

# **“Determinación de la cinética de inactivación de la escherichia coli con ozono”**

**Mayra Villacís Aveiga <sup>1</sup>, Ana Maria Costa<sup>2</sup>**

## **RESUMEN**

La industria de alimentos se encuentra actualmente en la necesidad de innovar las tecnologías de procesamiento con la finalidad de satisfacer la demanda del consumidor de productos frescos y microbiológicamente seguros.

A nivel microbiológico el Escherichia coli es una de las especies bacterianas más minuciosamente estudiadas y frecuentemente empleadas como indicador de la calidad higiénica de un alimento. Por otro lado el ozono constituye un efectivo sanitizante caracterizado por su alto potencial de oxidación, que posee propiedades bactericidas y que además no conlleva la formación de residuos peligrosos en los alimentos debido a su espontánea descomposición a oxígeno, puede por tanto ser visto como una alternativa para un proceso alimenticio más ecológico.

El producto elegido para la realización de los experimentos fue el agua, ya que actualmente es la principal industria en nuestro país que utiliza la ozonización como un mecanismo de desinfección microbiana. El presente trabajo de investigación tuvo por objetivo determinar la cinética de inactivación del Escherichia Coli en el agua a través de un tratamiento no térmico como es el caso del ozono.

En este estudio se determinaron las concentraciones y tiempos necesarios para la inactivación del microorganismo (E.Coli). Con estos resultados experimentales y con la ayuda de herramientas estadísticas y matemáticas se determinó el valor del tiempo de reducción decimal (D), y la ecuación de la cinética de inactivación de la Escherichia Coli. Con la finalidad de aprovechar la aplicabilidad de los resultados obtenidos, se hizo el ajuste de la ecuación encontrada para la cinética de inactivación del microorganismo en el agua, ahora aplicándola para el proceso de lavado y desinfección de frutas (uvas y manzanas).

---

<sup>1</sup> Ingeniero de Alimentos 2006; email: [gvillaci@espol.edu.ec](mailto:gvillaci@espol.edu.ec)  
Director de Tesis. Ingeniera de Alimentos, Escuela Superior Politécnica del Litoral, 2006, Maestría en Docencia, Escuela Superior Politécnica del Litoral, 2003, Atta Especialización en Tecnología de Alimentos, Universidad Politécnica de Valencia, 1992, Profesor de ESPOL desde 1998 ; email: [acosta@espol.edu.ec](mailto:acosta@espol.edu.ec)

# “ DETERMINATION OF THE KINETICS OF INACTIVATION OF ESCHERICHIA COLI WITH OZONE”

**MAYRA VILLACÍS AVEIGA <sup>1</sup>, ANA MARIA COSTA<sup>2</sup>**

## **Summary**

The food industry is at the moment in the necessity to innovate the technologies of processing with the purpose of satisfying the demand of the consumer with fresh and microbiologically safe products.

At microbiological level the Escherichia coli is one of the frequently used bacterial studied like indicator of the hygienic quality of food. On the other hand ozone constitutes a powerful sanitizer characterized by its high potential of oxidation, that has bactericidal properties and that, in addition, does not entail the formation of dangerous residuals in foods due to its spontaneous decomposition to  $O_2$ , it can therefore be seen like an alternative for a more ecological Food process.

The product chosen for the accomplishment of the experiments was the water, since at the moment it is the main industry in our country that uses the ozonization like a mechanism for microbial disinfection. The present work of investigation had by objective to determine the kinetic one of inactivación of the Escherichia Coli in the water through a non-thermal treatment as it is the case of ozone.

In this study the concentrations and necessary times for the inactivación of microorganism (E.Coli) were determined. With these experimental results and the help of statistical and mathematical tools we determined the value of the time of reduction decimal (D), and the equation of the kinetic of inactivación of the Escherichia Coli. With the purpose of taking advantage of the applicability the obtained results, we adjusted the equation that we found for the kinetic one of inactivación of the microorganism in the water, now applying it for the washing process and disinfection of fruits (grapes and apples).

---

<sup>2</sup> Ingeniero de Alimentos 2006; email: [gvillaci@espol.edu.ec](mailto:gvillaci@espol.edu.ec)  
Director de Tesis. Ingeniera de Alimentos, Escuela Superior Politécnica del Litoral, 2006, Maestría en Docencia, Escuela Superior Politécnica del Litoral, 2003, Atta Especialización en Tecnología de Alimentos, Universidad Politecnica de Valencia, 1992, Profesor de ESPOL desde 1998 ; email: [acosta@espol.edu.ec](mailto:acosta@espol.edu.ec)

## **INTRODUCCIÓN**

El ozono tiene un interesante uso industrial como precursor en la síntesis de algunos compuestos orgánicos, y sobre todo, como desinfectante mediante los generadores de ozono. Su principal propiedad es que es un fortísimo oxidante. Una de las ventajas más importantes del OZONO, con respecto a otros bactericidas es que este efecto se pone de manifiesto a bajas concentraciones (0,01 p.p.m. o menos) y durante periodos de exposición muy cortos. Cuando se expone a la bacteria en el agua al ozono, la bacteria empieza a absorber la molécula de ozono inmediatamente.

Estas moléculas de ozono (O<sub>3</sub>) se rompen en cuestión de segundos, y cuando esto sucede, la bacteria literalmente explota, dejando solamente oxígeno y agua. Utilizando esta característica del ozono realizamos la determinación de la cinética de inactivación de la E.Coli utilizando como medio de destrucción al ozono.

## **CONTENIDO**

Durante años se han realizado trabajos para establecer el poder relativo del cloro y del ozono frente a virus y bacterias y por lo tanto se pueden aportar datos que demuestran que el ozono es como desinfectante, mucho más eficaz que el cloro.

La utilización del ozono en el procesamiento de alimentos como una técnica alternativa está siendo adoptada para el tratamiento del agua y sistemas sanitarios.

### **Indicadores Microbiológicos**

Algunos microorganismos pueden ser utilizados como indicadores en un ambiente específico que ha sido contaminado. Estos deben pertenecer a especies que representen fielmente las características del medio, deben ser confiables y fácilmente identificables.

Los indicadores microbiológicos ideales deben reflejar no solamente la presencia o ausencia de contaminación de un tipo específico, sino también los niveles de dicha contaminación y sus fluctuaciones periódicas.

### **Escherichia Coli**

E. coli es una de las especies bacterianas más minuciosamente estudiadas, y no solamente por sus capacidades patogénicas, sino también como sustrato y modelo de investigaciones metabólicas, genéticas, poblacionales y de diversa índole. Se trata de bacterias de rápido crecimiento y amplia distribución en el suelo, el agua, vegetales y gran variedad de animales.

La bacteria se transmite por:

- a) consumo de alimentos insuficientemente cocidos o crudos
- b) ingestión de agua contaminada
- c) contacto persona a persona
- d) contacto con materia fecal de animales

## Diseño Experimental

Los diseños clásicos de experimento, como el diseño factorial por ejemplo, ha demostrado ser poco preciso cuando debe ser aplicado en sistemas biológicos donde las observaciones son dependientes entre si mismas además de ser dependientes con respecto a la variable tiempo, es decir son doblemente dependientes. Esto hace poco útil el uso de los sistemas tradicionales de experimentos en los cuales existe simple o no dependencia.

### Determinación del tiempo de Reducción Decimal

El Tiempo de Reducción Decimal, mejor conocido como "valor D", se define como el tiempo que se requiere para reducir en un 90% la población microbiana de un microorganismo determinado a una temperatura específica. Mide la rapidez con la que un microorganismo muere.

Partiendo de esta definición, se calculo el tiempo de reducción decimal (valor D) pero utilizando como mecanismo de destrucción del microorganismo la concentración de Ozono, en vez de temperatura.

Se realizo los experimentos necesarios para la obtención del valor D.

Se utilizaron 3 concentraciones de Ozono y se cuantifico su capacidad para reducir la concentración de unidades formadoras de colonias de E.coli.

Se realizaron dos ensayos en cada prueba a fin de contrastar los resultados.

Las siguientes tablas muestran los resultados promedios para las concentraciones de 1.2ppm, 0.52ppm y 0.2ppm de ozono respectivamente.

Concentración de ozono				
Intento	1.2	0.52	0.2	Total
1	3.06	3.38	17.59	24.03
2	2.86	3.41	16.93	23.2
Total	5.92	6.79	34.52	47.23

El único sistema que ha probado ser muy eficiente es una combinación de diseño factorial y diseño de experimento con factores anidados. Esta combinación es llamada "repeated measures". En este modelo el número de repeticiones debe ser igual al número de factores que se van a evaluar + 1. En este caso el único factor que se evalúa es la concentración de ozono

Luego se realizo el análisis de medidas repetitivas para contrastar las diferencias entre los experimentos del valor D, y se obtuvo los siguientes resultados, determinando así que no había diferencia significativa entre los experimentos.

Luego se intento determinar la grafica para el valor D, pero al obtenerse una curva, la cual tiene diferente pendiente en los diferentes puntos, se realizo el método del efecto polinomial, para lo cual también se utilizo el contraste y la anova de bloques repetitivos Luego se obtuvo que el modelo que mejor predice

el comportamiento de la cinética de inactivación del m.o. es el método log/cuadrático definido por la ecuación:

$$F = 2.75(10^{1.98(\log C)^2})C^{0.24} \left(\log \frac{N_0}{N_f}\right)$$

## CONCLUSIONES

Se pudo comprobar la eficacia de la utilización del ozono como un poderoso agente sanitizante para desinfección de agua, y sus ventajas con respecto a otros compuestos.

La inactivación de E. Coli con el ozono sigue una cinética de inactivación de primer orden con un valor de D de 3 segundos cuando es tratado con una concentración del ozono de 1.2 ppm, y con un valor D de 3.4 segundos cuando es tratado con una concentración de 0.52 ppm de ozono. Lo cual hace de este rango el mas indicado para trabajar, ya que en concentraciones menores (0.2ppm), se requiere de una mayor tiempo de contacto para lograr la reducción de un log (D= 17 segundos).

Se pudo determinar y comprobar que la Escherichia Coli sigue una cinética de inactivación de primer orden con respecto al tiempo, pero no así con respecto a la concentración de ozono.

Luego de realizar los análisis correspondientes se determino que la E. Coli sigue una cinética de inactivación con respecto a la concentración de Ozono de segundo orden, mas específicamente de la forma Log -cuadrática.

Se obtuvo el siguiente modelo:

La Ecuación encontrada para la cinética de inactivación de la E.Coli en agua, es también aplicable en frutas ( manzanas, uvas), pero se debe ajustar la ecuación con un factor de corrección que resulto ser de 1.15 para la manzana y de 1.23 para la uva.

## REFERENCIAS

<http://www.tecnozono.com/ozono.htm>

Kim J-G, Yousef AE, Dave S.. Application of ozone for enhancing the microbiological safety and quality of foods: a review. Journal of Food Protection, 1999, 62(9):1071-87.

Flowers Russell, Doyle Michael Bacteria Associated with Foodborne Diseases, AUGUST 2004, INSTITUTE OF FOOD TECHNOLOGISTS

Doyle MP, Food microbiology: fundamentals and frontiers, Beuchar LR, Montville TJ, editors, Washington, DC, 2001 ASM Press. 872 p

Hunt NK, Marias BJ, Kinetics of Escherichia coli with ozone. Water Research, 1997, 31(6):1355-62.

Khadre MA, Yousef AE, Kim JG. Microbiological aspects of ozone applications in food: a review. Journal of Food Science, 2001, 66(9):1242-52.

Kim J-G, Yousef AE, Dave S.. Application of ozone for enhancing the microbiological safety and quality of foods: a review. Journal of Food Protection, 1999, 62(9):1071-87.

Mermelstein NH.. Use of ozone for food processing. Food Technology, 1997, 51(6):72-5.

Splittstoesser DF, Mclellan MR, Churey JJ. Heat resistance of Escherichia coli O157:H7 in Apple Juice. Journal of Food Protection, 1995, 59(3):226-9.

Williams RC, Sumner SS, Golden DA. Inactivation of Escherichia coli O157:H7 and Salmonella in apple cider and orange juice treated with combinations of ozone, dimethyl dicarbonate, and hydrogen peroxide. Journal of Food science, 2005, 70(4):M197-M201.

Montgomery, D.C. Design and Analysis of Experiments, 6th Ed. J. Wiley (2005).