



Casa abierta al tiempo

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA**  
**Unidad Iztapalapa**

**Título del proyecto:**

**Estudios sobre los residuos del agua clorada en el lavado  
de la pitaya de mayo (*Stenocereus pruinosus*) y  
xoconostle dulce (*Stenocereus stellatus*).**

TESIS

PARA OBTENER EL GRADO DE ESPECIALISTA EN  
BIOTECNOLOGÍA

PRESENTA:

BIOL. GUSTAVO SERRANO MARTÍNEZ

Directora:

Dra. María de Lourdes Yáñez López

Asesor:

Dr. Miguel Ángel Armella Villalpando



Casa abierta al tiempo

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA**  
**Unidad Iztapalapa**

Título del proyecto:

**Estudios sobre los residuos del agua clorada en el lavado  
de la pitaya de mayo (*Stenocereus pruinosus*) y  
xoconostle dulce (*Stenocereus stellatus*).**

TESIS

PARA OBTENER EL GRADO DE ESPECIALISTA EN  
BIOTECNOLOGÍA

PRESENTA:

BIOL. GUSTAVO SERRANO MARTÍNEZ

Directora:

  
Dra. María de Lourdes Yáñez López

Asesor:

Dr. Miguel Ángel Armella Villalpando

## **Agradecimientos**

A mi madre Sara Martínez Morales que ha sido un motor en mi vida, siempre brindando su apoyo en todo momento. Gracias madre por tantas enseñanzas que has dado a lo largo de mi vida, por tomarte el tiempo de poder escucharme, platicar, y siempre poder contar contigo, te amo madre!!!

A mi padre Cornelio Serrano Rosas por todo el apoyo moral y económico brindado a lo largo de mis estudios siempre incondicional. Gracias por ser esa persona que siempre me ha enseñado a nunca mirar atrás, por preocuparte por mi, por ser tu hijo, por ser mi ejemplo de vida.

Al Dr. Miguel Ángel Armella Villapando por el apoyo y confianza brindada, por permitirme ser parte de este maravilloso proyecto, por las clases académicas y de vida dadas, por las platicas, por los momentos que compartimos juntos y sobre todo por dejarme ser parte de sus hijos académicos y formar parte de su familia.

A la Dra. María de Lourdes Yáñez López por aceptar ser la directora del proyecto, por todo el conocimiento académico y personal, por el tiempo tomado para escucharme, corregirme, por los jalones de oreja, regaños y platicas que han logrado en mi un aprendizaje. Gracias por ser no solo mi maestra sino también por ser su hijo académico.

A la Mtra. Frida Malpica por todo el apoyo brindado a lo largo de todo el proyecto, por las clases, por el tiempo que siempre tuvo para escuchar mis dudas e inquietudes, por los consejos, por siempre tener una una sonrisa y solución a los problemas. Le agradezco infinitamente permitirme ser su alumno a lo largo de un año y ser mi asesora.

Al Dr. Oscar Monroy Hermosillo por su tiempo y su valiosa explicación acerca de la ineficiencia del hipoclorito de sodio, que lograron que muchas dudas quedaran claras.

Al Dr. Porfirio Gutierrez Martínez por la ayuda en temas de fitopatología.

A Sr. Disrael Sanchez por el apoyo al proyecto, amistad y horas de trabajo.

Al Mtro. Jose María Barba y Dr. Jose Ramón Verde por los prestamos de material de laboratorio, reactivos y espacios para poder trabajar y cumplir con los objetivos planteados en el proyecto.

A la familia Torres Reyes por el apoyo y el cariño brindado, por dejarme conocer su tierra, por tener la oportunidad de poder trabajar con ustedes, por dejarnos experimentar en sus cultivos y siempre recibirnos con una sonrisa que nos alegraba el día. Muchas gracias ¡¡¡

A mis compañer@s Lizbeth, Maritza, Zaida, Roberto, Marisol, Carolina, Areli, Oscar que son parte de mi equipo de trabajo o forman parte de mi vida, por esos momentos de diversion, trabajo, estudio y reflexión que pasada la media noche se nos daba.

A todas aquellas personas que participaron directamente o indirectamente en la realización de proyecto.

A TODOS, MUCHAS GRACIAS ¡¡¡

## RESUMEN

Los frutos de los géneros *Stenocereus pruinosus* y *Stenocereus stellatus* ofrecen una opción agrícola a los pobladores de esta región, son conocidas popularmente por el nombre de “*xoconostle dulce*” y “*pitaya de mayo*” y son considerados como exóticos fuera del sitio de producción en los estados de Puebla y Oaxaca, su alta perecibilidad es un problema que impide comercializarlos fuera de sus áreas de producción. En estudios poscosecha realizados anteriormente, se ha logrado alargar la vida del fruto considerablemente. Un primer paso en el proceso poscosecha es el de lavado-desinfección de los frutos el cual se lleva a cabo con la ayuda de hipoclorito de sodio (NaClO) que es un desinfectante de fácil adquisición y económico. En el estudio presente se identificará la concentración de hipoclorito de sodio adecuada para el lavado-desinfección del xoconostle dulce y pitaya de mayo sin ver afectada la calidad del fruto, utilizando cuatro tratamientos de diferentes concentraciones de NaClO: Control (sin NaClO), 0.5R (1.25 ml de NaClO / 1.0 L de H<sub>2</sub>O), R (2.5 ml de NaClO / 1.0 L de H<sub>2</sub>O) y 2R (5.0 ml de NaClO / 1.0 L de H<sub>2</sub>O). Los resultados obtenidos en el conteo de microorganismos de los tratamientos son los siguientes: C=3.37E+06, 0.5R=3.87E+06, R=1.48E+06 y 2R=2.05E+06 (en el caso del xoconostle dulce por método de Breed) y C= 2524 UFC, 0.5R= 12 UFC, R= 3 UFC y 2R= 11 UFC (en el caso de pitaya de mayo por método de conteo en placa), concluyendo que el tratamiento R (1.25 ml de NaClO / 1.0 L de H<sub>2</sub>O) disminuye la cantidad de microorganismos presentes en el agua de lavado-desinfección, sin afectar los parámetros químicos de calidad (pH, Acidez total titulable y Sólidos Solubles Totales), así como también la identificación de 10 morfos diferentes en xoconostle dulce y 9 morfos en pitaya de mayo, de los cuales comparten 7 morfos con características macroscópica y microscópicamente similares, así como también 4 morfos encontrados comparten características similares con los géneros *Leuconostoc*, *Clostridium*, *Bacillus* y *Penicillium*.

### Palabras Claves

*Stenocereus pruinosus*, *Stenocereus stellatus*, Hipoclorito de sodio, Pitaya de mayo, Xoconostle dulce.

## Abstract

The fruits of the *Stenocereus pruinosus* and *Stenocereus stellatus* genders offer an agricultural option to the people of this region. They are popularly known by the name of “sweet xoconostle” and “may pitaya” and outside their production region they are considered as exotic. This in Puebla and Oaxaca, its high perishability is a problem that complicates their marketing outside their production areas. In the past some postharvest studies have been made. It has been achieved a considerable extension of the fruit's life period. A first step to take in the postharvest process is the washing-disinfecting one of the fruits. That is carried out means of the sodium hypochlorite (NaClO) application which is an easy to acquire and inexpensive disinfectant. In the present study the objective is to identify the suitable sodium hypochlorite concentration for the washing-disinfecting process of the sweet xoconostle and may pitaya, without affecting the quality of the fruit. Using four different levels of NaClO concentration treatments: Control (without NaClO), 0.5 R (1.25 ml of NaClO / 1.0 L of H<sub>2</sub>O), R (2.5 ml of NaClO / 1.0 L of H<sub>2</sub>O) and 2 R (5.0 ml of NaClO / 1.0 L of H<sub>2</sub>O). The obtained results in the microorganisms count of the treatments made are the following ones: C=3.37E+06, 0.5R=3.87E+06, R=1.48E+06 y 2R=2.05E+06 (in the case of sweet xoconostle by Breed's method) and C= 2524 UFC, 0.5R= 12 UFC, R= 3 UFC y 2R= 11 UFC (in the case of may pitaya by the plate count method), concluding that treatment R (1.25 ml of NaClO / 1.0 L of H<sub>2</sub>O) decreases the microorganisms amount in the washing-disinfecting water, without affecting the chemical quality parameters (pH, total titratable acidity and total soluble solids). There were 10 different identified morphos in sweet xoconostle and 9 morphos in the may pitaya, of which 7 morphos are shared with similar microscopically and macroscopically characteristic, as well as 4 morphos found to share similar characteristics with the *Leuconostoc*, *Clostridium*, *Bacillus* and *Penicillium* genders.

## Keywords

*Stenocereus pruinosus*, *Stenocereus stellatus*, Sodium Hypochlorite, May pitaya, Sweet xoconostle.

## Tabla de contenido

<b>1.- INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>1</b>
<b>2.- ANTECEDENTES</b> .....	<b>4</b>
<b>2.1 Descripción de especies estudiadas</b> .....	<b>4</b>
2.1.1 Familia Cactaceae.....	4
2.1.2 <i>Stenocereus</i> .....	5
2.1.3 <i>Stenocereus pruinosus</i> .....	6
2.1.4 <i>Stenocereus stellatus</i> .....	8
<b>2.2 Importancia</b> .....	<b>10</b>
2.2.1 <i>Pitaya de mayo</i> y <i>Xoconostle dulce</i> como recursos económicos, social y cultural.....	10
<b>2.3 Manejo poscosecha</b> .....	<b>10</b>
2.3.1 Proceso poscosecha.....	10
2.3.2 Lavado-desinfección .....	12
2.3.3 Hipoclorito de sodio (NaClO) .....	12
2.3.4 Kit de cloro (HI-3875 ®).....	14
<b>2.4 Análisis de parámetros químicos</b> .....	<b>16</b>
2.4.1 pH.....	16
2.4.2 Sólidos Solubles Totales (S.S.T.).....	17
2.4.3 Acidez total titulable.....	17
<b>2.5 Microorganismos</b> .....	<b>18</b>
2.5.1 Diversidad microbiana.....	18
2.5.2 Nutrición microbiana .....	19
2.5.3 Medios de cultivo .....	20
2.5.4 Conteo de microorganismos.....	21
2.5.5 Tinción Gram.....	22
<b>2.6 Descripción microbiana</b> .....	<b>24</b>
2.6.1 Macroscópica .....	24
2.6.2 Microscópica .....	25
<b>2.7 Importancia económica</b> .....	<b>25</b>
2.7.1 Comercialización .....	25
<b>3.- JUSTIFICACIÓN</b> .....	<b>26</b>
<b>4.- HIPOTESIS</b> .....	<b>26</b>
<b>5.- OBJETIVOS</b> .....	<b>27</b>
5.1 Objetivo general.....	27
5.2 Objetivos particulares .....	27
<b>6.- METODOLOGÍA</b> .....	<b>28</b>
6.1 Desinfección <i>Xoconostle Dulce</i> y <i>Pitaya de Mayo</i> .....	28
6.2 Laboratorio .....	29
6.3 Diseño Experimental.....	30
<b>7.- RESULTADOS Y DISCUSIONES</b> .....	<b>33</b>
<b>7.1 <i>Xoconostle dulce</i></b> .....	<b>33</b>
7.1.1 Medición de Hipoclorito de Sodio (NaClO) en <i>Xoconostle dulce</i> .....	33
7.1.2 Conteo de microorganismos en agua de lavado-desinfección de <i>Xoconostle dulce</i> ..	34

7.1.3	Parámetros químicos en <i>Xoconostle dulce</i> .....	35
7.1.4	Descripción de microorganismos en <i>Xoconostle dulce</i> .....	36
<b>7.2</b>	<b><i>Pitaya de Mayo</i></b> .....	<b>47</b>
7.2.1	Medición de Hipoclorito de Sodio (NaClO) en <i>Pitaya de Mayo</i> .....	47
7.2.2	Conteo de microorganismos en agua de lavado-desinfección de <i>Pitaya de Mayo</i> ....	48
7.2.3	Parámetros químicos en <i>Pitaya de Mayo</i> .....	49
7.2.4	Descripción de microorganismos en <i>Pitaya de Mayo</i> .....	50
<b>7.3</b>	<b>Microorganismos sobrevivientes al lavado-desinfección de la <i>pitaya de Mayo</i></b> ....	<b>60</b>
7.3.1	Control (Sin lavado) .....	60
7.3.2	Primera inmersión .....	61
7.3.3	Segunda inmersión .....	62
7.3.4	Tercera inmersión .....	63
<b>7.4</b>	<b>Comparación de características macroscópicas y microscópicas en las colonias de bacterias obtenidas en el presente trabajo versus géneros reportados en frutos de <i>S. pruinosus</i> y <i>S. stellatus</i></b> .....	<b>64</b>
7.4.1	Género <i>Leuconostoc</i> versus morfo # 2.....	64
7.4.2	Género <i>Clostridium</i> versus morfo # 3.....	65
7.4.3	Género <i>Penicillium</i> versus morfo # 8.....	66
7.4.4	Género <i>Bacillus</i> versus morfo # 10.....	67
<b>7.5</b>	<b>ANDEVA</b> .....	<b>68</b>
<b>8.-</b>	<b>CONCLUSIONES</b> .....	<b>68</b>
<b>9.-</b>	<b>REFERENCIAS</b> .....	<b>69</b>



## 1.- INTRODUCCIÓN

Las especies *Stenocereus pruinosus* y *Stenocereus stellatus* pertenecen a la familia de las cactáceas (Cactaceae), habitan en la selva baja caducifolia, matorral espinoso y crasicale de la Mixteca Baja y el valle de Tehuacán (Bravo H., 1978). Los frutos de estas especies son muy apreciados en la Mixteca Baja Oaxaqueña debido a su sabor dulce, refrescante, vistoso color, agradables al paladar. Considerados como frutos exóticos fuera de la región de origen, probablemente la falta de conocimiento de estos frutos es debida a que tienen una alta perecibilidad (a temperatura ambiente tienen un vida promedio de 3-5 días) y su mala forma de conservación provoca que no puedan ser distribuidos fuera de su lugar de producción (Yáñez et al., 2009).

La especie *Stenocereus pruinosus* es una cactácea cuyo fruto es comúnmente conocido como pitaya de mayo, es endémico de México, y últimamente ha ganado popularidad en nuestro país. Tiene una época de producción en los meses de abril a junio (pitaya de mayo) con un pico de producción en el mes de mayo. Las pitayas del género *Stenocereus* en México crecen en forma silvestre en 20 estados de la República, aunque sólo se cultiva con fines comerciales en varias regiones de Tabasco, Yucatán, Campeche, Oaxaca, Veracruz, Puebla, Hidalgo, Jalisco, Michoacán, Nayarit y Baja California, con una producción de 3,428 ton (SINAREFI, 2012) , se puede decir que sólo en México se explotan, ya sea como recolección de las áreas naturales, como cultivo de huertas de traspatio o huertas comerciales (Hernández, 2014). En los estados de Oaxaca y Puebla, la especie *S. pruinosus* está en proceso de domesticación a través de la selección de atributos del fruto (tamaño, densidad de espinas, color de la pulpa) (Arias et al, 2012).

La especie *Stenocereus stellatus* es una cactácea columnar mejor conocida como Xoconostle dulce o tunillo, nativa de las zonas áridas y semi-áridas del centro de México, principalmente en los estados de Puebla, Oaxaca, Guerrero y Morelos.

Estos frutos son recolectados en poblaciones silvestres y cosechados en plantaciones, tanto para el autoconsumo como para su comercialización en los mercados regionales (Hernández, 2014).

La explotación y comercialización de la pitaya de mayo y xoconostle dulce en México, actualmente existe a distintos niveles. En algunos lugares sólo se recolecta para el consumo familiar, sin embargo, generalmente la recolección se hace para la venta en los mercados locales. Por otro lado, hay quienes cultivan las plantas productoras en huertos familiares para vender y consumir sus frutos y muy pocos han establecido el cultivo con fines comerciales (González, 2006).

Para extender la vida en anaquel se requiere establecer una técnica de manejo poscosecha, en la cual un primer paso se basa en el lavado-desinfección de los frutos antes de ser llevados a la empacadora, esto se realiza para remover las partículas del suelo o tierra y otros contaminantes presentes en los frutos o vegetales (esporas, hongos y bacterias) (Barkai-Golan,2001).

La desinfección de los alimentos, probablemente es un factor que ha ocasionado el aumento de la esperanza de vida en los seres humanos, debido a un aumento en los años de vida, que va de los 47 años a los 69 años de vida. El desinfectar significa que se disminuye los microorganismos existentes, capaces de producir enfermedades. En este proceso se usan agentes físicos y químicos para destruir microorganismos patógenos. El objetivo principal en la desinfección es la disminución de microorganismos presentes en el fruto de estudio (*CESVBC*).

La utilización de hipoclorito de sodio ( $\text{NaClO}$ ) en el lavado-desinfección de frutas se lleva a cabo con el propósito de eliminar el polvo y los posibles plaguicidas de contacto. El  $\text{NaClO}$  es el principal desinfectante usado, ya que es un agente efectivo y económico que destruye a los microorganismos en el proceso de lavado-desinfección, el cual también actúa como reductor de bacterias en el agua que se ocupará para el proceso de lavado-desinfección (Barkai-Golan,2001).

La solución clorada debe cambiarse las veces que sean necesarias para eliminar residuos vegetales, sedimentos y acumulación de sodio y calcio. El NaClO tiene una afinidad con la materia orgánica, por lo que su concentración disminuye durante cada enjuague. Los microorganismos presentes en la epidermis del fruto se encuentran en forma vegetativa o en esporas, el hipoclorito de sodio elimina eficientemente la forma vegetativa, pero las esporas son de 10 a 1000 veces más resistentes por lo cual es más difícil su eliminación (Pelayo et al, 2010).

A pesar de que el hipoclorito de sodio (NaClO) es un desinfectante utilizado en el lavado de frutos, este agente químico no asegura su completa inocuidad en los mismos en el proceso de lavado-desinfección, los microorganismos resistentes al proceso del lavado-desinfección son un problema, cuyas características principales se llegan a conocer con la ayuda de estudios microbiológicos. En estudios realizados en conservas de pitaya de mayo y xoconostle dulce se ha reportado la presencia de microorganismos de los géneros *Leuconostoc*, *Clostridium* y *Bacillus* (González, 2006).

*Leuconostoc*: Es una bacteria ácido-láctica gram positiva, generalmente de forma cocoide ovoide y, a menudo, forma cadenas. Son consideradas bacterias no patógenas en humanos, sus características macroscópicas son: convexa, borde plano, liso, brillante, semitransparente, tamaño 3.5 a 7.5 mm. (Dimic, 2006)

*Clostridium*: bacteria anaerobia gram positiva en forma de bacillos formadora de esporas, forma parte de la flora intestinal de animales y humanos, sus esporas se encuentran habitualmente en el suelo, polvo, sedimento y medio acuático. Las características macroscópicas de la colonia son: convexa, translúcida, brillante, borde plano, tamaño variable (Morris W, Fernandez M, 2009).

*Bacillus*: bacterias Gram positivas, en forma de bastón o bacilo; la colonia presenta características rugosas, borde irregular, lobulado, con tamaño variable (pequeño- mediano) con color blanco a grisáceo (Sosa et al, 2011).

En la Mixteca Baja de México se desarrolla una agricultura bajo fuertes restricciones ambientales, pero existen muchas especies con potencial productivo y económico, la cual se encuentra con condiciones favorables para su desarrollo y evolución en una amplia variedad de tipos con una amplia posibilidad para la producción de alimentos e incremento del ingreso económico en los productores, en tierras consideradas como marginales (Martínez G., Bonilla B., 2005), por lo que la óptima utilización de los recursos es indispensable.

## 2.- ANTECEDENTES

### 2.1 Descripción de especies estudiadas

#### 2.1.1 Familia Cactaceae

En la familia de las cactáceas se reconocen tres subfamilias: Pereskioideae, Cactoideae y Opuntioideae, las dos últimas presentes en la región del valle de Tehuacán-Cuicatlán. La familia Cactaceae abarca entre 100-110 géneros con 1500 especies de las cuales México cuenta con un aproximado de 51 géneros y 850 especies donde el 80% de las especies son endémicas (Arias et. al,1997). La familia Cactaceae es originaria del continente Americano, la cual ha logrado adaptarse a los climas desérticos. Las zonas desérticas y semidesérticas representadas por los desiertos de Sonora y Chihuahua, las Selvas Bajas Caducifolias y la zona de depresión del Balsas, contienen gran diversidad de cactáceas. Entre las zonas con mayor diversidad en el centro de México destacan el Valle de Tehuacán-Cuicatlán y la Barranca de Metztitlán (Jiménez-Sierra, 2011).

En las zonas desérticas y semiáridas de México, incluido el Valle de Tehuacán-Cuicatlán, las cactáceas columnares son componentes principales de los bosques tropicales caducifolios y matorrales xerófilos, cubriendo cerca de dos tercios del territorio nacional (Franco, 2013). Entre las especies presentes en el Valle de Tehuacán- Cuicatlán destacan los “viejitos” (*Cephalocereus columna-trajani*), tetetzos (*Neubeobuxbaumia macrocephala*), garambullos (*Myrtillocactus geometrizans*), pitaya de mayo, (*Stenocereus pruinosus*), xoconoxtle dulce

(*Stenocereus stellatus*), chendes (*Polaskia* spp.) y órganos (*Pachycereus* spp.) (Arias et. al, 1997). Las cactáceas son elementos importantes en la estructura y la dinámica de las comunidades de las zonas semidesérticas. Su desaparición conlleva a un proceso de empobrecimiento biológico y a la pérdida de recursos útiles para las poblaciones humanas (Jiménez-Sierra, 2011).

La subfamilia cactoideae cuenta con 91 géneros y 1300 especies, cerca de 48 géneros y 700 especies, las encontramos en México, de las cuales 25 géneros y 66 especies los encontramos en el valle de Tehuacán-Cuicatlán. Se caracteriza por ser de hábito arborescente, arbustivas, trepadoras o epifitas, con tallos no ramificados o ramificados, columnares, cilíndricos o globosos con costillas o tubérculos. Hojas vestigiales presentes o ausentes, espinas generalmente presentes, flores generalmente solitarias, sésiles, diurnas o nocturnas; pericarpelo y tubo receptacular desnudo o con brácteas y/o areolas, tubo receptacular corto o largo; tépalos generalmente decurrentes sobre el túbulo receptacular, estambres escasos a numerosos, insertos en el tubo receptacular. Frutos piriformes, claviformes a globosos con semillas ovoides a subesféricas con testa parda a negra (Arias et. al, 2012).

### **2.1.2 *Stenocereus***

El género *Stenocereus* es uno de los más diversos por el considerable número de especies, formas de los tallos, tamaño de flores, así como su distribución geográfica. Se reconoce que *Stenocereus* comprende 23 especies de las cuales 20 se encuentran en México, 17 especies son endémicas, 4 de la región de Tehuacán-Cuicatlán (Arias et. al, 2012). *Stenocereus* se encuentra relacionada filogenéticamente con los géneros: *Polaskia*, *Myrtillocactus* y *Escontria* (Arreola-Nava, 2006).

Es un género de cactáceas columnares, arborescentes o arbustivas, tallos con ramificación difusa o profusa desde la base o parte media, erguidos, monomorfos, no articulados, cilíndricos, gruesos con costillas numerosas, areolas grandes distantes entre sí, con tricomas claros u oscuros, espinas numerosas, diferenciales

en centrales y radiales, rígidas. Las flores tienen un tamaño promedio de 3.5 – 15.0 cm, solitarias, subterminales o laterales, nocturnas o diurnas; pericarpelo y tubo receptacular con podarios numerosos, perianto con tépalos numerosos, ascendentes de color verde, rosados, blancos o rojos, cámara nectaria amplia abierta o limitada; estambres numerosos, largos, insertados en la mitad o tercio superior del tubo; estilo con lóbulos papilosos. Frutos globosos a ovoides, de color verde, amarillos a púrpura, con pulpa generalmente jugosa de color anaranjada, roja, amarilla, blanca o púrpura. Semillas ovaladas a ampliamente ovaladas de testa negra, generalmente opaca, en ocasiones brillante, estriada o lisas (Arias et al, 1997).

### **2.1.3 *Stenocereus pruinosus***

*Stenocereus pruinosus* es considerada como una especie independiente por presentar 5-8 costillas, en comparación con *Stenocereus griseus* que cuenta con 8-10 costillas. Se caracteriza por ser de hábito arborescente de hasta 5.0 m de alto. Tallos con ramificaciones difusas de 8.0-10.0 cm de ancho, ensanchados hacia la base, semierectos o arqueados, ápice marcadamente pruinoso, blanquecino, con 5-6 costillas obtusas en sección transversal; aréolas de 0.8-1.0 cm de diámetro, circulares, distantes entre sí; con 5-7 espinas radiales de 1-2 cm de largo y con 1-4 espinas centrales de 1.5-4.0 cm de largo. Flores de 8.0-9.5 cm largo; pericarpelo de 1.7-1.8 cm de largo, 1.4-1.5 cm ancho, brácteas 1.0 mm largo, 2.0- 3.0 mm ancho, orbiculares, aréolas con tricomas claros, tubo receptacular de 3.5-4.5 cm largo, aréolas inferiores con tricomas claros, tépalos externos de 2.0-2.2 cm largo y 1.1 cm ancho; tépalos internos de 2.0-2.5 cm largo, 1.0-1.2 mm ancho; estambres de 1.0-2.0 cm de largo; estilo de 3.0-3.7 cm largo, blanco-amarillo. Frutos de 4.0-8.0 cm de largo, ovoides, de color púrpura, rojo, anaranjado-verdosos con aréolas, con espinas de 0.5- 1.0 cm de largo, deciduas, pulpa jugosa, roja a púrpura, anaranjadas, etc; semillas de 1.9-2.8 mm largo, 1.3-2.1 mm ancho con testa opaca, estriadas (Arias et al, 2012).

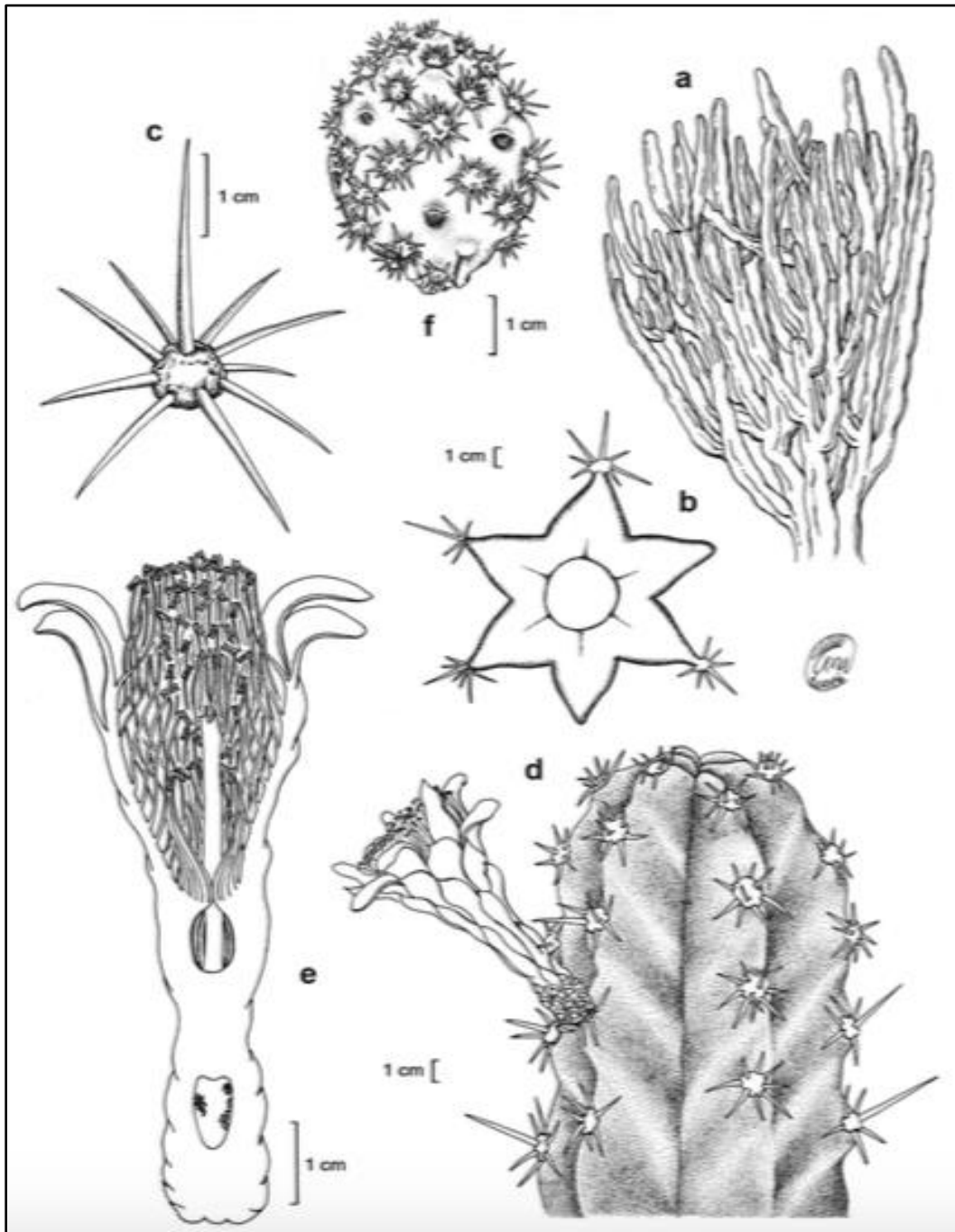


Figura . 1. Descripción morfológica de *Stenocereus pruinosus*: a) Hábito. b) Rama en corte transversal. c) Aréola y espinas. d) Rama con flor. e) Flor en corte longitudinal. f) Fruto (Arias et al, 2012).

En México existen básicamente dos grandes regiones productoras de pitaya de mayo con poblaciones silvestres, cultivadas a nivel de traspatio y comercial. La primera se identifica como la subcuenca de Sayula e incluye el estado de Jalisco,

donde se estima una superficie establecida de mil hectáreas (Pimienta, 1999). La segunda región productora de pitaya se ubica en la Mixteca Baja, conformada principalmente por los estados de Oaxaca y Puebla, donde se concentran 690 hectáreas cultivada con la especie *Stenocereus pruinosus* o intercalado con algunas plantas de *Stenocereus stellatus*. Ambas especies se explotan principalmente a nivel de traspatio, es decir, en los solares de las casas, con rendimientos estimados de 1.5 a 2.0 ton/ha y que representan de 1 035 a 1 380 toneladas de fruta (Bonilla et al., 2001).

#### **2.1.4 *Stenocereus stellatus***

En los estados de Oaxaca y Puebla, la especie *S. stellatus*, es conocida popularmente como pitaya de agua, tunillo o xoconostle dulce. Se caracteriza por ser de hábito arbustivo de 2.0-4.0 m de alto con tallos de ramificación difusa de 8.0-15.0 cm de ancho; con 16-20 costillas obtusos en sección transversal; aréolas de 0.7-1.0 cm de largo y 5.0-7.0 mm de ancho, circulares a ovadas, distantes entre sí; 8-13 espinas radiales de 0.5-1.0 cm de largo; 1-4 espinas centrales de 1.0-1.8 cm de largo de color blanco amarillento, flores de 4.0-5.0 cm de largo; con pericarpelo de 7.0 mm de largo y 13.0 mm de ancho, brácteas de 1.0-2.0 mm de largo, cuspidadas, aréolas con tricomas; tubo receptacular de 2.0-2.5 cm de largo, brácteas 2.0-4.0 mm de largo, orbiculares, ligeramente carnosas, margen superior ligeramente fimbriado, tépalos de 0.9-1.0 cm de largo y 6.0-7.0 mm de ancho, tépalos internos de 8.0-9.0 mm de largo y 5.0-6.0 mm de ancho; estambres de 5.0-7.0 mm de largo, filamentos blancos; estilo de 2.6 cm de largo, blanco. Frutos de 4.0-5.0 cm de largo y 5.0 cm de ancho, subglobosos, rojos, podarios conspicuos, con brácteas de 2.0 mm de largo, y aréolas con espinas de 3.0-7.0 mm de largo, setosas, pulpa de color rojo oscuro; semillas de 1.8-2.3 mm de largo y 1.4-1.8 mm de ancho, con testa opaca, estriada (Arias et al, 2012).



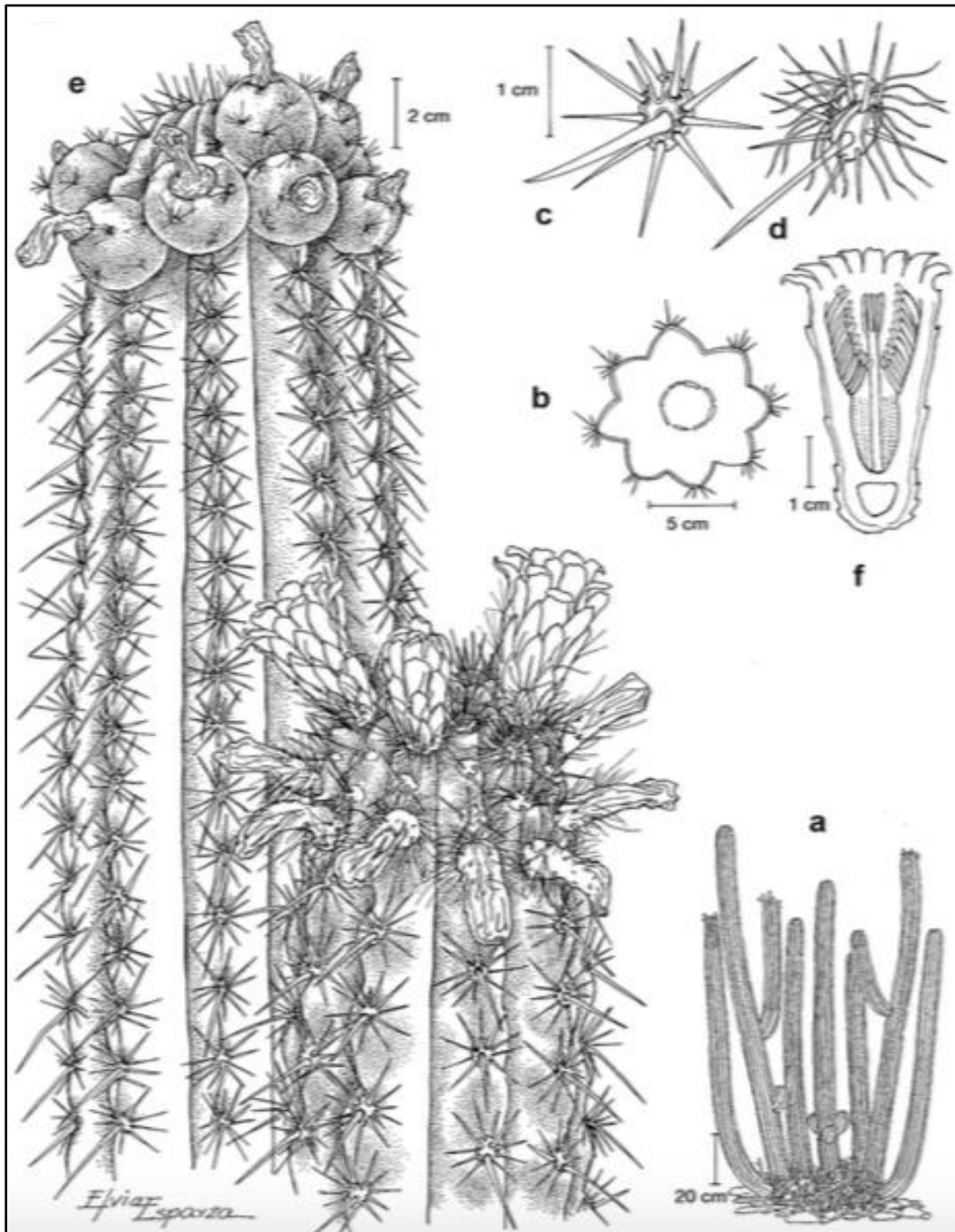


Figura. 2. Descripción morfológica de *Stenocereus stellatus*: a) Hábito. b). Rama en corte transversal. c) Aréola y espinas de rama no reproductiva. d) Aréola y espinas de rama reproductiva. e) Ramas con flores y frutos. f). Flor en corte longitudinal (Arias et al, 2012).

## 2.2 Importancia

### 2.2.1 *Pitaya de mayo* y *Xoconostle dulce* como recursos económicos, social y cultural

La conservación y aprovechamiento de *Stenocereus pruinosus* y *Stenocereus stellatus* contribuyen a mejorar la situación económica de la región debido a que han sido aprovechadas desde ya miles de años atrás, involucrando una gran riqueza biológica y cultural. Desde épocas prehispánicas hasta nuestros días, estas especies de cactáceas presentan usos múltiples e indicios de domesticación. La denominación mixteca para la pitaya de dicha región varía ligeramente entre las localidades; consta del término genérico *tnu dichí* o *too dichí*, que corresponde al cacto o palo capaz de producir leña (*tutnu*) y que produce *dichis* o pitayas. Los frutos de *Stenocereus pruinosus* y *Stenocereus stellatus* se cultivan y se comercializan principalmente en la región de la Mixteca de Oaxaca y Valle de Tehuacán. Es un fruto que se cosecha en mayo, hay muchos productores pero sólo se cultiva en huertos familiares. La micropropagación de estas especies permitirá extender el área de cultivo y su preservación. La recolección de frutos en poblaciones silvestres ocurre de manera selectiva; la gente prefiere los frutos que tienen pulpa jugosa, mayor tamaño y mejor sabor (Yáñez et al, 2009).

## 2.3 Manejo poscosecha

### 2.3.1 Proceso poscosecha

Rosero (2011) define el proceso poscosecha como el período transcurrido en que un producto es recolectado cuando llega a su madurez fisiológica, hasta cuando es consumido en estado fresco, preparado o transformado industrialmente. Tiene como objetivo mejorar el aspecto del producto y mantener su frescura y calidad haciéndolos más atractivos al consumidor.

Los procesos más comunes en el proceso poscosecha son: recepción, selección, desespinado, lavado-desinfección, secado, pesado, empaquetado y almacenamiento (Yáñez et al., 2009).

- Recepción: obtención de la materia prima una vez colectada en la huerta.
- Selección: operación por medio la cual la materia prima va a ser elegida en función de ser libre de daños y defectos.
- Desespinado: acción de eliminar las espinas de los frutos. La sugerencia de las mujeres cosechadoras de pitaya de mayo y xoconostle dulce, es que se deje reposar el fruto 24 horas después de la cosecha en la sombra o en un lugar fresco con la finalidad de que las espinas se aflojen y puedan retirarse con mayor facilidad.
- Lavado-desinfección: tiene como objetivo primordial reducir la carga microbiana y eliminar materia orgánica de la epidermis (cáscara) del fruto.
- Secado: el secado de los frutos se lleva a cabo por aire forzado.
- Pesado: se pesa la materia prima, para conocer el rendimiento de la fruta y se le puede así asignar un precio.
- Envasado: se lleva a cabo en empaques de plástico clamshell con perforaciones previamente lavados-desinfectados.
- Almacenamiento: se almacenan a  $10 \pm 1$  °C con una humedad relativa de aproximadamente el 80% .

Los frutos de pitayas de mayo y xoconostle dulce son muy apreciados en la Mixteca Baja Oaxaqueña por su delicioso sabor, refrescante, y por sus semillas suaves, agradables al paladar. Los colores de la pulpa son muy vistosos y atractivos a la vista. Todas estas características hablan de la posibilidad de explotación racional con los recursos naturales de esta zona árida actualmente marginada para la obtención de productos de valor agregado sin la necesidad de perturbar el ecosistema natural (Yáñez et al., 2009).

El problema con estas frutas es su alta perecibilidad, ya que normalmente se conserva almacenada a temperatura ambiental solo por 3-5 días, lo que ocasiona que los productores vendan los frutos a bajo precio lo más pronto posible, por lo cual la venta queda restringida a zonas de producción, mercados locales y regiones como Tehuacán, Puebla y Huajuapán de León, Oaxaca (Yáñez et al, 2009).

### 2.3.2 Lavado-desinfección

El lavado-desinfección es un paso en el proceso poscosecha que tiene como objetivo principal disminuir la carga microbiana presente en los frutos así como la eliminación de la materia orgánica (tierra, polvo, suelo, etc.). El lavado-desinfección se lleva a cabo con diluciones de hipoclorito de sodio (NaClO), el cual es el principal desinfectante usado para sanitizar el agua de lavado en las empacadoras debido a su fácil adquisición y bajo costo (Barkai-Golan,2001).

### 2.3.3 Hipoclorito de sodio (NaClO)

El hipoclorito de sodio (NaClO) se define como un líquido claro, pálido, verde-amarillento, extremadamente alcalino (pH= 11.5 a 11.7), hipertónico (2800mOsmol/Kg) y es un potente agente antimicrobiano (Fruttero, 2003).

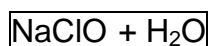
Fruttero, (2003) menciona que se ha demostrado que el hipoclorito de sodio es efectivo contra un amplio espectro de bacterias, es decir, que tiene efecto bactericida sobre microorganismo anaerobios, aerobios y anaerobios facultativos y microaerófilos, hongos y esporas como: *Cándida albicans* y virus los cuales podrían incluir el VIH, VIH-1, VIH-2 y el virus de la hepatitis A y B.

Químicamente, el hipoclorito de sodio es una sal formada de la unión de dos compuestos químicos, el ácido hipocloroso y el hidróxido de sodio, que presenta como características principales sus propiedades de oxidar e hidrolizar las proteínas celulares. La fórmula química de este compuesto es la siguiente: (Torres, 2014).

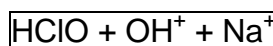


(Ecuación 1)

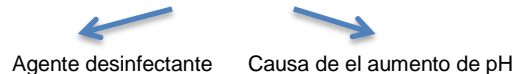
La reacción química del hipoclorito de sodio en el agua es: (Anónimo).



se transforma en



(Ecuación 2)

  
Agente desinfectante      Causa de el aumento de pH

La desinfección con cloro es un proceso que requiere frecuentes controles y conocimientos para su efectividad. Estos factores incluyen el pH de la solución, concentración de cloro, temperatura del agua, cantidad de materia orgánica presente, tiempo de exposición y estado de crecimiento de patógenos (*CESVBC*).

- Concentración de cloro: el valor de la concentración de cloro cambia por la intervención de otros factores como materia orgánica, temperatura y tiempo, por lo que es importante utilizar las concentraciones de cloro recomendadas para cada tipo de fruta a fin de no dañar la calidad de la misma (*CESVBC*).
- Materia Orgánica: el aumento de la materia orgánica (m.o.) tiene como consecuencia una mayor demanda de cloro y la formación de subproductos de cloro tóxicos. Una manera de prevenirlo es con el prelavado y el cambio del agua (*CESVBC*).
- Tiempo: El tiempo de exposición del producto al desinfectante resultará como la eliminación de la mayor cantidad de organismos que se encuentren en la superficie del producto, ya que a mayor tiempo, mayor eliminación de organismos, teniendo en cuenta que, a mayor concentración del desinfectante los tiempos de exposición deberán reducirse y viceversa (*CESVBC*).
- pH: Este parámetro debe ser continuamente medido cuando usamos desinfectantes que afectan al pH, como el ión hipoclorito, ácido hipocloroso y el dióxido de cloro. A un pH de 5.0 el ácido hipocloroso ( $\text{HClO}$ ) se presenta en el agua en casi un 100%, sin embargo, a este pH se volatiliza hacia la atmósfera, es inestable y es muy tóxico. En valores mayores a 8.0 se convierte casi totalmente en ión hipoclorito ( $\text{ClO}^-$ ) y el agente eliminador de bacterias comienza a desaparecer e inhibirse. Llegando a un pH de 7.5 los dos agentes se encuentran en equilibrio ( $\text{HClO}$ ,  $\text{ClO}^-$ ), así como también, es un equilibrio de eficacia en la desinfección y de seguridad (*CESVBC*).

Pelayo et al, 2010, demuestra que en el proceso poscosecha de frutos de *Opuntia spp.*, la concentración más adecuada para el lavado-desinfección es de 100-150 ppm de cloro libre, con un pH de 6.5-7.5 la cual debe permanecer en contacto con el fruto por 1-2 min para ejercer su acción desinfectante. La exposición prolongada al cloro provoca el blanqueado de la superficie de los productos y provoca un olor residual.

La solución clorada debe cambiarse las veces que sean necesarias para eliminar residuos vegetales, sedimentos y acumulación de sodio y calcio. La cantidad de cloro libre activo se monitorea con unidades automatizadas o kits comerciales (Pelayo et al 2010).

#### 2.3.4 Kit de cloro (HI-3875 ®)

El kit de cloro (HI-3875) es un producto de *HANNA Instrument* el cual nos permite llevar a cabo análisis químicos para la detección de cloro libre o cloro total en agua de uso industrial, agrícola y de consumo humano. La medición obtenida está dada en mg/l (partes por millón) de cloro libre presente en la disolución de hipoclorito de sodio con agua (Manual de instrucciones HI-3875).

El kit de cloro (HI-3875) cuenta con: 100 paquetes de reactivos (DPD); Disco verificador con rango de medición de 0.0-3.5 mg/l (ppm); 2 viales de cristal con tapas; Caja (235x175x115 mm)(Fig. 3).

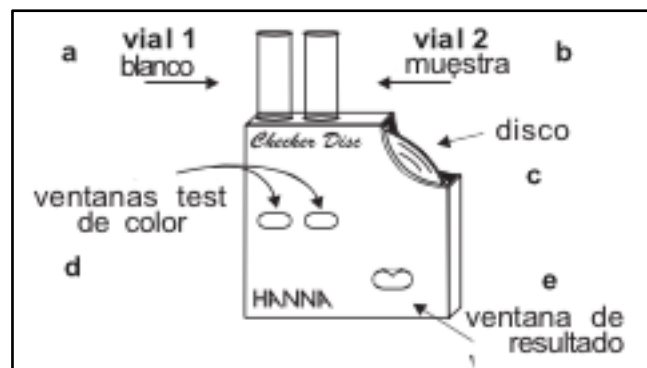


Figura 3. Componentes del kit de cloro. a) Vial 1 (blanco); b) Vial 2 (muestra); c) Disco verificador; d) Ventanas test de color; y e) Ventana de resultado (Manual de instrucciones HI-3875).

El método para llevar a cabo la medición de cloro libre se basó en los pasos siguientes:

1. Se llenó el vial con 5 ml de agua desionizada.
2. Se insertó uno de los viales en el orificio izquierdo del disco verificador (éste es el blanco).
3. Se añadió al segundo vial agua desionizada hasta la marca de 10 ml. Colocando la tapa y agitando para mezclar.
4. Se Retiró la tapa y fue añadido 1 paquete de reactivo (DPD). Colocando la tapa y mezclando (muestra tratada).
5. Se quitó la tapa e inserto la muestra tratada en el orificio derecho del disco verificador.
6. Se sujeto el disco verificador de forma que una fuente de luz iluminara las muestras desde la parte posterior de las ventanas.
7. Se mantuvo el disco verificador a una distancia de 30-40cm de los ojos para comparar el color, haciendo girar el disco mientras se miraba a las ventanas de test de color y paré cuando el color coincide. Leí el valor en la ventana de resultado directamente en mg/l (o ppm) de NaClO.

El NaClO es el desinfectante de agua comúnmente usado en aplicaciones que van desde el tratamiento de agua potable y agua residual, esterilización de piscinas y balnearios, hasta el procesado y esterilización de los alimentos. El NaClO presente en el agua se mezcló con las bacterias, dejando sólo una parte de la cantidad original (cloro libre) para continuar con su acción desinfectante. Si el nivel de cloro libre no era el adecuado con respecto al pH, el agua tendría un olor y sabor desagradables y el potencial desinfectante del cloro se vería disminuido. El cloro libre reacciona con los iones de amonio y compuestos orgánicos hasta formar compuestos de cloro que dan como resultado una disminución en la capacidad de desinfección en comparación con el cloro libre. Los compuestos de cloro junto con las cloraminas forman el cloro combinado. El cloro combinado junto con el cloro libre dan como resultado el cloro total (Manual de instrucciones HI-3875).

Según la norma Mexicana en el sector ambiental (NMX-AA-108-SCFI-2001), en la determinación de cloro libre y cloro total, el principio se basa en la reacción instantánea entre el cloro libre con el N,N-dietil-parafenil-diamina (DPD). En ausencia de iones yoduro reacciona en su forma reducida para producir el DPD oxidado de color rojo, el cual se vuelve a reducir valorando con sulfato ferroso amoniacal hasta que el color rojo desaparece. La adición posterior de yoduro de potasio actúa catalíticamente produciendo la liberación de cloro de las cloraminas el cual vuelve a ser valorado en el sistema DPD/Fe(II). La adición se realiza de manera gradual para poder determinar las fracciones correspondientes a mono, dicloraminas y tricloruro de nitrógeno.

#### **2.4 Análisis de parámetros químicos.**

Los parámetros se pueden clasificar en cuatro grupos: físicos, químicos, biológicos y radiológicos. Los parámetros químicos son: pH, alcalinidad, coloides, acidez, sólidos solubles totales, cloruros, sulfatos nitratos, fosfatos, fluoruros, sílice, bicarbonatos y carbonatos, sodio, potasio, calcio, magnesio, hierro manganeso, etc.

##### **2.4.1 pH**

El pH es el valor negativo del logaritmo de la concentración de iones hidrógeno ( $H^+$ ) en una solución (Madigan et. al, 2004). Es una medida de la naturaleza ácida o alcalina de la solución acuosa que puede afectar a los usos específicos del agua. La mayoría de las aguas naturales tiene un pH entre 6-8. Su medición se realiza fácilmente por medio de un instrumento llamado potenciómetro, aunque también se puede llevar a cabo por medio de tiras de papel especial que, por coloración, indican el pH (Rigola M., 1990).

Según la norma NMX-F-371-S-1987 la determinación de pH en alimentos se basa en la medición electrométrica de la actividad de los iones hidrógeno presentes en una muestra del producto mediante un aparato medidor de pH (potenciómetro). Se puede llevar a cabo en productos alimenticios líquidos una mezcla de líquido y



sólido. Este parámetro debe ser continuamente medido cuando usamos desinfectantes que afectan al pH, como el ión hipoclorito, ácido hipocloroso y el dióxido de cloro.

#### **2.4.2 Sólidos Solubles Totales (S.S.T.)**

El contenido de sólidos solubles totales se determina con el índice de refracción. La refractometría se basa en los cambios del índice de refracción que sufre la sustancia cuando otra es disuelta en ella. Considerando el jugo de frutas como una sustancia constituida por agua, su índice de refracción será mayor cuando mayor sea la cantidad de azúcar presente en ella. Existen diversos instrumentos que miden esta variación pero el más útil para este fin es el refractómetro. Este instrumento consiste en un tubo con un prisma en su interior que dirige el rayo de luz incidente hacia una escala observable en un ocular. Al colocar una muestra líquida sobre el prisma, ésta ocasiona una desviación proporcional a la cantidad de sólidos solubles disueltos (Muñoz A, Vega J, 2014).

Los grados Brix miden la cantidad de sólidos solubles totales presentes en un jugo o pulpa expresados en porcentaje de sacarosa. Los sólidos solubles están compuestos principalmente por los azúcares, ácidos orgánicos y minerales, compuestos solubles en agua presentes en los jugos de la células de una fruta. Un  $^{\circ}$  Brix = 1 gramo de azúcar por 100 gramos de disolución (Muñoz A, Vega J, 2014). El límite mínimo de la norma es de  $10^{\circ}$  Brix (Aguilar J, Posada R, 2003).

#### **2.4.3 Acidez total titulable**

La acidez total titulable es la cantidad total de ácido en una solución determinada por titulación usando una solución estándar de hidróxido de sodio (NaOH) como titulante. Esta reacción puede detectarse mediante indicadores de cambio de color o electrométricamente por pH (Norma NMX-F-102-5-1978).. La mayoría de las frutas son particularmente ricas en ácidos orgánicos que están usualmente disueltos en la vacuola de la célula, ya sea en forma libre o combinada como sales, ésteres, glucósidos, etc. La acidez total titulable representa a los ácidos

orgánicos presentes que se encuentran libres y se mide neutralizando los jugos o extractos de frutas con una base fuerte, el pH aumenta durante la neutralización y la acidez titulable se calcula a partir de la cantidad de base necesaria para alcanzar el pH del punto final de la prueba; en la práctica se toma como punto final  $\text{pH} = 8.5$ , en donde quedan incluidos los ácidos orgánicos, sólo una parte del ácido fosfórico y los fenoles. Los ácidos orgánicos presentes en los alimentos influyen en el sabor, color y la estabilidad de los mismos. (Cresswell-Hulme A., 1971).

## 2.5 Microorganismos

### 2.5.1 Diversidad microbiana

La diversidad microbiana es el resultado de la evolución de la misma. Debido a que la evolución ha moldeado la vida en la tierra, la diversidad tanto estructural como funcional que podemos apreciar en las células microbianas es el efecto de miles de años de experimentación evolutiva. La diversidad microbiana se puede expresar en variaciones de tamaño celular, morfología, estrategias metabólicas, movilidad, mecanismos de división celular, en la adaptación a condiciones ambientales y algunos otros aspectos. Se puede dividir en dos grandes ramas: procariotas y eucariotas (Madigan et. al, 2004).

Los microorganismos procariotas son unicelulares y no cuentan con un núcleo definido, su nutrición se lleva a cabo por fotosíntesis o quimiosíntesis (autótrofas) o por medio de simbiosis, parásitas o saprófitas (heterótrofas) están formados por dos dominios evolutivos el Archaea y Bacteria. El dominio bacteria contiene una enorme variedad de procariotas patógenos y no patógenos, los cuales presentan una variedad muy amplia de morfologías y fisiologías. Los microorganismos pertenecientes al dominio Archaea se caracterizan por ser extremófilos capaces de crecer a temperaturas ( $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ - $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) y  $\text{pH}$  (2-12) extremos (Madigan, et al, 2004).

Los microorganismos eucariotas tienen un núcleo delimitado por una membrana nuclear que, en general, presenta orgánulos. En términos filogenéticos el dominio

Eukarya forma una larga rama que culmina con los eucariotas más recientes, plantas y animales. Entre los microorganismos presentes en este dominio encontramos a las algas, contienen orgánulos ricos en clorofila, llamados cloroplastos, los encontramos en suelos, ambientes acuáticos y son los principales productores primarios en la naturaleza; los hongos, carecen de pigmentos fotosintéticos y son unicelulares (levaduras) y filamentosos (mohos), siendo los principales biodegradadores en la naturaleza y recicladores de la materia orgánica en los suelos y otros ecosistemas (Madigan et al, 2004).

### **2.5.2 Nutrición microbiana**

Consiste en suministrar a las células los ingredientes químicos que necesitan para hacer los monómeros (nutrientes). Diferentes organismos necesitan diferentes tipos de nutrientes y a menudo los requerimientos son específicos. Además, no todos los nutrientes se requieren en las mismas cantidades algunos llamados macronutrientes se precisan en gran cantidad, mientras que otros micronutrientes se requieren en menor cantidad (Madigan et. al, 2004).

Muchos microorganismos necesitan algún tipo de macronutrientes como carbono, nitrógeno, potasio, magnesio, calcio, sodio e hierro para el funcionamiento celular debido a que la necesidad de estos nutrientes en la células de los microorganismos es abundante en su concentración. En la preparación de medios de cultivo son un elemento primordial para cultivar microorganismos en laboratorio. Los micronutrientes son requeridos en muy pequeñas cantidades pero son tan importantes como los macronutrientes. Los micronutrientes son metales, muchos de los cuales tienen una función estructural o de coenzimas en varias enzimas. Debido a que la necesidad de estos elementos es muy pequeña en cuanto a su concentración casi no es necesario agregarlos a los medios de cultivo para la siembra de microorganismos en laboratorio (Madigan et. al, 2004).

Los factores de crecimiento son compuestos orgánicos que, como los micronutrientes, se necesitan en muy pequeñas cantidades y sólo por algunas células. Los factores de crecimiento son vitaminas, aminoácidos, purinas y

pirimidinas. Aunque la mayoría de los microorganismos son capaces de sintetizar estos compuestos en algunos casos es necesario suministrar los compuestos a los medios de cultivo (Madigan et. al, 2004).

### **2.5.3 Medios de cultivo**

Uno de los sistemas más importantes en la identificación de microorganismos es observar su crecimiento en sustancias alimenticias artificiales preparadas en laboratorio. El material alimenticio en el que crecen los microorganismos es el medio de cultivo y el crecimiento de los microorganismos es el cultivo. Para que los microorganismos crezcan adecuadamente en un medio de cultivo artificial éste debe reunir una serie de condiciones (temperatura, grados de humedad y presión de oxígeno adecuadas, grado correcto de acidez o alcalinidad). Un medio de cultivo debe de contener los nutrientes y factores de crecimiento necesarios y debe estar exento de todo microorganismo contaminante (Casado et. al, 2012).

La base de muchos medios de cultivo es la infusión de extractos de carne y peptona a la que se agregan otros ingredientes. El agar es un elemento solidificante muy empleado para la preparación de medios de cultivo. En diferentes medios de cultivo se encuentran materiales de enriquecimiento como hidratos de carbono, suero, sangre completa, bilis, etc. Los hidratos de carbono se adicionan por dos motivos fundamentales: para incrementar el valor nutritivo del medio y para detectar reacciones de fermentación de los microorganismos que ayuden a identificarlos. El desarrollo adecuado de los microorganismos en un medio de cultivo se ve afectado por una serie de factores de gran importancia como: la disponibilidad de nutrientes adecuados, consistencia adecuada del medio, presencia-ausencia de oxígeno y otros gases, condiciones adecuadas de humedad, luz ambiental, pH, temperatura y esterilidad del medio, las cuales, en algunos casos, son ajenos por completo al propio medio (Casado et. al, 2012).

El cultivo de microorganismos es una actividad que requiere del conocimiento de técnicas de siembra o inoculación y de aislamiento para transferirlos de un medio a otro, o mantener su crecimiento y actividad. Es indispensable para realizar

diversos estudios morfológicos, de identificación, bioquímicos, de patogenicidad y ecológicos, entre otros. En la naturaleza, los microorganismos generalmente se encuentran en poblaciones, formando parte de comunidades de gran complejidad, por lo que uno de los objetivos de estudio más importantes en microbiología es aislarlos. El aislamiento de bacterias a partir de muestras naturales se realiza, en la mayoría de los casos, mediante la técnica de estría cruzada para producir colonias aisladas en cultivos sólidos y así, obtener un cultivo puro o axénico, también conocido como cepa, que contiene un solo tipo de microorganismo con la misma composición genética (Aquiáhuatl et al, 2012).

#### **2.5.4 Conteo de microorganismos**

El conteo de microorganismos es un procedimiento que nos permite conocer el número de microorganismos existentes en una muestra. Existen diferentes métodos de conteo de microorganismos vivos (viables) y vivos-muertos (conteo total). Estos conteos de microorganismos se pueden clasificar en directos e indirectos. Un conteo directo es aquel en el que se cuentan las células por observación directa al microscopio, y el conteo indirecto es aquel en el que se determina el número por crecimiento o alguna propiedad de los microorganismos (Anónimo)

El conteo por el *método de Breed* nos da un resultado de conteo total (vivos-muertos). Es utilizado comúnmente en muestras líquidas como la leche. Para realizar este método se mide una área de 1 centímetro cuadrado en el portaobjetos, agregando una gota de aproximadamente 0.1 ml de la muestra a analizar, fijando la muestra y realizando tinción Gram. Una vez teniendo lista la muestra se observa al microscopio óptico con un lente óptico a 100x, se cuentan los microorganismos presentes en por lo menos 5 campos calculando el promedio de microorganismos, teniendo la siguiente formula:

$$\# \text{ DE MICROORGANISMOS/ML} = (\text{Promedio de microorganismo})(\text{Campo de microscopio})(\text{cantidad de muestra})$$

En muchos de los casos queremos contar sólo microorganismos vivos. Una célula viva se define como aquella capaz de dividirse, y un conteo de la viabilidad celular generalmente se efectúa determinando la cantidad de células de una población que son capaces de dividirse y formar colonias.

El método de *conteo en placa* es el más usado y determina el número de microorganismos en una cierta cantidad de muestra en relación a la colonias que forman. Para llevar a cabo este método se toma una muestra de 0.1 ml se extiende asépticamente sobre el medio de cultivo con el cual se trabajará, incubando hasta que las colonias sean visibles. Se entiende que cada colonia se origina de una sola célula por lo tanto, contando el número de colonias se puede calcular la cantidad de células viables de la muestra (Anónimo)

#### **2.5.5 Tinción Gram**

La tinción es el proceso por el cual las moléculas de un colorante se adsorben a una superficie. El uso de colorantes permite cambiar el color de las células de los microorganismos y poder realizar las observaciones en un microscopio óptico. Dado que las bacterias son casi incoloras, no presentan contraste con el medio en el cual se encuentran suspendidas y no se puede observar claramente sin algún tratamiento previo (Santambrosio et. al, 2009). De acuerdo a la reacción que ocurre, existen diferentes tipos de tinción:

- Tinción simple: El colorante utilizado sólo denota la morfología celular.
- Tinción diferencial: El colorante resalta diferencias entre células bacterianas o partes de una célula.

Los colorantes más utilizados en las tinciones son: azul de lactofenol, cristal-violeta y safranina, son catiónicos y se combinan fuertemente con componentes celulares cargados negativamente, como los ácidos nucleicos y los polisacáridos ácidos (Santambrosio et. al, 2009).

La tinción Gram se denomina de esta manera por el bacteriólogo danés Cristian Gram, quien la desarrollo en 1844 (Santambrosio et. al, 2009). Las bacterias se dividen en dos grandes grupos; las Gram positivas y las Gram negativas. La distinción inicial entre estos dos tipos de bacterias se llevo a cabo mediante una tinción diferencial denominada tinción de Gram (Madigan et. al, 2004). Las bacterias Gram positivas y Gram negativas se tiñen de forma distinta debido a las diferencias constitutivas en las estructuras de sus partes celulares. La pared celular de la bacteria sirve para dar su tamaño y forma al organismo así como para prevenir la lisis osmótica. El material de la pared celular que da rigidez es el peptidoglicano. La pared de las células Gram positivas es gruesa y consistente en varias capas interconectadas de peptidoglicano así como algo de ácido teicoico. La pared de la célula Gram negativa, por otro lado, contiene una capa mucho más delgada, únicamente de peptidoglicano y está rodeada por una membrana exterior compuesta de fosfolípidos, lipopolisacáridos y lipoproteínas, teniendo solo el 10%-20% de peptidoglicano en su pared celular (Santambrosio et. al, 2009).

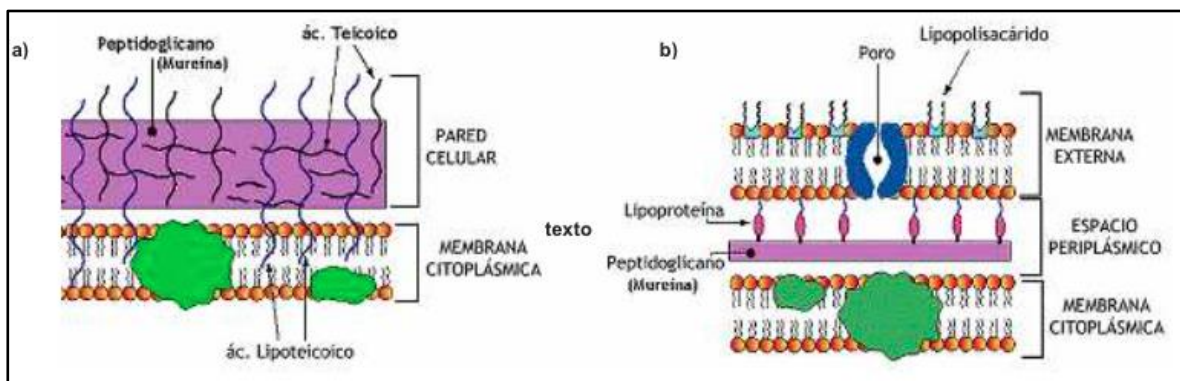


Figura 4. Estructuras en la pared celular y comportamiento de la pared celular tras el proceso de tinción Gram: a) Gram-positivas; b) Gram-negativas (Santambrosio et. al, 2009).

La diferencia esencial entre los tipos de células está dada por su resistencia a la decoloración; esta resistencia se debe al hecho de que en el caso de bacterias Gram negativas, la mezcla de alcohol/acetona es un solvente lipídico y disuelve la membrana exterior de la pared de la célula. La delgada capa de peptidoglicano es incapaz de retener el complejo cristal-violeta, yodo lugol y la célula se decolora. Las células Gram positivas, a causa de sus paredes celulares, tienen más peptidoglicano y menos lípido, no son permeables al disolvente, provocando que

el complejo cristal-violeta y yodo-lugol quede atrapado dentro de la pared celular. Después de la decoloración las células Gram positivas son todavía azules, pero las Gram negativas son incoloras. Para poner de manifiesto las células Gram negativas se utiliza una coloración de contraste. Habitualmente es un colorante de color rojo, como la safranina o la fucsina básica. Después de la coloración de contraste las células Gram negativas son rojas, mientras que las Gram positivas permanecen azules (Santambrosio et. al, 2009).

## **2.6 Descripción microbiana**

Existe una serie de características que comparten todos los microorganismos, una de ellas es el pequeño tamaño de la célula microbiana y su correspondiente alta relación de superficie/volumen. Los ambientes capaces de albergar vida microbiana son muy variados. Se han encontrado especies que viven a temperaturas comprendidas entre el punto de congelación (psicrófilos) del agua y el punto de ebullición (termófilos), en agua salada y dulce, en presencia de oxígeno (aerobios) y ausencia de oxígeno (anaerobios) (Desrosier, 1987).

### **2.6.1 Macroscópica**

A partir de los microorganismos cultivados en agar nutritivo, en condiciones aerobias, se evaluaron características macroscópicas, registrando los siguientes puntos (Hernández, 2009):

- Tamaño de la colonia
- Color
- Forma
- Elevación
- Superficie
- Aspecto
- Borde
- Consistencia



### 2.6.2 Microscópica

La caracterización microscópica consiste en diferenciar la morfología de las bacterias y su capacidad de ser teñidas con ciertos compuestos que evidencian diferencias estructurales en dichos organismos con ayuda de la tinción Gram o tinción con azul de lactofenol (Hernández, 2009).

Los principales tipos de morfologías bacterianas son:

- Cocos: bacterias con forma esférica u ovoide.
- Bacilos: bacterias con forma cilíndrica.
- Espirilos: bacterias en forma cilíndrica curvada en espiral.
- Espiroquetas: células alargadas y enrolladas helicoidalmente con la forma de un sacacorchos.
- Bacterias con apéndices: presentan protuberancias celulares en forma de largos tubos o tallos.
- Bacterias filamentosas: forman células largas y delgadas o cadenas de células.

Hongos: carecen de pigmentos fotosintéticos y son unicelulares (levaduras) y filamentosos (mohos), siendo los principales biodegradadores en la naturaleza y recicladores de la materia orgánica en los suelos y otros ecosistemas (Madigan et al, 2004).

## 2.7 Importancia económica

### 2.7.1 Comercialización

En la región Mixteca Oaxaqueña existen dos vías principales de comercialización mediante las cuales los productores colocan a la pitaya: 1) en un centro de acopio formado por el consejo estatal de la pitaya y 2) en el canal de comercialización de los intermediarios (González, 2006).

El centro de acopio es utilizado solamente por los socios de la unión, en donde el mercado de venta es generalmente el mercado de Tehuacán y en menor escala la

Central de Abastos en la ciudad de México y en los mercados regionales como son en la ciudades de Huajuapán de León, Tehuacán, Izúcar de Matamoros y Acatlán de Osorio (González, 2006).

### **3.- JUSTIFICACIÓN**

La implementación de un proceso biotecnológico fácil y sencillo de realizarse para los productores de pitaya de mayo y xoconostle dulce, en el proceso de lavado-desinfección facilitando la comercialización de los frutos en estudio, con recursos económicos y de fácil adquisición, debe realizarse debido a que existen personas interesadas de importar estos frutos a mercados internacionales como los Estados Unidos.

En este caso, los lavados de los frutos de pitaya de mayo y xoconostle dulce se realizarán para lograr destruir la mayoría de los microorganismos causantes de enfermedades, sin poner en peligro la salud de las personas y para poder extender así su vida en anaquel.

Además de que las cactáceas *S. pruinosus* y *S. stellatus* son especies endémicas de la Mixteca Poblana y Oaxaqueña, su importancia económica se debe al consumo del fruto, siendo una opción agrícola ya que se adapta a condiciones marginales de suelo y agua, siendo así una opción adecuada para la reforestación. Otro beneficio es que su presencia evita el intemperismo y erosión de los suelos al mismo tiempo que se explotan racionalmente estos recursos naturales renovables.

### **4.- HIPOTESÍS**

La cantidad de solución de hipoclorito de sodio más adecuada en el proceso de lavado-desinfección de la pitaya de mayo y xoconostle dulce es de 2.5 ml de NaClO/ 1.0 L de H<sub>2</sub>O, logrando una disminución microbiana del 90%.

Los tratamientos de agua clorada en el lavado-desinfección de xoconostle dulce y pitaya de mayo, sólo resisten tres inmersiones de lavado-desinfección en lotes diferentes de fruta, antes de perder sus propiedades desinfectantes.

Los microorganismos presentes en la epidermis (cáscara) de la pitaya de mayo y xoconostle dulce son de los géneros *Leuconostoc*, *Clostridium*, *Bacillus* y *Penicillium spp.*

Los lavados-desinfección con agua clorada aplicados a los frutos de xoconostle dulce y pitaya de mayo no afectaran los parámetros de calidad de los mismos.

## 5.- OBJETIVOS

### 5.1 Objetivo general

Determinar la concentración de hipoclorito de sodio más eficiente para el proceso de lavado-desinfección de la pitaya de mayo (*Stenocereus pruinosus*) y xoconostle dulce (*Stenocereus stellatus*), sin que se vea afectada la calidad de los frutos.

### 5.2 Objetivos particulares

Determinar la concentración de NaClO activo presente en cada inmersión realizada en el lavado de diferentes lotes de pitaya de mayo (*Stenocereus pruinosus*) y xoconostle dulce (*Stenocereus stellatus*).

Determinar el número de inmersiones que nos garanticen la efectividad del NaClO en el agua de lavado-desinfección.

Determinar el promedio de microorganismos (xoconostle dulce *Stenocereus stellatus*) y número de unidades formadoras de colonias (UFC) (pitaya de mayo *Stenocereus pruinosus*) presentes en 0.1ml del agua de lavado-desinfección.

Identificación, descripción y comparación de microorganismos presentes en los frutos: pitaya de mayo (*Stenocereus pruinosus*) y xoconostle dulce (*Stenocereus stellatus*).

Determinar si hay efecto del tratamiento con NaClO sobre los frutos bajo estudio considerando los parámetros químicos de calidad: pH, sólidos solubles totales, y acidez total titulable.

## 6.- METODOLOGÍA

### 6.1 Desinfección *Xoconostle Dulce y Pitaya de Mayo*

1. Obtención de frutos (Mercado de Huajuapán de León, Oaxaca y Mercado de Tehuacán, Puebla)
2. Se pesaron 24 lotes de 500 g aproximadamente de xoconostle dulce y 24 lotes de 500 g aproximadamente pitaya de mayo.
3. Elaboración de los 4 tratamientos de hipoclorito de sodio (NaClO) con los que se trabajó:
  - 3.1 Tratamiento control (sin cloro): Un litro de agua.
  - 3.2 Tratamiento 0.5 R (1.25 ml de NaClO): Un litro de agua con 1.25 ml de NaClO.
  - 3.3 Tratamiento R (2.5 ml de NaClO): Un litro de agua con 2.5 ml de NaClO.
  - 3.4 Tratamiento 2R (5.0 ml de NaClO): Un litro de agua con 5.0 ml de NaClO.
4. Se realizó la inmersión de los lotes de aproximadamente 500 g de xoconostle dulce y pitaya de mayo; se dejó reposar durante dos minutos y se retiraron los frutos del agua.
5. Los frutos fueron secados con ayuda de aire forzado.
6. Se tomaron muestras de agua en un envase estéril.
7. Se midió el cloro activo presente en el agua con ayuda del kit de cloro (HI-3875) de la marca HANNA con rango de 0.0 a 3.4 mg/L.
  - 7.1 Se llenó el vial con 5 ml de agua desionizada.
  - 7.2 Se insertó uno de los viales en el orificio izquierdo del disco verificador (éste fue el blanco).
  - 7.3 Se añadió al segundo vial agua desionizada hasta la marca de 10 ml colocando la tapa y agitando para mezclar.

- 7.4 Se retiró la tapa y fue añadido 1 paquete de reactivo (DPD), colocando la tapa y mezclando (muestra tratada).
- 7.5 Se quitó la tapa e insertó la muestra tratada en el orificio derecho del disco verificador.
- 7.6 Se sujetó el disco verificador de forma que una fuente de luz iluminara las muestras desde la parte posterior de las ventanas.
- 7.7 Se mantuvo el disco verificador a una distancia de 30-40cm de los ojos para comparar el color, haciendo girar el disco mientras miraba a las ventanas de test de color y paré cuando el color coincidió. Leí el valor en la ventana de resultado directamente en mg/l (o ppm) de NaClO.

## 6.2 Laboratorio

1. Medición de parámetros químicos (pH, sólidos solubles totales y acidez total titulable).
2. Preparación de los medios de cultivo (Agar Nutritivo).
3. Inoculación de la muestras de agua en los medio de cultivos preparados.
4. Descripción macroscópica y microscópica de los microorganismos presentes en el agua de lavado- desinfección de xoconostle dulce y pitaya de mayo.
5. Fijación de muestras de los distintos microorganismos presentes en el agua de lavado-desinfección de xoconostle dulce y pitaya de mayo.
6. Tinción Gram.
7. Conteo del promedio de microorganismos (método de Breed, en el caso de xoconostle dulce) y unidades formadoras de colonia (UFC) (método de cuenta colonias en el caso de pitaya de mayo).
8. Descripción de morfos presentes en el agua de lavado del xoconostle dulce y pitaya de mayo.
9. Análisis estadístico mediante un ANDEVA por medio del programa NCSS.

### 6.3 Diseño Experimental

El lavado-desinfección de la pitaya de mayo y xoconostle dulce con NaClO, nos permite disminuir el número de microorganismos presentes en la epidermis (cáscara) de los mismos.

Se seleccionaron las siguientes concentraciones de NaClO:

<b>Tratamiento</b>	<b>Concentración de NaClO/ 1.0 l de H<sub>2</sub>O</b>
<b>Control</b>	Sin NaClO
<b>0.5R</b>	1.25 ml de NaClO / 1.0 l de H <sub>2</sub> O
<b>R</b>	2.5 ml de NaClO / 1.0 l de H <sub>2</sub> O
<b>2R</b>	5.0 ml de NaClO / 1.0 l de H <sub>2</sub> O

Teniendo como unidad experimental lotes de 500 gr de pitaya de mayo y lotes de 500 gr de xoconostle dulce, realizando un duplicado del estudio para cada caso. Por lo tanto se manejaron un total de 24 lotes de 500 gr C/U de pitaya de mayo y 24 lotes de 500 gr de xoconostle dulce c/u, los cuales se sumergieron en 2L de agua más la cantidad de NaClO dependiendo del tratamiento que se aplicara, esto se llevo a cabo en tinas de plástico con capacidad de 5L sumergiendo los frutos durante 2 minutos.

Se llevaron a cabo tres inmersiones en cada tratamiento. Esto se aplicó llenando 8 tinas de 5L de capacidad con 2L de agua más la cantidad de NaClO correspondiente a cada tratamiento, pesando 24 lotes de pitaya de mayo o xoconostle dulce y llevando a cabo la inmersión de 2 lotes de pitaya de mayo o xoconostle dulce en el tratamiento CONTROL, siendo ésta la primera inmersión; una vez hubo pasado el tiempo de la acción desinfectante, se midieron el cloro activo presente en el agua de lavado-desinfección y se tomaron muestras microbiológicas; se tomaron 2 lotes más de pitaya de mayo o xoconostle dulce y se realizó la misma acción, siendo ésta nuestra segunda inmersión; se tomaron 2

lotes más de pitaya de mayo o xoconostle dulce y se realizó la misma acción, siendo ésta nuestra tercera inmersión.

El pH es un parámetro químico que nos puede interferir con el tratamiento, debido a que las condiciones del agua cambian durante cada lavado-desinfección que se realizaron en ella.

Teniendo:

- Variable respuesta = Promedio de microorganismos o unidades formadoras de colonia (UFC) presentes en la epidermis (cáscara) de pitaya de mayo y xoconostle dulce en 0.1 ml de agua de lavado-desinfección.
- Unidad experimental = el número de UFC presentes en el agua de lavado-desinfección de 500 gr de pitaya de mayo o xoconostle dulce (24)
- Tratamientos = Concentración e inmersión
- Factor 1 = Concentración NaClO
- Nivel<sub>concentraciones</sub> =
  - C (sin NaClO)
  - 0.5R (1.25 ml de NaClO / 1.0 l de H<sub>2</sub>O)
  - R (2.5 ml de NaClO / 1.0 l de H<sub>2</sub>O)
  - 2R (5.0 ml de NaClO / 1.0 l de H<sub>2</sub>O)
- Factor 2 = Número de inmersiones (3)
- Nivel<sub>lavados</sub> =
  - 1 era inmersión
  - 2 da inmersión
  - 3 era inmersión

(Nota para fines prácticos se consideró como factor fijo, aunque es de considerar cierto grado de anidamiento entre las inmersiones)

Por lo cual se analiza mediante un ANDEVA factorial de 4 x 2 bajo el siguiente modelo:

$$Y = A+B+AB +S$$

En donde Y se refiere a la respuesta o UFC , A se refiere al efecto del tratamiento de concentración de hipoclorito de sodio, B es el efecto del la inmersión y AB es el efecto de la interacción entre ambos factores. S es el error experimental que se manifiesta como el residual.



## 7.- RESULTADOS Y DISCUSIONES

### 7.1 *Xoconostle dulce*

#### 7.1.1 Medición de Hipoclorito de Sodio (NaClO) en *Xoconostle dulce*.

Medición de NaClO activo presente en el agua de lavado-desinfección en *xoconostle dulce*:

Tratamientos:

(C) = Control (sin NaClO).

(0.5R) = La mitad de concentración recomendada de NaClO (1.25 ml de NaClO/1.0 L de H<sub>2</sub>O).

(R) = Concentración recomendada de NaClO (2.5 ml de NaClO / 1.0 L de H<sub>2</sub>O).

(2R) = Dos veces la concentración recomendada de NaClO (5.0 ml de NaClO/1.0 L de H<sub>2</sub>O).

Tratamientos	Inmersión 1 (ppm)	Inmersión 2 (ppm)	Inmersión 3 (ppm)
C (sin NaClO)	0	0	0
0.5 R (1.25 ml de NaClO / 1.0 L de H <sub>2</sub> O)	1.6	1.5	1.5
R (2.5 ml de NaClO / 1.0 L de H <sub>2</sub> O)	0.6	0.6	0.5
2R (5.0 ml de NaClO / 1.0 L de H <sub>2</sub> O)	0.9	0	0

Tabla 2.- Medición de NaClO activo (ppm) presente en el lavado de *xoconostle dulce*.

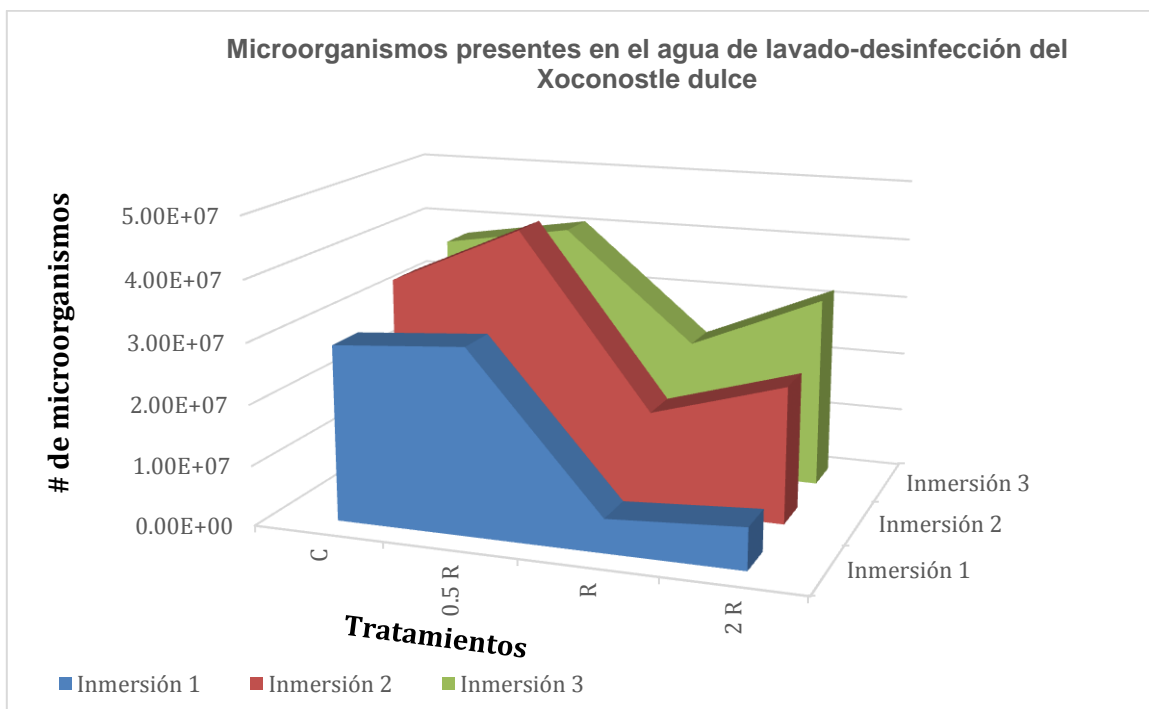
Duplicado	Inmersión 1 mg/l	Inmersión 2 mg/l	Inmersión 3 mg/l
Tratamientos			
C (sin NaClO)	0	0	0
0.5 R (1.25 ml de NaClO / 1.0 L de H <sub>2</sub> O)	1.6	1.5	1.5
R (2.5 ml de NaClO / 1.0 L de H <sub>2</sub> O)	0.6	0.5	0.5
2R (5.0 ml de NaClO / 1.0 L de H <sub>2</sub> O)	0.9	0	0

Tabla 3.- Duplicado de la medición de NaClO activo (ppm) presente en el lavado de *xoconostle dulce*.

Obteniendo los datos de la tabla 1 y 2, en la cual se muestra que el tratamiento 0.5 R tiene una menor pérdida de NaClO en comparación de los otros tratamientos, aunque el promedio de microorganismos presentes en este tratamiento se encuentra en el rango de los 3.87E+07 (Gráfica 1); el tratamiento R pierde más

NaClO, pero el promedio de microorganismos presentes es menor en este tratamiento, se encuentra en el rango de los  $1.48E+07$  (Gráfica 1); y el tratamiento 2 R tiene una pérdida total de NaClO en la segunda inmersión, probablemente por motivos de temperatura o pH, el promedio de microorganismos presentes en este tratamiento se encuentra en el rango de los  $2.05E+07$  (Gráfica 1).

### 7.1.2 Promedio de microorganismos en 0.1 ml agua de lavado-desinfección en el *Xoconostle dulce*.

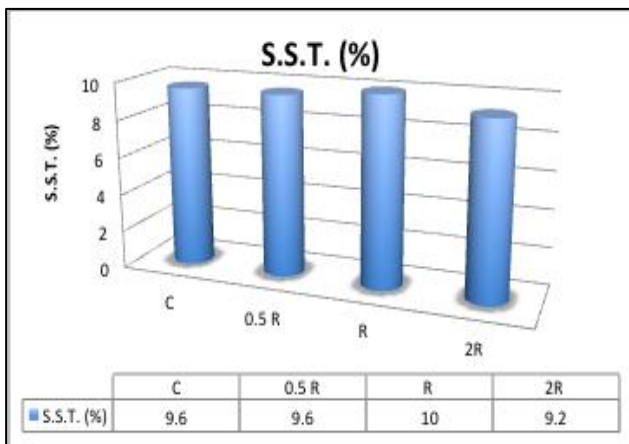


Gráfica 1.- Promedio de microorganismos presentes en 0.1 ml de agua de lavado-desinfección en el *Xoconostle dulce*, teniendo cuatro tratamientos de NaClO (C, 0.5R, R, 2R) y realizando el lavado-desinfección de lotes diferentes de *Xoconostle dulce* en tres inmersiones.

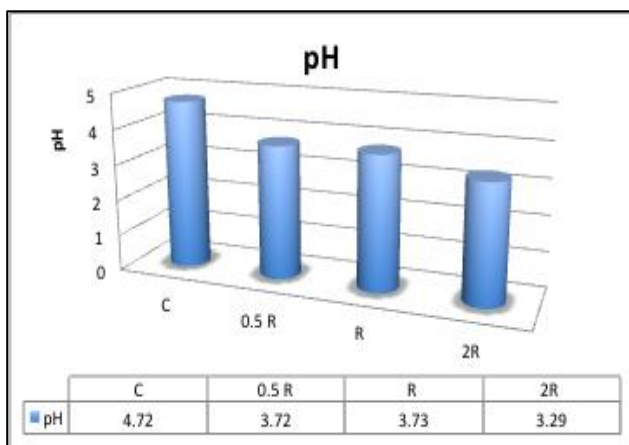
El promedio de microorganismos presentes en 0.1 ml de agua de lavado-desinfección, se observa que tiende a disminuir conforme se tenga la concentración del tratamiento R (2.5 ml de NaClO/ 1 L de H<sub>2</sub>O) y teniendo un aumento en el promedio de microorganismos en el tratamiento 2R que en algunos casos llegan a los valores del tratamiento Control (sin NaClO).

### 7.1.3 Parámetros químicos en *Xoconostle dulce*.

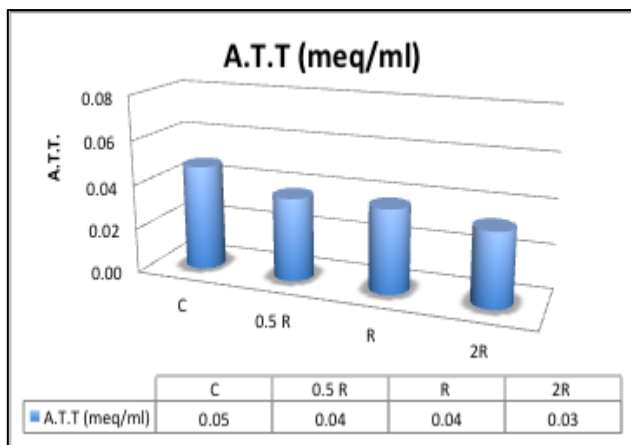
Análisis de parámetros químicos con respecto a la influencia que tiene el lavado-desinfección tras haber sido sometidos los frutos a los tratamientos C, 0.5R, R y 2R. Observándose que no existe afectación en la calidad del *xoconostle dulce*.



Gráfica 2: Resultado de sólidos solubles totales donde podemos apreciar que no existe diferencia significativa entre frutos después del proceso de lavado-desinfección tras haber sido sometidos a los tratamientos C, 0.5R, R y 2R.



Gráfica 3: Resultado de pH donde podemos apreciar que no existe diferencia significativa entre frutos después del proceso de lavado-desinfección tras haber sido sometidos a los tratamientos C, 0.5R, R y 2R.



Gráfica 4: Resultado de acidez total titulable donde podemos apreciar que no que existe diferencia significativa entre frutos después del proceso de lavado-desinfección tras haber sido sometidos a los tratamientos C, 0.5R, R y 2R.

#### 7.1.4 Descripción de microorganismos en *Xoconostle dulce*

- Macroscópica y microscópica.
  1. Macroscópica: caracterización de la colonia (forma, color, tamaño, borde, elevación, aspecto y consistencia).
  2. Microscópica: con respecto a su capacidad de ser teñidas (gram +, gram -) y morfología del microorganismo (coco, bacillus, hongo).

El agua de lavado-desinfección del xoconostle dulce presentó morfos de bacterias y hongos filamentosos, los cuales fueron teñidos con la técnica de tinción Gram y tinción simple, en el caso de hongos (Figura 15, 17, 19 y 21), llevando a cabo la caracterización microscópica de los diferentes morfos de microorganismos presentes en el agua de lavado-desinfección del xoconostle dulce. Las bacterias Gram positivas (Figura 2, 4 y 5) (pared celular gruesa con aun aproximado de 80%-90% es peptidoglicano) y Gram negativas (Figura 1 y 3) (pared celular delgada con 10%-20% de peptidoglicano y rodeado de fosfolípidos, lipopolisacáridos y lipoproteínas) se tiñen de forma distinta debido a que existen diferencias constitutivas en las estructuras de sus paredes celulares (Santambrosio et. al, 2009). Los hongos no pueden ser teñidos por medio de la técnica de tinción Gram, debido a que los hongos necesitan de una tinción simple, que en este caso, se llevo a cabo por medio del azul de lactofenol el cual nos permite: teñir el citoplasma y la quitina, desactiva las enzimas líticas en la célula e impide que éstas se rompan, destruye la flora acompañante (González et. al, 2011).

#### 7.1.4.1 Mofo # 1

Forma de la colonia	Redondeada
Color	Amarillo claro
Tamaño de colonia (mm)	3.27
Borde	Plano
Elevación	Circular
Aspecto	Brillante
Consistencia	Suave
Gram	Negativa
Morfología	Bacilo

Tabla 4: Descripción macroscópica y microscópica en el morfo # 1 .

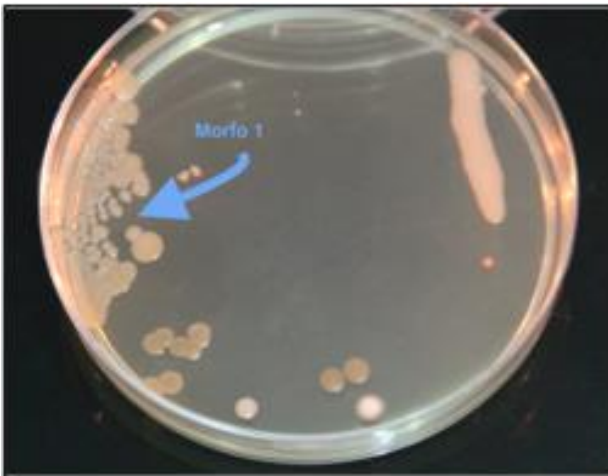


Figura 5. Microorganismos correspondientes al morfo # 1, presentes en el medio de cultivo. Realizando descripción macroscópica de la colonia.

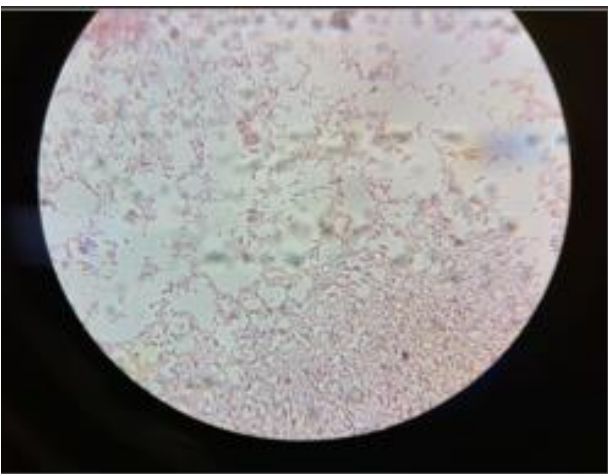


Figura 6. Microorganismos correspondientes al morfo # 1, vistos bajo microscopía óptica a 100X. Realizando descripción microscópica: tinción y morfología.

#### 7.1.4.2 Morfo # 2

Forma de la colonia	Redondeada
Color	Amarillo oscuro
Tamaño de colonia (mm)	4.42
Borde	Plano
Elevación	Circular
Aspecto	Brillante
Consistencia	Elástica
Gram	Positiva
Morfología	Cocos

Tabla 5: Descripción macroscópica y microscópica en el morfo # 2.

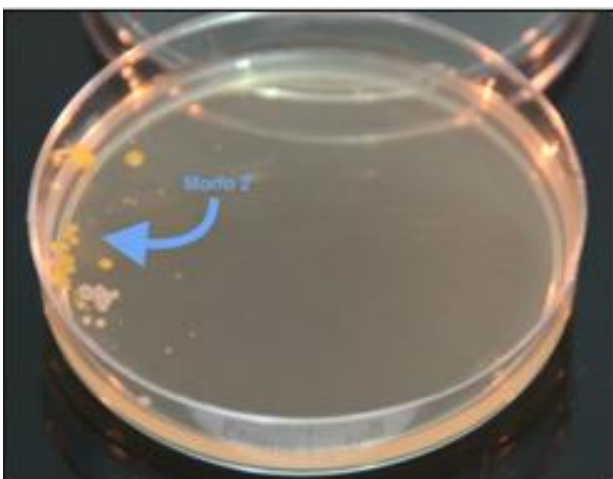


Figura 7. Microorganismos correspondientes al morfo # 2, presentes en el medio de cultivo. Realizando descripción macroscópica de la colonia.

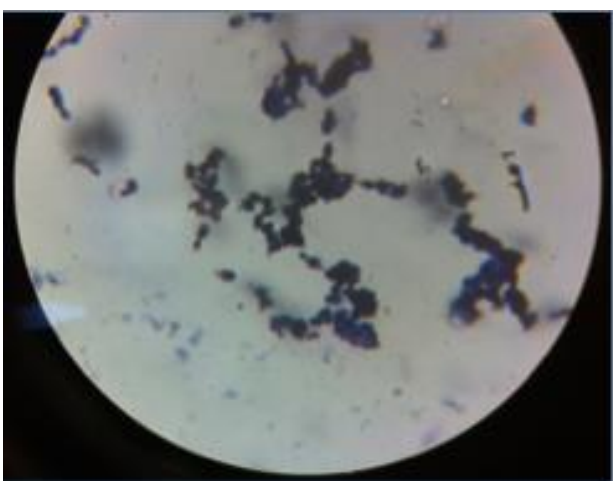


Figura 8. Microorganismos correspondientes al morfo # 2, vistos bajo microscopía óptica a 100X. Realizando descripción microscópica: tinción y morfología.

### 7.1.4.3 Morfo # 3

Forma de la colonia	Redondeada
Color	Blanco translúcido
Tamaño de colonia (mm)	2.54
Borde	Plano
Elevación	Circular
Aspecto	Brillante
Consistencia	Suave
Gram	Negativa
Morfología	Bacilo

Tabla 6: Descripción macroscópica y microscópica en el morfo # 3.



Figura 9. Microorganismos correspondientes al morfo # 3, presente en el medio de cultivo. Realizando descripción macroscópica de la colonia.

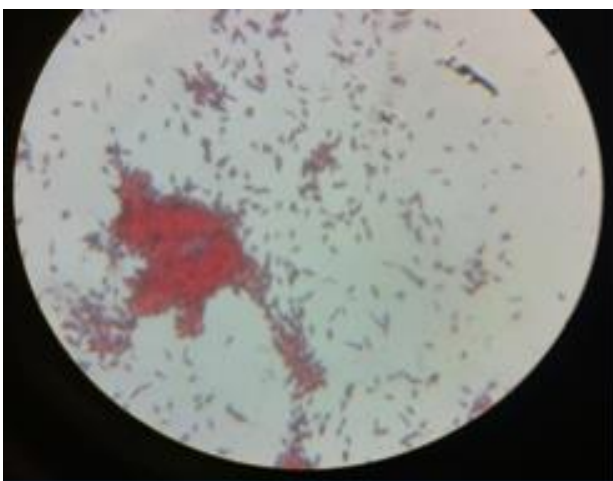


Figura 10. Microorganismos correspondientes al morfo # 3, vistos bajo microscopía óptica a 100X. Realizando descripción microscópica: tinción y morfología.



#### 7.1.4.4 Morfo # 4

Forma de la colonia	Redondeada
Color	Blanco azulado
Tamaño de colonia (mm)	3.19
Borde	Plano
Elevación	Circular
Aspecto	Brillante
Consistencia	Elástica
Gram	Positiva
Morfología	Cocos

Tabla 7: Descripción macroscópica y microscópica en el morfo # 4.

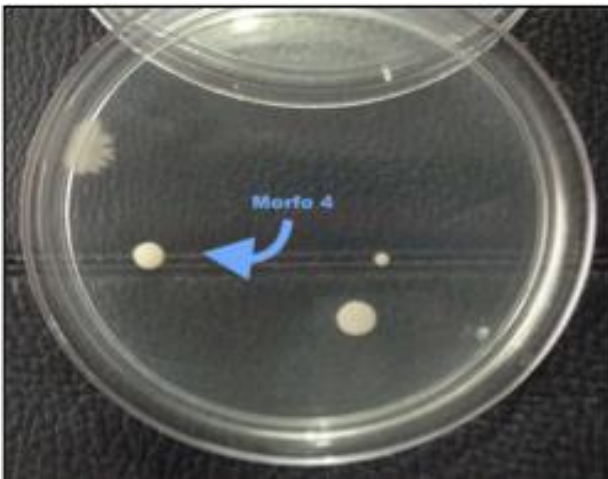


Figura 11. Microorganismos correspondientes al morfo # 4, presente en el medio de cultivo. Realizando descripción macroscópica de la colonia.

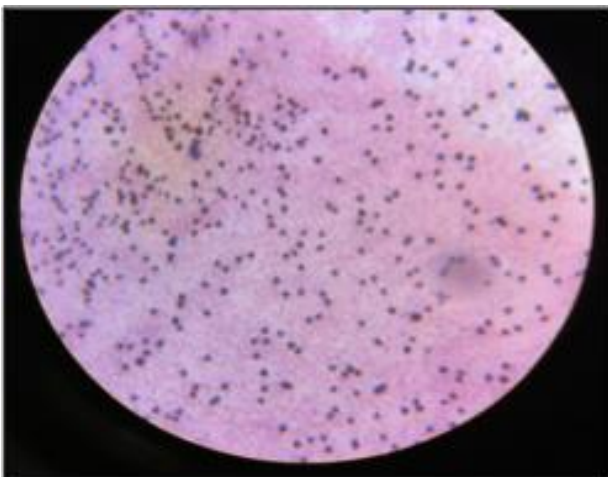


Figura 12. Microorganismos correspondientes al morfo # 4, vistos bajo microscopía óptica a 100X. Realizando descripción microscópica: tinción y morfología.



#### 7.1.4.5 Morfo # 5

Forma de la colonia	Redondeada
Color	Rojo
Tamaño de colonia (mm)	2.7
Borde	Plano
Elevación	Circular
Aspecto	Opaco
Consistencia	Suave
Gram	Positiva
Morfología	Coco

Tabla 8: Descripción macroscópica y microscópica en el morfo # 5.

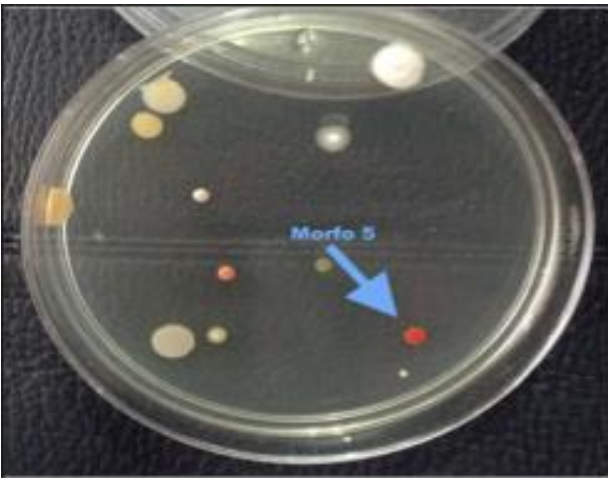


Figura 13. Microorganismos correspondientes al morfo # 5, presente en el medio de cultivo. Realizando descripción macroscópica de la colonia.

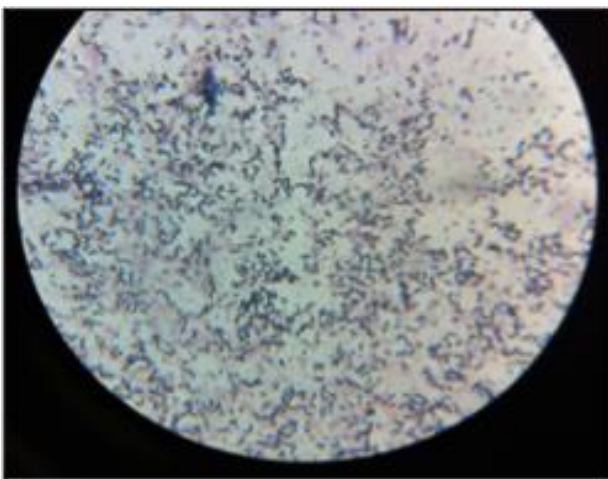


Figura 14. Microorganismos correspondientes al morfo # 5, vistos bajo microscopía óptica a 100X. Realizando descripción microscópica: tinción y morfología.

#### 7.1.4.6 Morfo # 6

Forma de la colonia	Filamentosa
Color	Blanco nube
Tamaño de colonia (mm)	16.25
Borde	Umbonado
Elevación	Filamentoso
Aspecto	Opaco
Consistencia	Suave
Tinción simple	Azul de lactofenol
Morfología	Hongo

Tabla 9: Descripción macroscópica y microscópica en el morfo # 6.



Figura 15. Microorganismos correspondientes al morfo # 6, presentes en el medio de cultivo. Realizando descripción macroscópica de la colonia.



Figura 16. Microorganismos correspondientes al morfo # 6, vistos bajo microscopía óptica a 100X. Realizando descripción microscópica: tinción y morfología.

#### 7.1.4.7 Morfo # 7

Forma de la colonia	Filamentosa
Color	Café-negro
Tamaño de colonia (mm)	25.0
Borde	Umbonado
Elevación	Filamentoso
Aspecto	Opaco
Consistencia	Dura
Tinción simple	Azul de lactofenol
Morfología	Hongo

Tabla 10: Descripción macroscópica y microscópica en el morfo # 7.

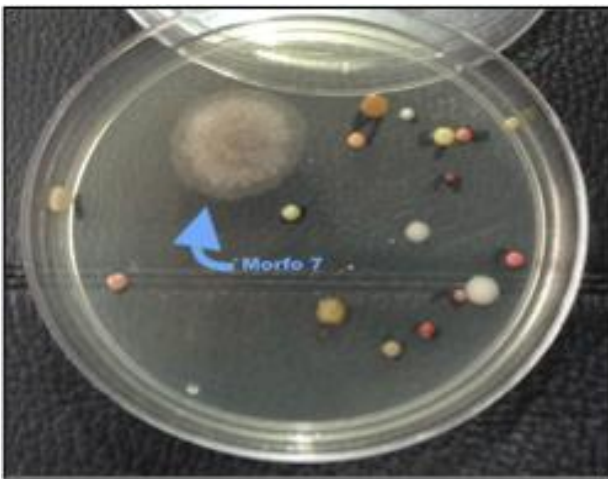


Figura 17. Microorganismos correspondientes al morfo # 7, presentes en el medio de cultivo. Realizando descripción macroscópica de la colonia.



Figura 18. Microorganismos correspondientes al morfo # 7, vistos bajo microscopía óptica a 100X. Realizando descripción microscópica: tinción y morfología.

#### 7.1.4.8 Morfo # 8

Forma de la colonia	Filamentosa
Color	Blanco con café
Tamaño de colonia (mm)	9.33
Borde	Umbonado
Elevación	Filamentoso
Aspecto	Opaco
Consistencia	Suave
Tinción simple	Azul de lactofenol
Morfología	Hongo

Tabla 11: Descripción macroscópica y microscópica en el morfo # 8.

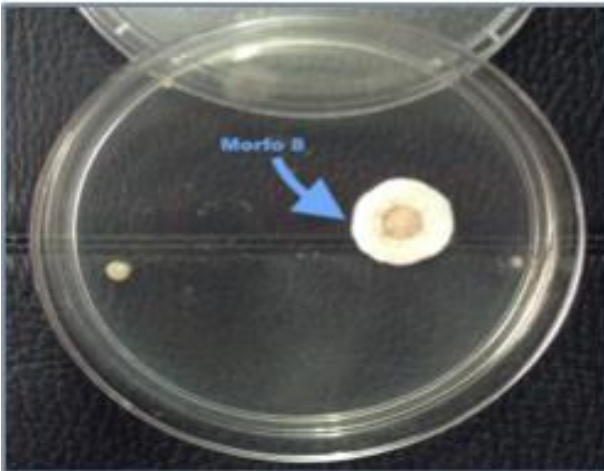


Figura 19. Microorganismos correspondientes al morfo # 8, presentes en el medio de cultivo. Realizando descripción macroscópica de la colonia.



Figura 20. Microorganismos correspondientes al morfo # 8, vistos bajo microscopía óptica a 100X. Realizando descripción microscópica: tinción y morfología.

#### 7.1.4.9 Morfo # 9

Forma de la colonia	Filamentosa
Color	Blanco circular
Tamaño de colonia (mm)	5.0
Borde	Umbonado
Elevación	Filamentoso
Aspecto	Opaco
Consistencia	Suave
Tinción simple	Azul de lactofenol
Morfología	Hongo

Tabla 12: Descripción macroscópica y microscópica en el morfo # 9.

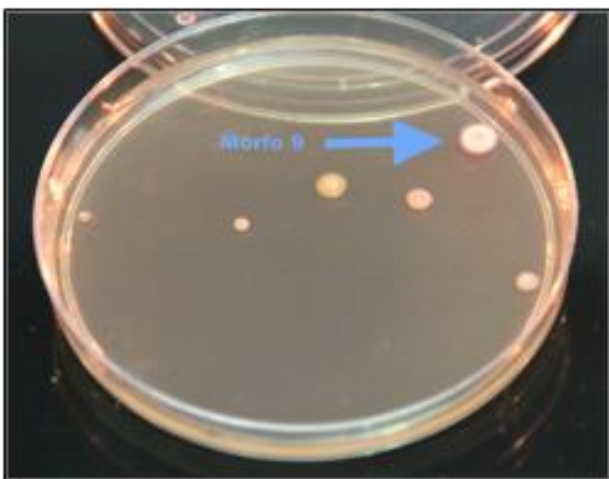


Figura 21. Microorganismos correspondientes al morfo # 9, presentes en el medio de cultivo. Realizando descripción macroscópica de la colonia.



Figura 22. Microorganismos correspondientes al morfo # 9, vistos bajo microscopía óptica a 100X. Realizando descripción microscópica: tinción y morfología.



#### 7.1.4.10 Morfo # 10

Forma de la colonia	Lobulado
Color	Blanco- Grisáceo
Tamaño de colonia (mm)	6.1
Borde	Convexo
Elevación	Irregular
Aspecto	Brillante
Consistencia	Dura
Gram	Positiva
Morfología	Bacilo

Tabla 13: Descripción macroscópica y microscópica en el morfo # 10.

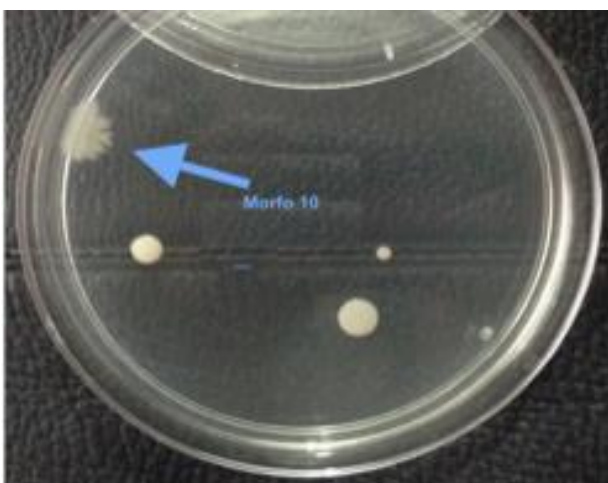


Figura 21. Microorganismos correspondientes al morfo # 10, presentes en el medio de cultivo. Realizando descripción macroscópica de la colonia.

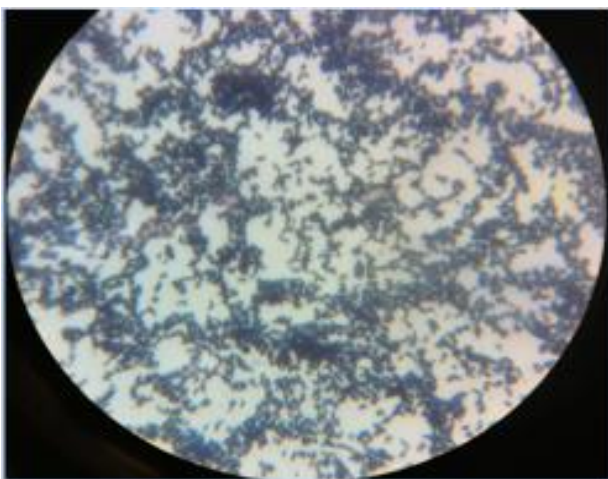


Figura 22. Microorganismos correspondientes al morfo # 10, vistos bajo microscopía óptica a 100X. Realizando descripción microscópica: tinción y morfología.

## 7.2 Pitaya de Mayo

### 7.2.1 Medición de Hipoclorito de Sodio (NaClO) en Pitaya de Mayo.

Medición de NaClO activo presente en el agua de lavado-desinfección en *Pitaya de Mayo*:

Tratamientos:

(C) = Control (sin NaClO).

(0.5R) = La mitad de concentración recomendada de NaClO (1.25 ml de NaClO / 1.0 L de H<sub>2</sub>O).

(R) = Concentración recomendada de NaClO (2.5 ml de NaClO / 1.0 L de H<sub>2</sub>O).

(2R) = Dos veces la concentración recomendada de NaClO (5.0 ml de NaClO / 1.0 L de H<sub>2</sub>O).

Tratamientos	Inmersión 1 (ppm)	Inmersión 2 (ppm)	Inmersión 3 (ppm)
C (sin NaClO)	0	0	0
0.5 R (1.25 ml de NaClO / 1.0 L de H <sub>2</sub> O)	3.4	2.9	2.4
R (2.5 ml de NaClO / 1.0 L de H <sub>2</sub> O)	2.5	2.2	0.8
2R (5.0 ml de NaClO / 1.0 L de H <sub>2</sub> O)	0.2	0	0

Tabla 14.- Medición de NaClO activo (ppm) presente en el lavado de *pitaya de mayo*.

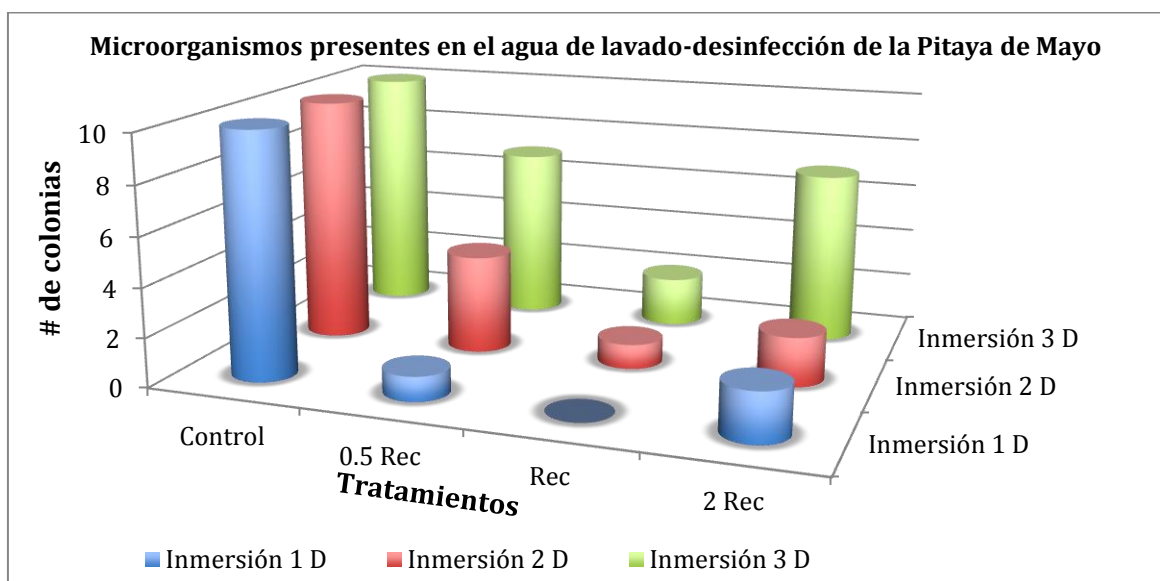
Dupilcado			
Tratamientos	Inmersión 1 mg/l	Inmersión 2 mg/l	Inmersión 3 mg/l
C (sin NaClO)	0	0	0
0.5 R (1.25 ml de NaClO / 1.0 L de H <sub>2</sub> O)	3.4	2.8	2.2
R (2.5 ml de NaClO / 1.0 L de H <sub>2</sub> O)	2.4	2.3	0.6
2R (5.0 ml de NaClO / 1.0 L de H <sub>2</sub> O)	0.3	0	0

Tabla 15.- Duplicado de la medición de NaClO activo (ppm) presente en el lavado de *pitaya de mayo*.

La utilización de kits comerciales para la medición de NaClO, nos ha facilitado conocer la cantidad de NaClO activo presente en el agua de lavado-desinfección de la pitaya de mayo, obteniendo los datos (tabla 14 y 15) en los cuales se muestra que el tratamiento 2R pierde la mayoría del NaClO en la 1era inmersión y en la 2da se pierde completamente. Esto ocurre probablemente por el aumento del

pH del agua de lavado-desinfección así como su reacción con la materia orgánica proveniente de la piel de los frutos e impide que el ion hipoclorito (causante de la acción desinfectante) se disocie en:  $\text{NaClO} + \text{H}^2 \longrightarrow \text{HClO} + \text{OH}^+ + \text{Na}^+$ .

### 7.2.2 Conteo de UFC de microorganismos presentes en 0.1 ml de agua de lavado-desinfección en la *Pitaya de Mayo*.



Gráfica 5.- Conteo de UFC de microorganismos presentes en 0.1 ml de agua de lavado-desinfección en la *pitaya de mayo*, teniendo cuatro tratamientos de NaClO (C, 0.5R, R, 2R) y realizando el lavado-desinfección de diferentes lotes de *pitaya de mayo*.

	Control	0.5 Rec	Rec	2 Rec
Inmersión 1	726	1	0	2
Inmersión 2	842	4	1	2
Inmersión 3	956	7	2	7
# Colonias Totales	2524	12	3	11
Duplicado	Control	0.5 Rec	Rec	2 Rec
Inmersión 1 D	854	4	1	2
Inmersión 2 D	798	34	1	4
Inmersión 3 D	732	2	2	7
# Colonias Totales D	2384	40	4	13

Tabla 16 .- Número de colonias/0.1 ml de agua de lavado presentes en cuatro tratamientos de NaClO, exponiéndolos en tres inmersiones.

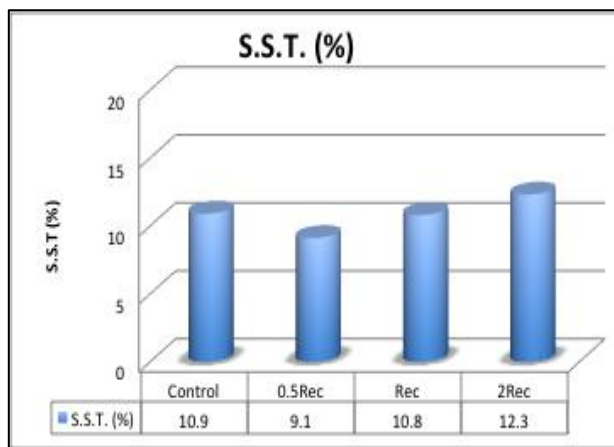
El número de UFC de los microorganismos (número de colonias/0.1 ml de muestra de agua de lavado) presentes en el agua de lavado-desinfección de la *pitaya de*



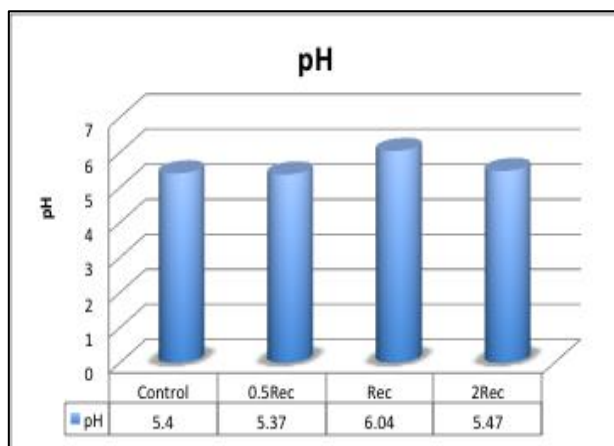
mayo, muestran que el tratamiento R (0.25 ml de NaClO/ 1.0L de agua) es el más adecuado para llevar a cabo la acción desinfectante en el proceso de lavado-desinfección, debido a que los tratamientos C, 0.5R y 2R presentan un mayor número de UFC de microorganismos. El tratamiento R pierde más NaClO, pero el número de UFC de microorganismos presentes disminuye; el tratamiento 2R tiene una pérdida total de NaClO en la segunda inmersión, probablemente por motivos de temperatura, pH y/o reacción con la materia orgánica, por lo que número de UFC de microorganismos presentes en el agua de lavado-desinfección aumenta y su acción desinfectante se asimila al tratamiento 0.5R.

### 7.2.3 Parámetros químicos en *Pitaya de mayo*.

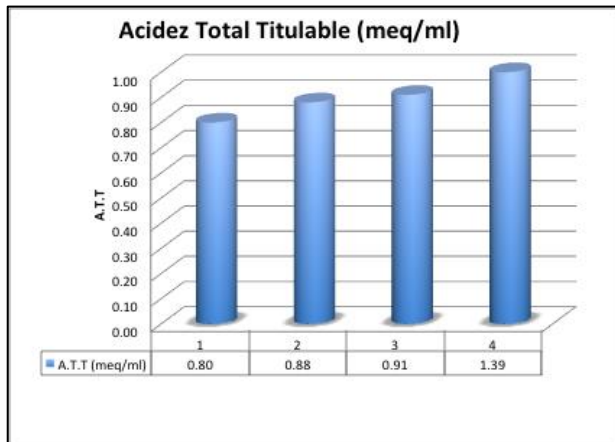
- Análisis de parámetros químicos con respecto a la influencia que tiene el lavado-desinfección en la *pitaya de mayo*.



Gráfica 6: Resultado de sólidos solubles totales donde podemos apreciar que no existe diferencia significativa entre frutos después del proceso de lavado-desinfección tras haber sido sometidos a los tratamientos C, 0.5R, R y 2R.



Gráfica 7: Resultado de pH donde podemos apreciar que no existe diferencia significativa entre frutos después del proceso de lavado-desinfección tras haber sido sometido a los tratamientos C, 0.5R, R y 2R.



Gráfica 8: Resultado de acidez total titulable donde podemos apreciar que no que existe diferencia significativa entre frutos después del proceso de lavado-desinfección y los controles tras haber sido sometido a los tratamientos C, 0.5R, R y 2R.

#### 7.2.4 Descripción de microorganismos en *Pitaya de mayo*.

- Macroscópica y microscópica.
  3. Macroscópica: caracterización de la colonia (forma, color, tamaño, borde, elevación, aspecto y consistencia).
  4. Microscópica: con respecto a su capacidad de ser teñidas (gram +, gram -) y morfología del microorganismo (coco, bacillus, hongo).

Los microorganismos encontrados en el agua de lavado-desinfección de la pitaya de mayo fueron Gram positivos, Gram negativos y hongos filamentosos, los cuales fueron teñidos con la técnica de tinción Gram y tinción simple, en el caso de hongos. Se llevó a cabo la caracterización microscópica de los diferentes morfos de microorganismos presentes en el agua de lavado-desinfección de la pitaya de mayo. Las bacterias Gram positivas (pared celular gruesa con un aproximado de 80%-90% es peptidoglicano) y Gram negativas (pared celular delgada con 10%-20% de peptidoglicano y rodeado de fosfolípidos, lipopolisacáridos y lipoproteínas) se tiñen de forma distinta debido a que existen diferencias constitutivas en las estructuras de sus paredes celulares (Santambrosio et. al, 2009). Los hongos no pueden ser teñidos por medio de la técnica de tinción Gram, debido a que éstos necesitan de una tinción simple. En este caso, los hongos encontrados se tiñeron con azul de lactofenol el cual nos permite: teñir el citoplasma y la quitina, desactiva las enzimas líticas en la célula e impide que éstas se rompan, destruye la flora acompañante (González et. al, 2011).

### 7.2.4.1 Mofo # 1

Forma de la colonia	Redondeada
Color	Amarillo Translúcido
Tamaño de colonia (mm)	2.0
Borde	Plano
Elevación	Circular
Aspecto	Brillante
Consistencia	Suave
Gram	Negativa
Morfología	Bacilo

Tabla 16: Descripción macroscópica y microscópica del morfo # 1 .

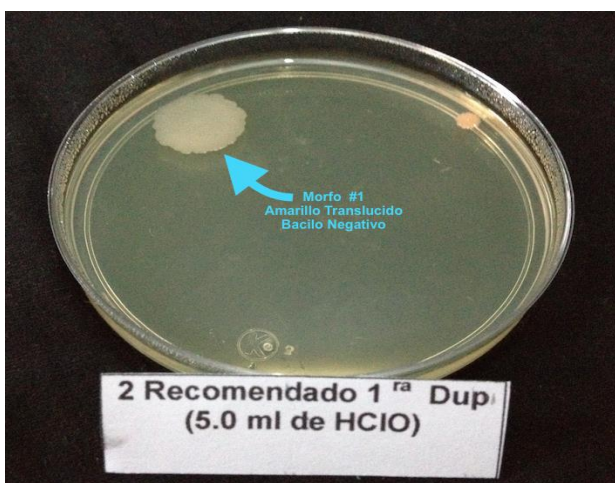


Figura 23. Microorganismos correspondientes al morfo # 1, presentes en el medio de cultivo. Realizando descripción macroscópica de la colonia.

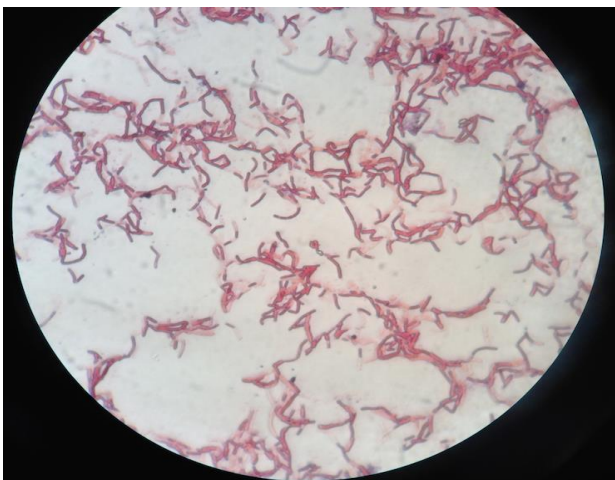


Figura 24. Microorganismos correspondientes al morfo # 1, vistos bajo microscopía óptica a 100X. Realizando descripción microscópica: tinción y morfología.

### 7.2.4.2 Morfo # 2

Forma de la colonia	Redondeada
Color	Amarillo Oscuro
Tamaño de colonia (mm)	3.0
Borde	Plano
Elevación	Circular
Aspecto	Opaco
Consistencia	Elástica
Gram	Positiva
Morfología	Coco

Tabla 17: Descripción macroscópica y microscópica del morfo # 2 .

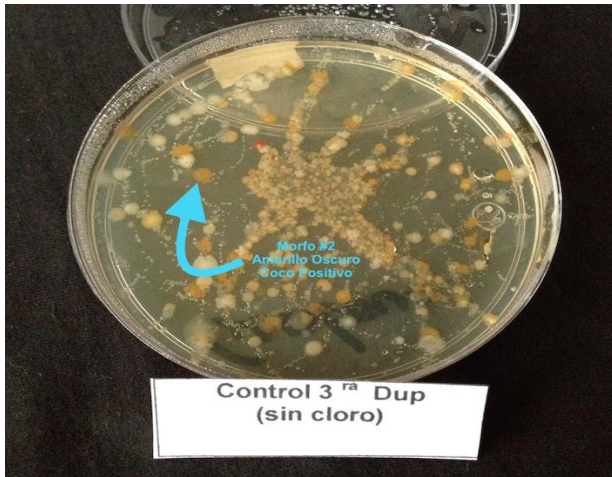


Figura 25. Microorganismos correspondientes al morfo # 2, presentes en el medio de cultivo. Realizando descripción macroscópica de la colonia.



Figura 26. Microorganismos correspondientes al morfo # 2, vistos bajo microscopía óptica a 100X. Realizando descripción microscópica: tinción y morfología.



### 7.2.4.3 Morfo # 3

Forma de la colonia	Redondeada
Color	Blanco Translúcido
Tamaño de colonia (mm)	2.5
Borde	Plano
Elevación	Circular
Aspecto	Brillante
Consistencia	Suave
Gram	Negativa
Morfología	Bacilo

Tabla 18: Descripción macroscópica y microscópica del morfo # 3.

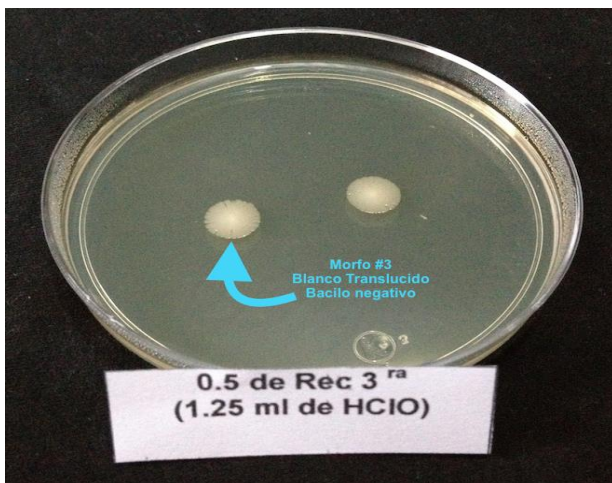


Figura 27. Microorganismos correspondientes al morfo # 1, presentes en el medio de cultivo. Realizando descripción macroscópica de la colonia.



Figura 28. Microorganismos correspondientes al morfo # 3, vistos bajo microscopía óptica a 100X. Realizando descripción microscópica: tinción y morfología.

#### 7.2.4.4 Morfo # 4

Forma de la colonia	Redondeada
Color	Blanco Azulado
Tamaño de colonia (mm)	4.0
Borde	Plano
Elevación	Circular
Aspecto	Brillante
Consistencia	Elástica
Gram	Positiva
Morfología	Cocos

Tabla 19: Descripción macroscópica y microscópica del morfo # 4.

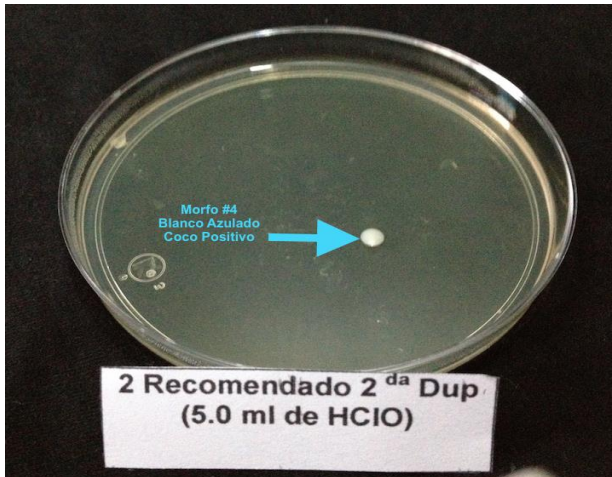


Figura 29. Microorganismos correspondientes al morfo # 4, presentes en el medio de cultivo. Realizando descripción macroscópica de la colonia.

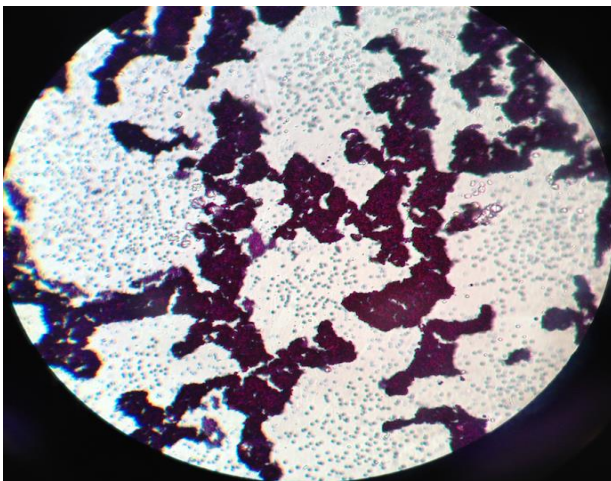


Figura 30. Microorganismos correspondientes al morfo # 4, vistos bajo microscopía óptica a 100X. Realizando descripción microscópica: tinción y morfología.

### 7.2.4.5 Morfo # 5

Forma de la colonia	Redondeada
Color	Rojo
Tamaño de colonia (mm)	3.0
Borde	Plano
Elevación	Circular
Aspecto	Opaco
Consistencia	Suave
Gram	Positiva
Morfología	coco

Tabla 20: Descripción macroscópica y microscópica del morfo # 5.

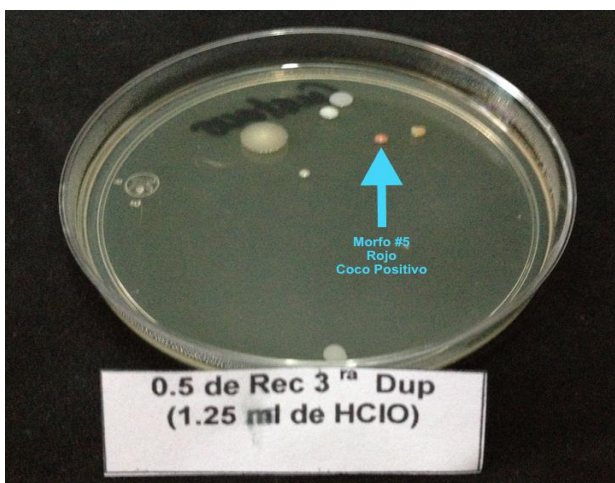


Figura 31. Microorganismos correspondientes al morfo # 5, presentes en el medio de cultivo. Realizando descripción macroscópica de la colonia.

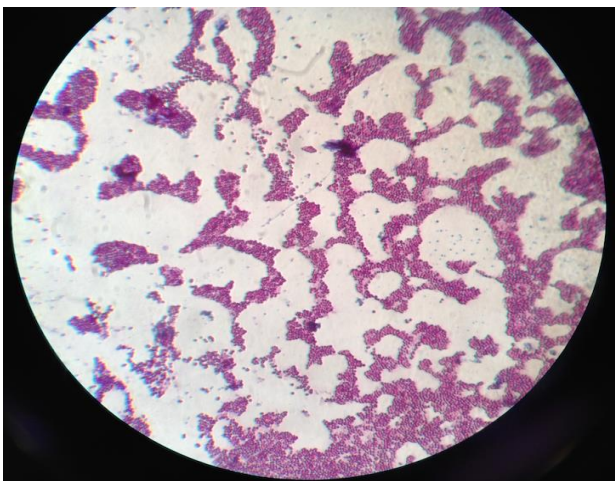


Figura 32. Microorganismos correspondientes al morfo # 5, vistos bajo microscopía óptica a 100X. Realizando descripción microscópica: tinción y morfología.



### 7.2.4.6 Morfo # 6

Forma de la colonia	Filamentosa
Color	Blanco
Tamaño de colonia (mm)	43
Borde	Umbonado
Elevación	Filamentosa
Aspecto	Opaco
Consistencia	Suave
Tinción simple	Azul Lactofenol
Morfología	Hongo

Tabla 24: Descripción macroscópica y microscópica en el morfo # 9.

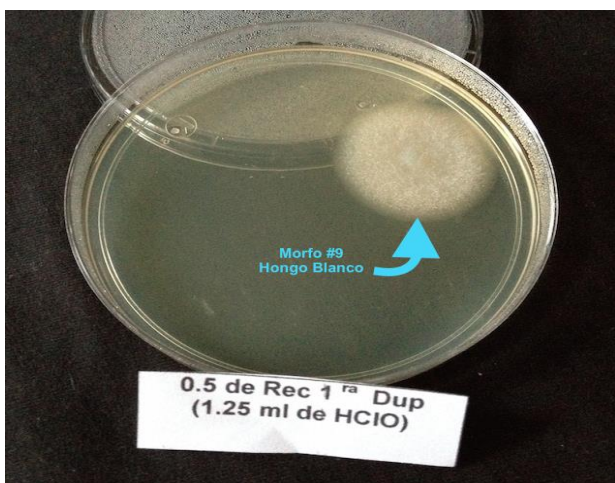


Figura 39. Microorganismos correspondientes al morfo # 9, presentes en el medio de cultivo. Realizando descripción macroscópica de la colonia.

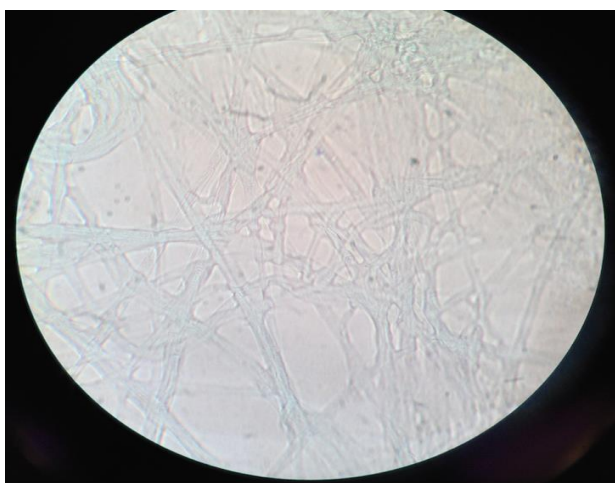


Figura 40. Microorganismos correspondientes al morfo # 9, vistos bajo microscopía óptica a 100X. Realizando descripción microscópica: tinción y morfología. Correspondiente al Género *Penicillium spp.*



### 7.2.4.7 Morfo # 7

Forma de la colonia	Filamentosa
Color	Café-Negro
Tamaño de colonia (mm)	4
Borde	Umbonado
Elevación	Filamentosa
Aspecto	Opaco
Consistencia	Dura
Tinción simple	Azul Lactofenol
Morfología	Hongo

Tabla 22: Descripción macroscópica y microscópica del morfo # 7.

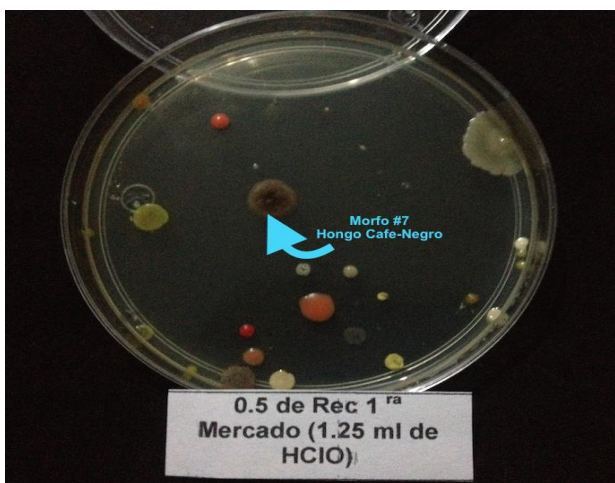


Figura 35. Microorganismos correspondientes al morfo # 7, presentes en el medio de cultivo. Realizando descripción macroscópica de la colonia.

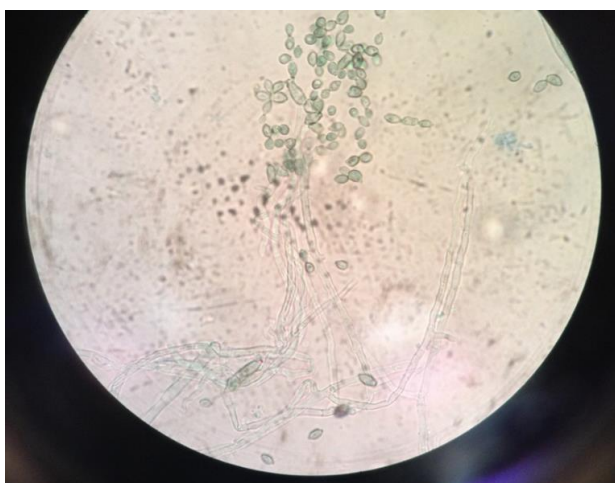


Figura 36. Microorganismos correspondientes al morfo # 7, vistos bajo microscopía óptica a 100X. Realizando descripción microscópica: tinción y morfología.

### 7.2.4.8 Morfo # 8

Forma de la colonia	Filamentosa
Color	Gris-Blanco
Tamaño de colonia (mm)	13
Borde	Umbonado
Elevación	Filamentosa
Aspecto	Opaco
Consistencia	Dura
Tinción simple	Azul Lactofenol
Morfología	Hongo

Tabla 23: Descripción macroscópica y microscópica del morfo # 8.

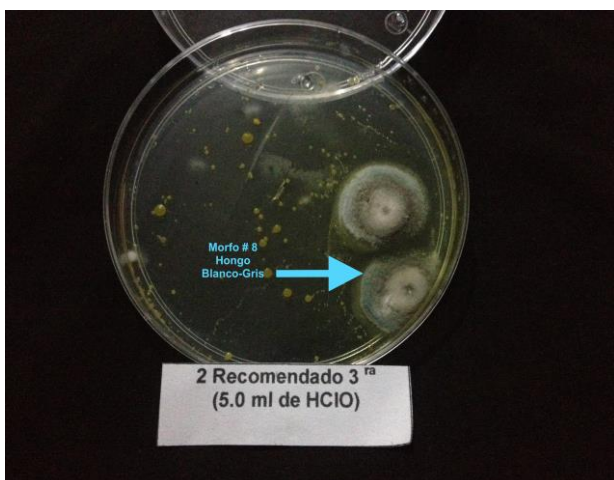


Figura 37. Microorganismos correspondientes al morfo # 8, presentes en el medio de cultivo. Realizando descripción macroscópica de la colonia.

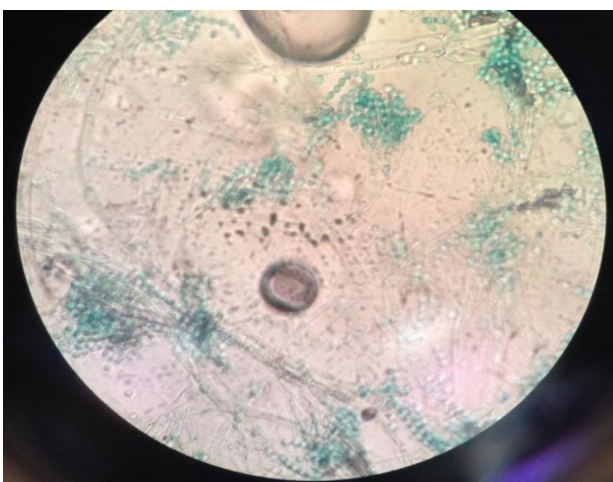


Figura 38. Microorganismos correspondientes al morfo # 8, vistos bajo microscopía óptica a 100X. Realizando descripción microscópica: tinción y morfología. Correspondiente al Género *Penicillium* spp.

### 7.2.4.9 Morfo # 9

Forma de la colonia	Espiculada
Color	Miel
Tamaño de colonia (mm)	2 a 5
Borde	Convexo
Elevación	Irregular
Aspecto	Brillante
Consistencia	Elástica
Tinción simple	Negativa
Morfología	Coco

Tabla 21: Descripción macroscópica y microscópica del morfo # 6.

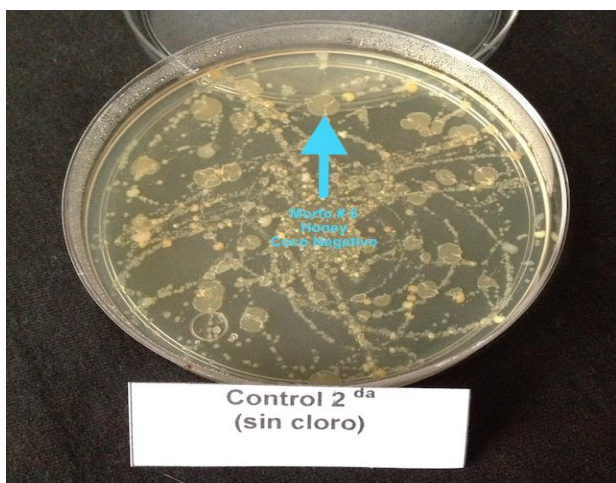


Figura 33. Microorganismos correspondientes al morfo # 6, presentes en el medio de cultivo. Realizando descripción macroscópica de la colonia.

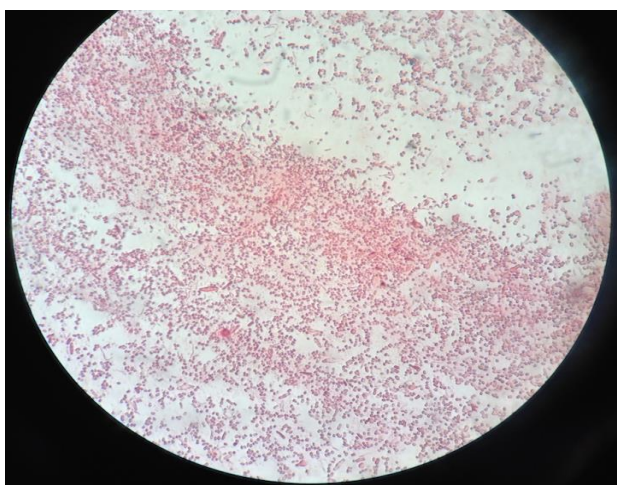


Figura 34. Microorganismos correspondientes al morfo # 6, vistos bajo microscopía óptica a 100X. Realizando descripción microscópica: tinción y morfología.

### 7.3 Microorganismos sobrevivientes al lavado-desinfección de la *pitaya de mayo*

Utilizando el tratamiento R en el lavado-desinfección de 2 pitayas de mayo, los microorganismos sobrevivientes al lavado-desinfección realizando un frotis de la epidermis (control, 1era inmersión, 2da inmersión y 3era inmersión) de los frutos de pitaya de mayo utilizados en este estudio.

#### 7.3.1 Control (Sin lavado)

Control (sin Lavado) D	Morfo # 1	Morfo # 2	Morfo # 3	Morfo # 4	Morfo # 5
Forma	Redondeada	Redondeado	Redondeada	Redondeada	Redondeada
Color	Blanco Azulado	Blanco Translúcido	Amarillo Translúcido	Amarillo Oscuro	Rojo
Tamaño de la colonia (mm)	1.5	4	4	8	1.5
Borde	Plano	Plano	Plano	Plano	Plano
Elevación	Circular	Circular	Circular	Circular	Circular
Aspecto	Brillante	Brillante	Brillante	Opaco	Opaco
Consistencia	Elástica	Elástica	Elástica	Suave	Suave
Tinción	Negativa	Positiva	Negativa	Negativa	Positiva
Morfología	Bacilo	Coco	Bacilo	Coco	coco

Tabla 25.- Características microscópicas y macroscópicas de los microorganismos (morfos) presentes en la epidermis (cáscara) de la pitaya de mayo sin tener un tratamiento previo de lavado-desinfección.

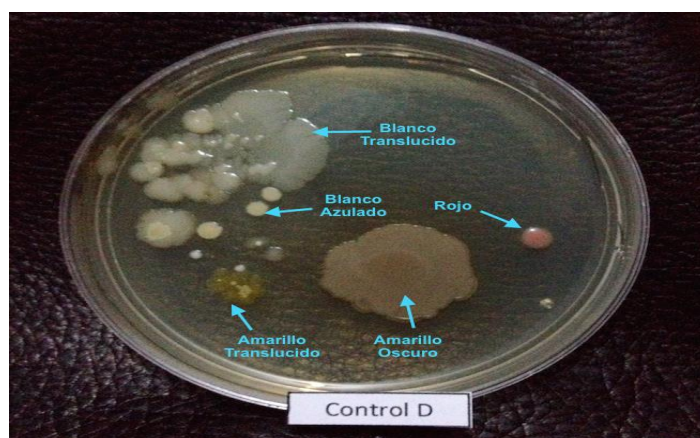


Fig 41.- Microorganismos presentes en la epidermis de la pitaya de mayo sin haber tenido un tratamiento previo de lavado-desinfección.



### 7.3.2 Primera inmersión

1er Lavado D	Morfo # 1	Morfo # 2	Morfo # 3	Morfo # 4	Morfo # 5
Forma	Redondeada	Redondeada	Redondeada		
Color	Blanco Azulado	Blanco Translúcido	Rojo		
Tamaño de la colonia (mm)	3	6	1.5		
Borde	Plano	Plano	Plano		
Elevación	Circular	Circular	Circular		
Aspecto	Brillante	Brillante	Opaco		
Consistencia	Elástica	Elástica	Suave		
Tinción	Negativa	Positiva	Positiva		
Morfología	Bacilo	Coco	coco		

Tabla 26 .- Características microscópicas y macroscópicas de los microorganismos (morfos) presentes en la epidermis (cáscara) de la pitaya de mayo tras exponerlo a una 1era inmersión de lavado-desinfección con la cantidad de NaClO recomendada (2.5ml de NaClO/ 1,0L de agua).

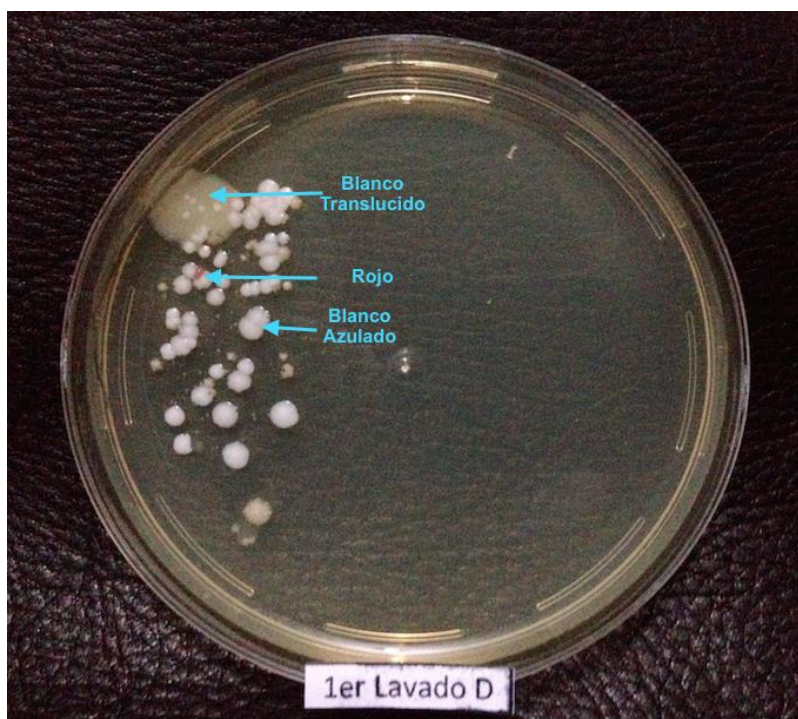


Fig 42.- Microorganismos sobrevivientes en la epidermis de la pitaya de mayo tras exponerlos a una 1era inmersión de lavado-desinfección con la cantidad de NaClO recomendada (2.5ml de NaClO/ 1,0L de agua).

### 7.3.3 Segunda inmersión

2do Lavado D	Morfo # 1	Morfo # 2	Morfo # 3	Morfo # 4	Morfo # 5
Forma	Redondeada	Redondeada			
Color	Blanco Azulado	Rojo			
Tamaño de la colonia (mm)	2	1			
Borde	Plano	Plano			
Elevación	Circular	Circular			
Aspecto	Brillante	Opaco			
Consistencia	Elástica	Suave			
Tinción	Negativa	Positiva			
Morfología	Bacilo	coco			

Tabla 27.- Características microscópicas y macroscópicas de los microorganismos (morfos) presentes en la epidermis (cáscara) de la pitaya de mayo tras exponerlo a una 2da inmersión de lavado-desinfección con la cantidad de NaClO Recomendada (2.5ml de NaClO/ 1,0L de agua).

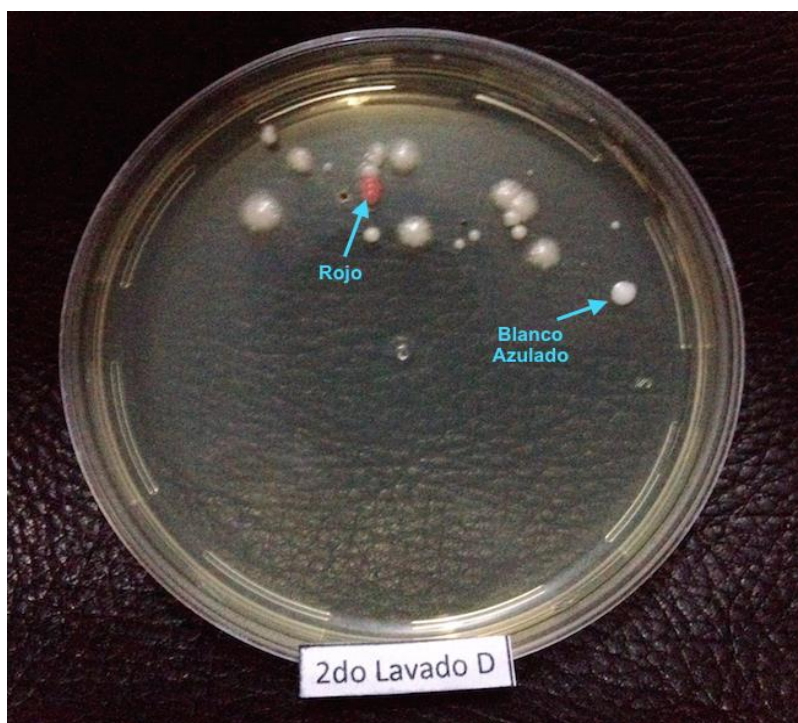


Fig 43.- Microorganismos sobrevivientes en la epidermis de la pitaya de mayo tras exponerlos a una 2da inmersión de lavado-desinfección con la cantidad de NaClO Recomendada (2.5ml de NaClO/ 1,0L de agua).

### 7.3.4 Tercera inmersión

3er Lavado D	Morfo # 1	Morfo # 2	Morfo # 3	Morfo # 4	Morfo # 5
Forma					
Color	x	x	x	x	x
Tamaño de la colonia (mm)					
Borde					
Elevación					
Aspecto					
Consistencia					
Tinción					
Morfología					

Tabla 28.- Características microscópicas y macroscópicas de los microorganismos (morfos) presentes en la epidermis (cáscara) de la pitaya de mayo tras exponerlo a una 3ra inmersión de lavado-desinfección con la cantidad de NaClO Recomendada (2.5ml de NaClO/ 1,0L de agua).

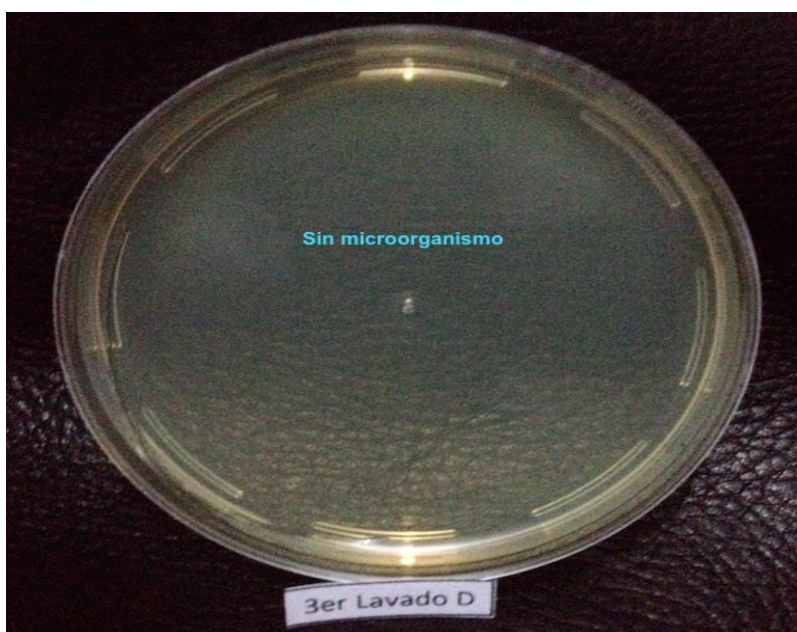


Fig 44.- Microorganismos sobrevivientes en la epidermis de la pitaya de mayo tras exponerlos a una 3ra inmersión de lavado-desinfección con la cantidad de NaClO Recomendada (2.5ml de NaClO/ 1,0L de agua).

Un primer proceso de lavado-desinfección de los frutos xoconostle dulce y pitaya de mayo con NaClO (1.25ml de NaClO/ 1L de H<sub>2</sub>O) disminuye la carga microbiana en la cáscara de los frutos, mostrando que los frutos necesitan de tres procesos de lavado-desinfección para llegar a un 99.9% de esterilidad.

## 7.4 Comparación de características macroscópicas y microscópicas en las colonias de bacterias obtenidas en el presente trabajo versus géneros reportados en frutos de *S. pruinosus* y *S. stelltus*

### 7.4.1 Género *Leuconostoc* versus morfo # 2

El género *Leuconostoc* cuenta con características macroscópicas y microscópicas (Tabla 11) que comparte con nuestro morfo # 2, las cuales nos permiten realizar una identificación de nuestro microorganismo presente en el agua de lavado-desinfección del xoconostle dulce. *Leuconostoc* es un conjunto de bacterias ácido lácticas (BAL) Gram positivas, en forma de cocos o bastones formando cadenas, las colonias normalmente son pequeñas con diámetro 1.0 -7.0 mm, lisas redondas y de color amarillo translúcido a blanco grisáceo, borde plano, aspecto brillante, elevación circular y consistencia elástica (Hernández, 2009).

Características	Morfo # 2	Género <i>Leuconostoc</i>
Forma de la colonia	Redondeada	Redondeada
Color	Amarillo	Amarillo a blanco
Tamaño (mm)	4.42	3.5-7.5
Borde	Plano	Plano
Elevación	Circular	Circular
Aspecto	Brillante	Brillante
Consistencia	Elástico	Elástico
Gram	Positiva	Positiva
Morfología	Cocos	Cocos-ovoides

Tabla 29.- Comparación de características microscópicas y macroscópicas del morfo # 2 con respecto a las características en el género *Leuconostoc*.



#### 7.4.2 Género *Clostridium* versus morfo # 3.

El género *Clostridium* cuenta con características macroscópicas y microscópicas (Tabla 12) que comparte con nuestro morfo # 3, las cuales nos permiten realizar un identificación de nuestro microorganismo presente en el agua de lavado-desinfección del xoconostle dulce. *Clostridium* es un conjunto bacterias Gram positivas en su mayoría, aunque existen Gram negativas en menor proporción como la especie *C. clostridiforme*, *C. ramosus*, en forma de bacilos, las colonias tienen un tamaño variable, lisas, redondas, color blanco-gris translúcido, borde plano, aspecto brillante, elevación circular y consistencia suave (Morris w, Fernandez M, 2009).

Características	Morfo # 3	Género <i>Clostridium</i>
Forma de la colonia	Redondeada	Redondeada
Color	Blanco translúcido	Blanco- Gris translúcido
Tamaño (mm)	2.54	Tamaño variable
Borde	Plano	Plano
Elevación	Circular	Circular
Aspecto	Brillante	Brillante
Consistencia	Suave	Suave
Gram	Negativa	Negativa
Morfología	Bacilo	Bacilo

Tabla 30.- Comparación de características microscópicas y macroscópicas del morfo # 3 con respecto a las características en el género *Clostridium*.

#### 7.4.3 Género *Penicillium* versus morfo # 8.

El género *Penicillium* cuenta con características macroscópicas y microscópicas (Tabla 13) que comparte con nuestro morfo # 8, las cuales nos permiten realizar un identificación de nuestro microorganismo presente en el agua de lavado-desinfección del xoconostle dulce. En *Penicillium*, hongo filamentoso, el conidiofóro es fino alargado y septado esférico, se encuentra en forma de cadena de color verde (color que le proporciona la tinción simple con el azul de lactofenol) las colonias tienen un tamaño variable, de color que va desde los blancos-verdosos a azules, borde aterciopelado con esporulación moderada, produce un exudado usualmente de color amarillo lisas, redondas, color blanco-gris translúcido, borde umbonado, aspecto opaco, elevación filamentosa y consistencia suave (Torrenegra R, Baquero J, 2000).

Características	Morfo # 8	Género <i>Penicillium</i>
Forma de la colonia	Filamentosa	Filamentosa
Color	Blanco con café	Blanco-Gris-Azul
Tamaño (mm)	9.33	Tamaño variable
Borde	Umbonado	Umbonado
Elevación	Filamentoso	Filamentoso
Aspecto	Opaco	Opaco
Consistencia	Suave	Suave
Tinción simple	Azul de lactofenol	Azul de lactofenol
Morfología	Hongo	Hongo

Tabla 31.- Comparación de características microscópicas y macroscópicas del morfo # 8 con respecto a las características en el género *Penicillium*.

#### 7.4.4 Género *Bacillus* versus morfo # 10.

El género *Bacillus* cuenta con características macroscópicas y microscópicas (Tabla 14) que comparte con nuestro morfo # 10, las cuales nos permiten realizar una identificación de nuestro microorganismo presente en el agua de lavado-desinfección del xoconostle dulce. *Bacillus* es un conjunto de bacterias Gram positivas en forma de bacilos, las colonias son lobuladas, con tamaño variable, color blanco-grisáceo translúcido, borde convexo, aspecto brillante, elevación irregular y consistencia dura (Sosa A., et al, 2011).

Características	Morfo # 10	Género <i>Bacillus</i>
Forma de la colonia	Lobulado	Lobulado
Color	Blanco a Gris	Blanco-Grisáceo
Tamaño (mm)	6.1	Tamaño variable
Borde	Convexa	Plana convexa
Elevación	Irregular	Irregular
Aspecto	Brillante	Brillante
Consistencia	Dura	Dura
Gram	Positivo	Positivo
Morfología	Bacilo	Bacilo

Tabla 32.- Comparación de características microscópicas y macroscópicas del morfo # 10 con respecto a las características en el género *Bacillus*.

## 7.5 ANDEVA

Análisis de varianza						
Termino	GI	Suma de Cuadrados	Cuadrado Medio	F-Ratio	Probabilidad	
A: tratamiento	3	2816906	938968.5	2914.92	0.000000*	
B: inmersión	2	1030.75	515.375	1.6	0.242132	
AB*	6	4000.917	666.8195	2.07	0.133525	
S**	12	3865.5	322.125			
Total ajustado	23	2825803				
Total	24					

Tabla 1: Muestra que existe diferencia significativa entre tratamientos pero no existe diferencia en la inmersión, ni en la combinación de tratamientos con respecto a UFC de los microorganismos

\* AB= es el efecto de la interacción entre ambos factores.

\*\* S= es el error experimental que se manifiesta como el residual.

## 8.- CONCLUSIONES

La concentración de NaClO más efectiva en la desinfección del xoconostle dulce y la pitaya de mayo es de 2.5 ml de NaClO / 1.0 L de H<sub>2</sub>O.

El agua de lavado-desinfección con NaClO, sólo resiste tres inmersiones de lotes diferentes de xoconostle dulce o pitaya de mayo antes de que pierda su acción desinfectante.

Los tratamientos C,0.5R, 2R tienen una menor efectividad en el lavado-desinfección de los frutos de xoconostle dulce y pitaya de mayo.

El agua de lavado-desinfección del *xoconostle dulce* y la *pitaya de mayo* presenta 10 morfos diferentes de microorganismos, de los cuales probablemente tres de ellos sean de los géneros *Leuconostoc*, *Clostridium*, y *Penicillium spp*, por presentar características microscópicas y macroscópicas similares.

Los microorganismos encontrados en xoconostle dulce fueron 10 morfos diferentes y en pitaya de mayo se encontraron 9 morfos diferentes y comparten 7 morfos.

En los parámetros químicos (pH, S.S.T. y Acidez total titulable) no existen diferencias significativas entre tratamientos y número de inmersiones por lo que no se ve afectada la calidad del fruto.

## 9.- REFERENCIAS

- Anónimo. *Recuento bacteriano y análisis de agua*. Universidad Técnica Federico Santa María. Departamento de Ingeniería Química y Ambiental. Página en internet [http://www.ramos.utfsm.cl/doc/530/sc/LABORATORIO\\_3.pdf](http://www.ramos.utfsm.cl/doc/530/sc/LABORATORIO_3.pdf)
- Aguilar J., Posada R., 2003. *Evaluación de sólidos solubles, sólidos totales, acidez y pH, en bebidas no carbonatadas sin alcohol*. Tesis para obtener el título de químico-fármaco-biólogo. El salvador. Universidad Salvadoreña Alberto Masferrer. Pág. 29.
- Aquiahuatl Ramos Ma. de los Ángeles, Volke Sepúlveda Tania, Prado Barragán Lilia Arely, Shirai Matsumoto Keiko, Ramírez Vives Florina, 2012, *Manual de prácticas de laboratorio microbiología general*, Universidad Autónoma Metropolitana, 1ra ed, 45-47pp.
- Arias Salvador, Gama López Susana, Guzmán Cruz Leonardo. 1997. *Cactaceae. Flora del valle de Tehuacán-Cuicatlán, Fascículo 14*. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México. México pág. 5-8.
- Arias et al, 2012. *Cactaceae. Flora del valle de Tehuacán-Cuicatlán, Fascículo 95*. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México. México pág.174-183.
- Arreola-Nava, H. 2006. *Sistemática filogenética del género Stenocereus*. Tesis de Doctorado en ciencias, Colegio de Posgraduados, Campus Montecillo, Estado de México. Pág 202.

- Barkai-Golan, R. 2001. *Postharvest Diseases of fruits and vegetables, development and control*. Chapter 9. Ed. Elsevier. New York USA pp 150-159.
- Bonilla B., J.J.; J.C. Martínez G.; R. Roa D.; C. Juárez P. y A. López M. 2001. *Informe final del proyecto 4538. Estudio del potencial y perspectivas de la fruticultura de caducifolios y cactáceas*. SAGARPA-INIFAP-CIRCE-CETECA. s/p.
- Bravo-Hollis H, Sánchez-Mejorada Hernando, 1978. *Las cactáceas de México*. 2da. ed. Vol. I. UNAM, México. Pp. 743.
- Casado C., Torrico G., Medina M., 2012. *Medios de cultivo en un laboratorio de microbiología*. Manual de microbiología. Pág. 3-7.
- CESVBC: Comité estatal de sanidad vegetal de Baja California. *Manual técnico de desinfección poscosecha, sin fecha*.
- Cresswell-Hulme Alfred, 1971. *La bioquímica de frutas y sus productos*. Food science technology: a series of monographs, Volumen 2, Londres, Academic Press. Pág. 780.
- Desrosier, N., 1987. *Elementos de tecnología de alimentos S.A.*, Ed. Compañía Editorial Continental, S.A., México.
- Dimic Gordan R. 2006. *Characteristics of the leuconostoc mesenteroides subsp. Mesenteroides strian from fresh vegetables*. Acta periódica tecnológica 2006 Iss. 37, pp. 3-11.
- Franco D, 2013. *Catálogo ilustrado de cactáceas columnares del valle de Tehuacán-Cuicatlán*. Tesis para obtener el título de biólogo, Universidad Autónoma de México, facultad de estudios superiores Iztacala, Estado de México, México. 2013, pág. 3.
- Fruttero P. 2003. *Revisión Actualizada De Las Soluciones Irrigadoras Endodónticas*. Postgrado de Especialización en Endodoncia, Argentina. Facultad de Odontología de Rosario. pág.7-9.
- González M, Diamont D, Gutierrez B, 2011. *Técnica de tinción de estructuras fúngicas con colorantes vegetales como una alternativa no contaminante*. Bioagro. Volumen 23 (1): 65-68. 2011.
- González I., 2006. *“Desarrollo y aplicación de procesos tecnológicos para la elaboración de conservas a base de pitaya (Stenocereus spp.) de la región*

*mixteca*”, tesis para obtener el título de: ingeniero en alimentos, México. Universidad Tecnológica de la Mixteca, pp. 1-20.

- Hernández V, Carmen 2014. *Microencapsulado de aceite de neem en quitosano. Caracterización y evaluación in vivo*. Tesis de maestría en biotecnología. México. Universidad autónoma Metropolitana – Iztapalapa. Pp. 68-70.
- Hernández I., 2009. *Caracterización e identificación de microorganismos con resistencia a compuestos mercuriales*. Tesis para obtener el grado de maestro en ciencias del medio ambiente y desarrollo integrado. México, Instituto Politécnico Nacional. Pág. 28-45.
- Jiménez-Sierra C., 2011. Las cactáceas Mexicanas y los riesgos que enfrentan. Revista digital universitaria, Volumen 12 Número 1. ISSN: 1067-6079 , 1 de enero del 2011.
- Madigan M., Martinko J., Parker J. 2004. *Brock. Biología de los microorganismos*. Décima edición. Madrid. Pearson. Pág. G-10.
- *Manual de instrucciones HI-3875 Cloro libre rango medio Test kit con checker disc*. HANNA Instruments.
- Martínez González, José Concepción; Bonilla Bada, José Joaquín (2005). *Situación de la pitaya de mayo Stenocereus pruinosus (Otto) Buxbaum en tres localidades de la Mixteca Baja*. Revista de geografía agrícola, enero-junio, 75-90 pp.
- Muñoz A., Vega J., 2014. *Determinación de sólidos solubles en alimentos*. Curso: Análisis instrumental de productos Agroind. Perú. Universidad Nacional del Santa. Pág. 2.
- Morris W, Fernandez M, 2009. *Toxinas de Clostridium perfringens*. Revista Argentina de microbiología, Número 41:251-260 ISSN 0325-7541. 26 Octubre 2009.
- Norma NMX-F-102-5-1978: *Determinación de acidez titulable de frutas y hortalizas*.
- Norma NMX-F-371-S-1987: *Determinación de pH en alimentos*.
- Norma NMX-AA-108-SCFI-2001: *Calidad del agua – Determinación de cloro libre y cloro total*.
- *Pelayo Zaldívar Clara, Dagoberto Castillo Ánimas, Sergio Chatelain Mercado, Gabriel Siade Barquet, Candelario Mondragón Jacobo, Clemente Gallegos*

- Vázquez, 2010. *Manejo poscosecha de la nochtli o tuna (Opuntia spp.)*. Distrito Federal, México. Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa. pp.148-152.
- Pimienta B., 1999. *El pitayo en Jalisco y especies afines en México*. Universidad de Guadalajara, Fundación Produce Jalisco, A. C. Guadalajara, Jal. México. p. 234.
  - Rigola M. 1990. *Tratamiento de aguas industriales: aguas de procesos y residuales*. Barcelona, España. Alfaomega marcombo. Pág. 29.
  - Rosero A., 2011. *Manejo cosecha y postcosecha*. Samaniego. Nariño, Colombia. Pág. 1-2.
  - Santambrosio E., Ortega M., Garibaldi P. 2009. *Tinción y observación de microorganismos*. Catedra de biotecnología, Universidad Tecnológica Nacional. Pág. 1-3.
  - SINAREFI (2012). [http://www.sinarefi.org.mx/redes/red\\_pitaya.html#cajaProyectos](http://www.sinarefi.org.mx/redes/red_pitaya.html#cajaProyectos)
  - Sosa López Acenet, Álvarez-Rivera Victoria Pazos, Borges Marín Giovanni, González García Marleny, Ponce Grijuela Enrique, 2011. *Evaluación del método de conservación en papel filtro en dos cepas de Bacillus subtilis conh, mediante la actividad antogénica frente a Rhizoctonia solani kuhn, Revista fitosanidad, Volumen 15 , No . 1 . Marzo 2011. Pág 45-49.*
  - Torrenegra R, Baquero J, 2000. *Determinación de metabolitos secundarios a partir de una cepa nativa de Penicillium spg 28. aislada del Páramo de Guasca, Departamento de Cundinamarca. Physical Review, Pág 2-3.*
  - Torres Z. María Belén. 2014. *"Eficacia entre hipoclorito de sodio al 2,5% vs hipoclorito de sodio al 5,25%, en la disminución de la carga bacteriana en necrosis pulpar en piezas unirradicales"*. Tesis para obtener el título de Odontóloga. Ecuador. Universidad de Guayaquil. pág.13-21.
  - Yáñez López María de Lourdes, Armella Villalpando Miguel Ángel, Soriano Robles Ramón, Sánchez-Días Dulce María, 2009. *Estudio de tres cactáceas de la Mixteca baja*. Distrito Federal, México. Visión tipográfica, pág. 201.