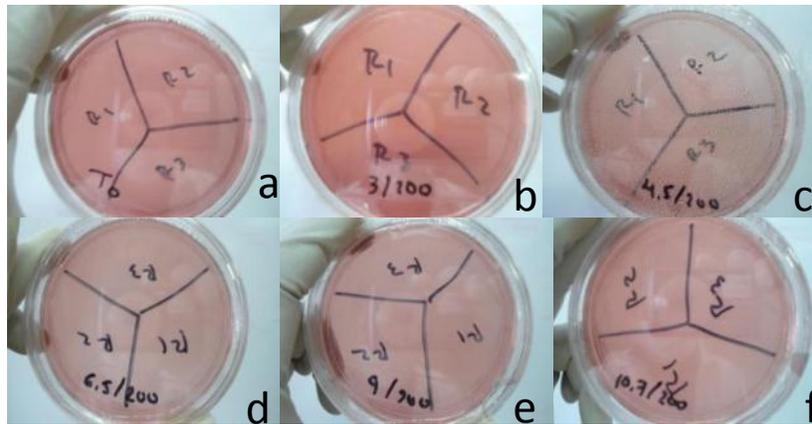


Figura 17. Desarrollo de *Escherichia coli* 24 horas después de su inoculación en tratamientos con cloro y cinco valores de pH del agua: a) testigo 0 sin desarrollo bacteriano; b) cloro a 200 ppm y 3 de pH; c) cloro 200 ppm y 4.5 de pH; d) cloro 200 ppm y 6.5 de pH; e) cloro 200 ppm y 9 de pH; f) cloro 200 ppm y 11 de pH.

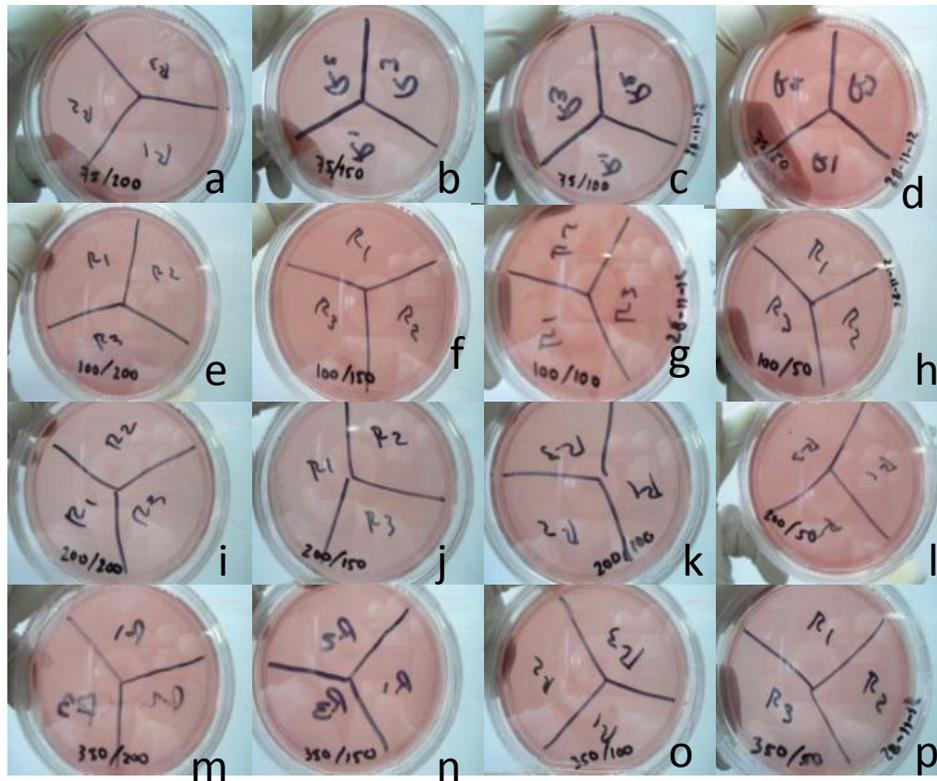


Figura 18. Inhibición de *Escherichia coli* 24 horas después de su inoculación en tratamientos con cuatro concentraciones de cloro y cuatro niveles de dureza del agua: a) cloro a 200 ppm y 75 ppm de agua dura; b) cloro a 150 ppm y 75 ppm de agua dura; c) cloro a 100 ppm y 75 ppm de agua dura; d) cloro a 50 ppm y 75 ppm de agua dura; e) cloro a 200 ppm y 100 ppm de agua dura; f) cloro a 150 ppm y 100 ppm de agua dura; g) cloro a 100 ppm y 100 ppm de agua dura; h) cloro a 50 ppm y 100 ppm de agua dura; i) cloro a 200 ppm y 200 ppm de agua dura; j) cloro a 150 ppm y 200 ppm de agua dura; k) cloro a 100 ppm y 200 ppm de agua dura; l) cloro a 50 ppm y 200 ppm de agua dura; m) cloro a 200 ppm y 350 ppm de agua dura; n) cloro a 150 ppm y 350 ppm de agua dura; o) cloro a 100 ppm y 350 ppm de agua dura; p) cloro a 50 ppm y 350 ppm de agua dura.

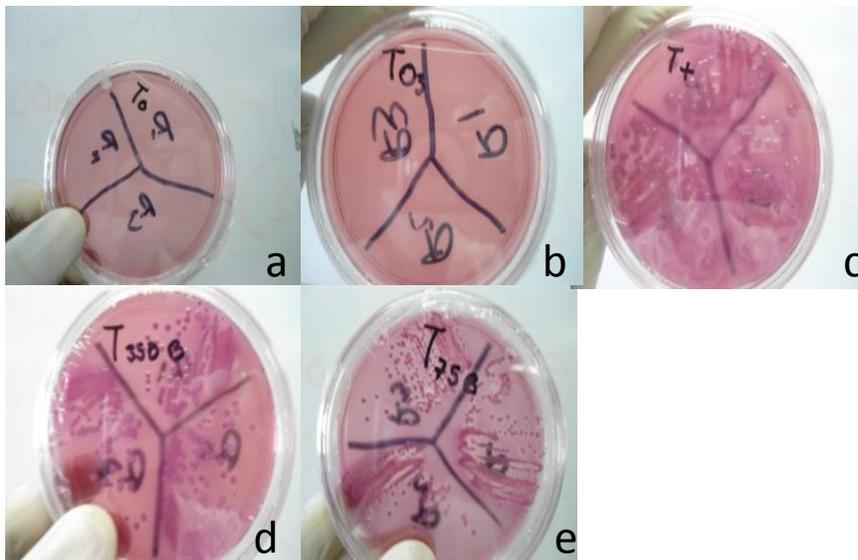


Figura 19. Desarrollo de *Escherichia coli* 24 horas después de su inoculación en testigos con agua dura y ozono: a) testigo 0 con agua sin desarrollo de la bacteria; b) testigo con ozono (5ppm) sin desarrollo de la bacteria; c) testigo+ con bacteria presente desarrollo óptimo; d) testigo con desarrollo óptimo de bacteria a 350 ppm de dureza del agua; e) testigo con desarrollo óptimo de bacteria a 75 ppm de dureza del agua.

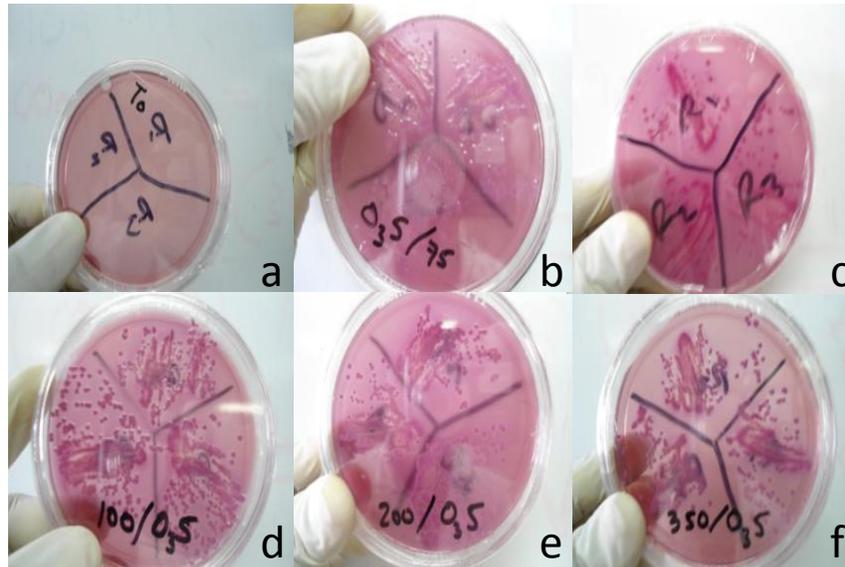


Figura 20. Desarrollo de *Escherichia coli* 24 horas después de su inoculación en tratamientos con 5ppm de ozono y cuatro niveles de dureza del agua : a) testigo 0 con agua sin desarrollo de la bacteria; b) desarrollo óptimo de la bacteria con ozono a 5ppm y 75 ppm de dureza del agua; c) desarrollo óptimo de la bacteria con ozono a 5ppm y 75 ppm de dureza del agua; d) desarrollo óptimo de la bacteria con ozono a 5ppm y 100 ppm de dureza del agua; e) desarrollo óptimo de la bacteria con ozono a 5ppm y 200 ppm de dureza del agua; f) desarrollo óptimo de la bacteria con ozono a 5ppm y 350 ppm de dureza del agua.

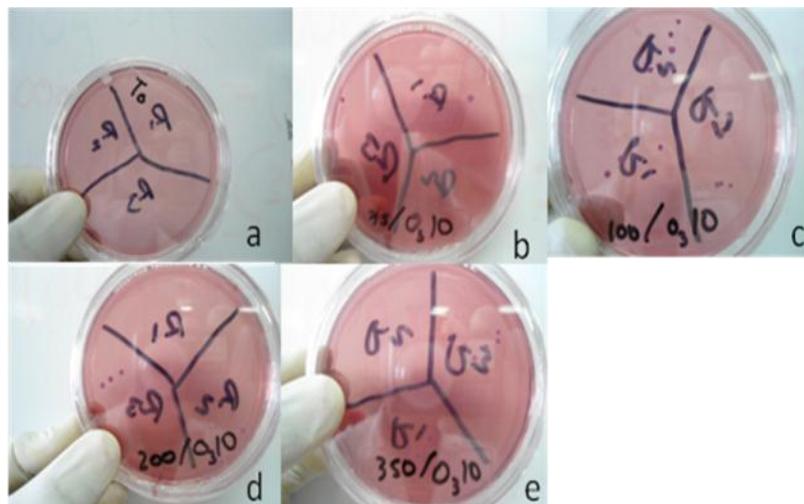


Figura 21. Desarrollo de *Escherichia coli* 24 horas después de su inoculación en tratamientos con 10ppm de ozono y cuatro niveles de dureza del agua : a) testigo 0 con agua sin desarrollo de la bacteria; b) desarrollo óptimo de la bacteria con ozono a 10 ppm y 75 ppm de dureza del agua; c) desarrollo óptimo de la bacteria con ozono a 10 ppm y 100 ppm de dureza del

agua; d) desarrollo óptimo de la bacteria con ozono a 10 ppm y 200 ppm de dureza del agua; e) desarrollo óptimo de la bacteria con ozono a 10 ppm y 350 ppm de dureza del agua.