

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO.

UNIDAD LAGUNA.

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL.



**"EVALUACIÓN DE LA EFICIENCIA EN EL CONTROL DE HONGO EN FVH
MEDIANTE EL USO DE PRODUCTOS QUÍMICOS"**

POR:

RAMÓN PRINCE ARREOLA.

TESIS.

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER

EL TÍTULO DE:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA.

TORREÓN, COAH., MÉXICO.

JUNIO DE 2014

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO.
UNIDAD LAGUNA.
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL.



EVALUACIÓN DE LA EFICIENCIA EN EL
CONTROL DE HONGO EN FVH MEDIANTE EL
USO DE PRODUCTOS QUÍMICOS


POR:

RAMON PRINCE ARREOLA

TESIS

APROBADA POR EL COMITÉ PARTICULAR DE ASESORIA.

DR. FERNANDO ULISES ADAME DE LEÓN.
PRESIDENTE DEL JURADO.


MCV. RAMÓN ALFREDO DELGADO GONZÁLEZ.
COORDINADOR DE LA DIVISIÓN REGIONAL
DE CIENCIA ANIMAL.



Coordinación de la División
Regional de Ciencia Animal



TESIS POR:

RAMÓN PRINCE ARREOLA

**"EVALUACIÓN DE LA EFICIENCIA EN EL CONTROL DE HONGO EN FVH
MEDIANTE EL USO DE PRODUCTOS QUÍMICOS"**

**TESIS ELABORADA BAJO LA SUPERVISIÓN DEL COMITÉ PARTICULAR DE
ASESORÍAS Y APROBADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER**

EL TÍTULO DE:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA.

DR. FERNANDO ULISES ADAME DE LEÓN.

PRESIDENTE DEL JURADO.

Suplente
MC. MARGARITA Y. MENDOZA RAMOS

VOCAL 1.

Hernández
PHD. JUAN DAVID HERNÁNDEZ BUSTAMANTE.

VOCAL 2.

Gaeta
M.V.Z. JESÚS GAETA COVARRUBIAS.

VOCAL SUPLENTE.

TORREÓN. COAH. MÉXICO

JUNIO DE 2014

DEDICATORIA.

A mis padres: **sr. Ramón Prince Almaraz, Sra. Blanca E. Arreola Castrejón y a mis hermanos Dalia Prince Arreola y Carlos Prince Arreola.**

Para mi familia que siempre me enseñó a no rendirme a pasar de momentos difíciles a seguir adelante prepararme cada día y no dejarme vencer sin antes luchar, gracias por todo lo que han hecho por mí aquí termina una etapa de mi vida e inicia otra que con mucha fe y dedicación estará llena de éxitos que seguiré compartiendo con todos ustedes gracias por todo su apoyo y amor incondicional.

Dr. Fernando Ulises Adame de León. Para usted Dr. Gracias por todo su apoyo por su ayuda su paciencia durante toda esta etapa de estudiante. Ha sabido escucharme y ayudarme siempre que lo he necesitado. Gracias por todo nunca olvidare todo lo que hizo por mí. Con respeto y admiración de su amigo Ramón Prince Arreola.

AGRADECIMIENTOS.

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro por la formación que me brindó durante estos años.

A mis sinodales **Dr. Fernando Ulises Adame De León** (asesor principal), **MC. Margarita Y. Mendoza Ramos**(vocal)**Dr. Juan David Hernández Bustamante** (vocal) y**M.V.Z Jesús Gaeta Covarrubias** (vocal suplente) Por su paciencia y dedicación que me pusieron para realizar este trabajo.

A mis amigos, gracias por estar conmigo siempre en los buenos y malos momentos.

Tabla de contenido.

Resumen.....	vii
Palabras claves: control, hongos, maíz, trigo, forraje verde hidropónico, ozono, cal, sorbato de potasio, benzoato de sodio, hipoclorito de sodio, eficaz.	vii
I.-Introducción.....	1
II.-Justificación.....	2
III.-Objetivos.	4
3.1.-Objetivo general:	4
3.2.-Objetivos específicos:	4
V.- Resultados Esperados.....	5
VI.-Antecedentes generales.	5
6.1.-Benzoato de sodio.	6
6.2.-Sorbato de potasio.	7
6.3.-Cal.....	8
6.3.1.-Microorganismos, virus y PH.....	9
6.3.2.-Rangos de PH para la sobrevivencia.....	9
6.3.4.-Control de hongos productores de aflatoxinas en granos almacenados.	10
6.3.5.-Control de bacterias.	11
6.4Hipoclorito de sodio.	12
6.4.1Características del hipoclorito de sodio	12
6.4.2.-Como afecta el PH al añadir hipoclorito de sodio.....	13
6.4.3.-Ventajas y desventajas de la utilización de hipoclorito de sodio.	13
6.4.3.1.-Ventajas.	13
6.5.-Ozono.....	14
6.5.1.-Historia del ozono.....	15
6.5.2.-Características del ozono	16

6.5.3.-Generación del ozono.	16
6.5.4.-Ventajas y desventajas del ozono.	17
6.5.4.1.-Ventajas.	17
6.5.4.2.-Desventajas.	17
6.5.5.-El Ozono en la Industria.	18
6.5.6.-El Ozono como Desinfectante y Desodorizante.....	19
6.5.7.-Desinfección del Agua.....	19
VII.-Materiales y Metodología.....	21
7.1.-Descripción de equipo instalado en invernadero.	21
7.2.-Los tratamientos que se evaluaron se describen a continuación:.....	22
7.3.-Control negativo riego Sorbato- benzoato.	23
7.4.-Control positivo.	23
7.5.-Materiales.	23
7.6.-Procedimiento.	24
7.6.1.-Tratamiento de semilla con ozono.....	24
7.6.2.-Tratamiento de semilla con cal.....	25
7.6.3.-Tratamiento de semilla con cloro.....	26
7.6.4.-Tratamiento de semilla con agua natural.....	26
7.6.5.-Riego de las semillas.	27
7.6.6.-Procedimiento del muestreo.....	28
7.7.-Cultivo en laboratorio	28
7.7.1.- Objetivos.....	31
7.7.2.-Procedimiento.	31
VIII.-Resultados.....	33
8.1.-Presencia macroscópica de hongos.....	33
8.2.-Olor de semillas.	35

8.3.-Presencia microscópica de hongos.....	37
8.4.-Temperatura y humedad promedio del día 1 al 10.	40
8.5.-PH promedio del agua con los diferentes agentes químicos del día 1 al 10.	40
IX.-Discusión.	41
X.-Conclusiones.	42
XI.-Bibliografía.....	43

Índice de figuras.

Ilustración 1tratamiento de semilla7.6.1.-Tratamiento de semilla con ozono.....	24
Ilustración 2riego de semillas7.6.5.-Riego de las semillas.....	27

Resumen.

La presente investigación se realizó en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro Unidad Laguna, ubicada en periférico Raúl López Sánchez carretera a santa fe, en el municipio de Torreón Coahuila, en la cual se evaluaron cuatro tipos de tratamientos químicos en semillas de trigo y maíz para el control de hongo en forraje verde hidropónico. Para esto, se utilizaron tratamientos de desinfección durante la hidratación de la semilla de maíz y trigo aplicando 50 gr de cal por litro de agua, 4% de hipoclorito de sodio, y tres tiempos de 5 minutos de ozono en agua. Además de aplicar estos agentes en el agua de riego y también de la aplicación de benzoato de sodio y sorbato de potasio al 1%. Evaluando estos agentes químicos mediante la toma de muestras en el día 2, 5 y 10 para observar en laboratorio de microbiología cual método es el más eficaz para eliminar microorganismos patógenos (hongos) en el FVH. Los mejores resultados se obtuvieron mediante el tratamiento de semillas en agua con cal y riego con agua con cal, semillas tratadas con agua con cal y riego con sorbato de potasio y benzoato de sodio, semillas tratadas con ozono y regadas con cal, semillas tratadas con cal regadas con ozono. Y el que demostró ser más eficaz fue las semillas tratadas y regadas con agua y ozono siendo este el que demostró nulo crecimiento de hongos en laboratorio.

Palabras claves: control, hongos, maíz, trigo, forraje verde hidropónico, ozono, cal, sorbato de potasio, benzoato de sodio, hipoclorito de sodio, eficaz.

I.-Introducción.

La Hidroponía es un sistema de cultivo de alto rendimiento que requiere de poco espacio y de una mínima cantidad de agua. En esencia, esta tecnología se caracteriza por alimentar el sistema radicular con agua y minerales, de forma controlada y teniendo como medio de cultivo un sustrato diferente a la tierra, esto es, se puede cultivar en agua, grava, lana de roca o cualquier otro material inerte (Rodríguez S, 2003(1.)). Aun cuando sea vista por tener poco que ofrecer en países donde la tierra es fértil y donde el cultivo de pastos y cereales tienen un predominio total (Rodríguez de la Rocha (3.)). La producción de Forraje Verde Hidropónico (FVH) representa una alternativa para los ganaderos de regiones en donde se presentan limitaciones en cuanto a disponibilidad de agua, factores climáticos o de tierras laborables.

El forraje verde hidropónico (FVH) es una tecnología de producción de biomasa vegetal obtenida a partir del crecimiento inicial de las plantas en los estados de germinación y crecimiento temprano de plántulas a partir de semillas viables (cebada, avena, vicia, maravilla). El FVH es un pienso o forraje vivo, de alta digestibilidad, calidad nutricional y muy apto para la alimentación animal, producido muy rápidamente (9 a 15 días), en cualquier época del año y en cualquier localidad geográfica, siempre y cuando se establezcan las condiciones mínimas necesarias (documento de FAO (5.)). Dentro del contexto anterior, el FVH representa una alternativa de producción de forraje para la alimentación de corderos, cabras, terneros, vacas en ordeña, caballos de carrera, otros rumiantes, conejos, pollos, gallinas ponedoras, patos, entre otros animales domésticos y es especialmente útil durante períodos de escasez de forraje verde.

II.-Justificación.

El FVH es un alimento (forraje vivo en pleno crecimiento) verde, de alta palatabilidad para cualquier animal y excelente valor nutritivo (Chen, 1975; Less, 1983; Níguez, 1988; Santos, 1987; y Dosal, 1987).

Un gran número de experimentos y experiencias prácticas comerciales han demostrado que es posible sustituir parcialmente la materia seca que aporta el forraje obtenido mediante métodos convencionales, así como también aquel proveniente de granos secos o alimentos concentrados por su equivalente en FVH. El FVH ha demostrado ser una herramienta eficiente y útil en la producción animal. Brevemente, entre los resultados prácticos más promisorios se ha demostrado:

- aumento significativo de peso vivo en corderos precozmente destetados al suministrarles dosis crecientes de FVH hasta un máximo comprobado de 300 gramos de materia seca al día (Morales, 1987).
- aumento de producción en aves domésticas (pollos, gallinas, patos, gansos, etc.) a partir del uso del FVH (Falen y Petersen, 1969 y Bull y Petersen, 1969 citados por Bravo Ruiz, 1988), lográndose sustituir entre un 30 a 40 % de la dosis de ración peleteada pero asociado al riesgo, en casos de exceso en el uso de FVH, de un incremento de excreta de heces líquidas y fermentaciones aeróbicas del estiércol, malos olores de los locales, aumento de insectos voladores no deseados y aumento de enfermedades respiratorias especialmente en verano.

- ganancia de peso en cerdos con una alimentación en base a FVH “ad libitum” (Sánchez, 1996 y 1997).
- aumento de producción en vacas lecheras a partir del uso de FVH obtenido de semillas de avena variedad “Nehuén” y cebada cervecera variedad “Triumph” existiendo también en este caso antecedentes en el uso del maíz, sorgo, trigo, arroz y triticale. (Sepúlveda, 1994).
- sustitución en conejos, de hasta el 75% del concentrado por FVH de cebada sin afectar la eficiencia en la ganancia de peso alcanzándose el peso de faena (2,1 a 2,3 kg de peso vivo) a los 72 días. Estos resultados han tenido un alto impacto técnico, económico y social en Uruguay (Rincón de la Bolsa) posibilitando la generación de ingresos, la alimentación familiar y el mantenimiento de la producción a mini productores cunícolas afectados por los altos costos de los concentrados (Sánchez, 1997 y 1998)
- La eficiencia del sistema de producción de FVH es muy alta. Estudios realizados en México (Lomelli, 2000), con control del volumen de agua a aplicar, luz, nutrientes y CO₂ (anhídrido carbónico), demostraron que a partir de 22 kg de semillas de trigo es posible obtener en un área de 11,6 m² (1.89 kg semilla/m.c.) una óptima producción de 112 kg de FVH por día (9.65 kg FVH/m²/día).

En todos los resultados mencionados anteriormente el sistema de producción de FVH ha posibilitado obtener mayor calidad de carne; aumento del peso vivo a la fecha de faena; aumento en la proporción de pelo de primera en el vellón de conejos; mayores volúmenes de leche; aumento de la fertilidad; disminución de

los costos de producción por sustitución parcial de la ración por FVH (Hidalgo, 1985; Morales, 1987; Pérez, 1987; Bravo, 1988; Valdivia, 1996; Sánchez, 1997; Arano, 1998).

III.-Objetivos.

3.1.-Objetivo general:

Objetivos de la Producción de FVH "Obtener rápidamente, a bajo costo y en forma sostenible, una biomasa vegetal sana, limpia y de alto valor nutritivo para alimentación animal"

3.2.-Objetivos específicos:

2.2.1.- Producción de Forraje Verde Hidropónico (FVH)

2.2.2.- Control de hongos en el forraje verde hidropónico utilizando:

- Cloro
- Cal
- Benzoato de sodio y Sorbato de potasio al 1%
- Ozono

IV.-Hipótesis.

El uso de desinfectantes como: ozono, cal, hipoclorito de sodio, sorbato de potasio y benzoato de sodio inhiben el desarrollo de hongos en el FVH.

V.- Resultados Esperados.

- Producir un forraje libre de hongos e inocuo para la alimentación del ganado.
- Comprobar cual método de desinfección es el más adecuado.

VI.-Antecedentes generales.

El doctor Marco Antonio Arellano García, especialistas del Centro de Investigaciones en Química Aplicada (CIQA), ha notado que las sequías y heladas de los últimos meses han limitado la disponibilidad de alimento en los agostaderos (sitio donde pasta el ganado) y provocado la muerte de animales.

Por ello inició una investigación en la que buscaba producir forraje verde en un módulo de 200 metros cuadrados con poca agua, de tal manera que pudiera alimentar a más de 100 cabezas de ganado caprino.

El doctor indicó que en estos invernaderos también se controlarían variables como la cantidad de semilla y fertilizante a utilizar, así como los niveles de radiación que debían permitirse.

Al transferir esta tecnología a los productores, estos reportaron la aparición de hongos fusarium moniliforme y a rhizopus sp. En el forraje verde hidropónico, el cual puede ocasionar infecciones en el ganado si llega a ser consumido.

En función de ello se decidió buscar productos químicos inocuos que les permitieran eliminar a los patógenos.

Los productos elegidos fueron dos conservantes (sustancia utilizada como aditivo en los alimentos para detener o minimizar el daño causado por microorganismos) empleados en la industria harinera: el sorbato de potasio y el benzoato de sodio; los cuales no sólo fueron inocuos sino que ofrecieron los mismos resultados que el ozono, sustancia usada como desinfectante en sistemas de producción hidropónica en Estados Unidos.

6.1.-Benzoato de sodio.

Como aditivo alimentario es usado como conservante, matando eficientemente a la mayoría de levaduras, bacterias y hongos. El benzoato sódico sólo es efectivo en condiciones ácidas ($\text{pH} < 3,6$) lo que hace que su uso más frecuente sea en conservas, en aliño de ensaladas (vinagre), en bebidas carbonatadas (ácido carbónico), en mermeladas (ácido cítrico), en zumo de frutas (ácido cítrico) y en salsas de comida china (soja, mostaza y pato). También se encuentra en enjuagues de base alcohólica y en el pulido de la plata. Más recientemente, el benzoato sódico viene estando presente en muchos refrescos como Sprite, Fanta, Sunkist, Dr. Pepper y Coke Zero. El sabor del benzoato sódico no puede ser detectado por alrededor de un 25% de la población, pero para los que han probado el producto químico, tienden a percibirlo como dulce, salado o a veces amargo. (Lück y Jager. 2000).

El Programa Internacional sobre la Seguridad Química no encontró ningún efecto nocivo en seres humanos para dosis de 647-825 mg/kg de masa corporal por día.

El Comité Mixto FAO / OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios (JECFA) ha evaluado el ácido benzoico y sus sales varias veces y encontraron que son aceptables para su uso en los alimentos. La última revisión se llevó a cabo en 1997.

Cerca de 50 países en cinco regiones del Codex permiten el uso de ácido benzoico y sus sales en los niveles de 1.000 ppm o mayores. Estos países incluyen los Estados Unidos, Canadá y México. (FAO 1997)

6.2.-Sorbato de potasio.

El sorbato de potasio es un conservante suave cuyo principal uso es como conservante de alimentos. También es conocido como la sal de potasio del ácido sórbico (número E 202). Su fórmula molecular es $C_6H_7O_2K$ y su nombre científico es (E, E)-hexa-2,4-dienoato de potasio. El sorbato de potasio es utilizado en una variedad de aplicaciones incluyendo alimentos, vinos y cuidado personal. (Milk science, 2007).

Usos En bebidas industriales como gaseosas, agua saborizadas, etc... Su administración en el caso de tratamiento para la deshidratación por enterocolitis puede agravar el cuadro por acarrear diarreas osmóticas graves. El Sorbato es utilizado para la conservación de tapas de empanadas, pasta, pre-pizzas, pizzas congeladas, salsa de tomate, margarina, quesos para untar, rellenos, yogur, jugos, frutas secas, embutidos, vinos etc. (barbosa, et al. 1999).

Este compuesto no debe ser utilizado en productos en cuya elaboración entra en juego la fermentación, ya que retarda el crecimiento de las levaduras y otros tipos de hongos...También retarda el crecimiento de bacterias. En caso de utilizar combinaciones de Sorbato de potasio con otros conservantes debe tenerse la precaución de no introducir iones calcio ya que se produce una precipitación. Por lo tanto en las combinaciones con Sorbato de potasio utilizar Propionato de Sodio y no de Calcio para una óptima acción sinérgica. (Lück y Jager. 2000)

6.3.-Cal.

Los sorprendentes resultados obtenidos con la utilización del hidróxido de calcio $\text{Ca}(\text{OH})_2$, en el combate de algunas bacterias, hongos, nemátodos e insectos que afectan a la producción agrícola. El control con este producto se basa en el manejo de soluciones súper-alcalinas obtenidas de mezclar en agua, hidróxido de calcio y un agente tensoactivo. El compuesto resultante se asperja sobre los vegetales en forma similar a cualquier plaguicida. Este líquido también sirve para desinfectar frutos o productos vegetales en post-cosecha. Otra forma de control, se logra espolvoreando sobre las semillas $\text{Ca}(\text{OH})_2$ micronizado para controlar insectos y hongos que atacan a los granos almacenados.

El hidróxido de calcio presenta un gran potencial para utilizarse como biocida en la agricultura, desinfectante en medicina clínica veterinaria y en seres humanos. Además, este compuesto cálcico no es fitotóxico; es fácil de usar, barato e inocuo al medio ambiente y al hombre. (Salazar 1994)

La historia de la protección química de los cultivos, se puede separar en tres etapas. En ellas se han descubierto todos los plaguicidas existentes. La primera etapa. Comprende desde los orígenes de la civilización hasta 1867; en esta etapa se descubrió el "Poli sulfuro de Calcio", CaS_2 , CaS_6 , el cual todavía se utiliza como insecticida-acaricida-fungicida.

La Segunda etapa abarca 1867 a 1939. En 1885 se desarrolla el popular compuesto conocido como "Caldo Bordelés" - sulfato de cobre + óxido de calcio + agua - que se utilizó profusamente en el control de enfermedades de la vid y de la papa. Esta etapa se cierra con el descubrimiento del DDT. Finalmente, durante la tercera etapa, que se inicia en 1939 y llega hasta nuestros días, se han descubierto la mayoría de los plaguicidas modernos. Larrea, E., Ruiz, E. y Jiménez, B. (1984) encuentran que el hidróxido de calcio $\text{Ca}(\text{OH})_2$ en suspensión acuosa es un desinfectante eficaz para combatir los patógenos de las semillas que se utilizan en la producción de forraje "tipo hidropónico".

Passos Guimaraes, J. E. Y Rubio Filho, J. N. (1985), de 'la Asociación de Productores de Cal de Brasil, reportan el efecto biocida del hidróxido de calcio en el control de insectos y ácaros que atacan a las aves, larvas de moscas en gallineros, microorganismos que atacan a la lana de los borregos, huevecillos de insectos en árboles frutales y el control de patógenos en frutos post-cosecha. (Rodríguez 2004)

6.3.1.-Microorganismos, virus y PH.

Si se relaciona a las bacterias, hongos y nemátodos con el pH a los que pueden vivir y multiplicarse, se encuentra que ninguno de estos microorganismos puede sobrevivir a un pH superior a 10, Y que los virus, inician su desintegración a un pH de 11. La tabla siguiente consigna esta información. (Quiles 2003)

6.3.2.-Rangos de PH para la sobrevivencia.

Bacterias	0.0 A 10.0 PH
Hongos	3.0 A 10.0 PH
Virus	----- A 11.0 PH
Nemátodos	5.0 A 9.0 PH

6.3.3.-Suspensiones acuosas de algunos compuestos cálcicos y su PH.

Después de relacionar el pH con la sobrevivencia de los microorganismos y la alcalinidad máxima que pueden soportar los virus, se buscaron productos que produjeran rápidamente una elevación del pH y que a su vez fueran de fácil adquisición y relativamente inocuos a los animales vertebrados. Se probaron los siguientes: Carbonato de Calcio, Oxido de Calcio, Hidróxido de Calcio, Hidróxido de Bario e Hidróxido de Sodio. El Hidróxido de Calcio micronizado se comportó como el compuesto cálcico que más rápidamente incrementó el pH del agua. En consecuencia se adoptó como el producto base de las pruebas para medir el efecto biocida de la cal. (Lenntech 2004)

6.3.4.-Control de hongos productores de aflatoxinas en granos almacenados.

A los hongos que invaden los granos o semillas en las bodegas se les llaman "hongos de almacén", y constituyen una de las principales causas de la pérdida de viabilidad de las semillas. Los principales géneros de hongos que afectan a las semillas almacenadas son: *Aspergillus* spp.; *Fusarium* spp. y *Penicillium* spp., todos ellos producen micotoxinas. De éstas, las más dañinas son las de *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus* cuyas toxinas llamadas aflatoxinas causan severos daños a los seres humanos y a los animales cuando estos tóxicos son ingeridos con los alimentos; además, estas sustancias son altamente cancerígenas y muy peligrosas en su manejo. (Brock, T, Madigan, M. 1993)

Con objeto de comprobar si el hidróxido de calcio micronizado tenía control sobre *Aspergillus* spp., se efectuó un trabajo con este fin. Se utilizaron los métodos cromatográficos de Holaday- Velasco (cromatoplaqueta y capa fina) y el Shannon (cromatoplaqueta y microcolumnas) y también por el método de

cromatografía de líquidos de alta resolución para confirmar la presencia de aflatoxinas. Estos

métodos indicaron sin lugar a duda la presencia de aflatoxinas de los tipos B1 y G1 en las muestras analizadas. Seguidamente las muestras fueron sometidas a una desinfección con hipoclorito de calcio para eliminar las contaminaciones externas de polvo y hongos diferentes al *Aspergillus* spp. Seguidamente las muestras se dividieron en grupos y sometieron a distintas soluciones de hidróxido de calcio. Los resultados obtenidos indicaron que una solución de dos gramos de hidróxido de calcio micronizado por litro de agua, logró un pH de 12.5 e inhibió en un 100% la formación del hongo productor de aflatoxinas, *Aspergillus flavus* en todas las diluciones del hongo sembradas en cajas de petri. (Estrela, Bamman 1999)

6.3.5.-Control de bacterias.

Comprobado el efecto inhibitor del hidróxido de calcio sobre hongos del grupo *Aspergillus* spp., se llevó a cabo un trabajo que permitió demostrar que el hidróxido de calcio micronizado tiene control sobre bacterias. Se tomaron 15 cajas de petri y se esterilizaron; por otro lado, se prepararon 4 diferentes soluciones de hidróxido de calcio en concentraciones de 1, 2, 3, Y 4 gramos por litro de agua. Las cajas de petri se dividieron en grupos de tres y se procedió a llenar cada grupo con las soluciones preparadas de hidróxido de calcio preparadas. A cada una de las cajas de petri de los cinco grupos, se le vertieron más o menos 20 ml. del medio CR YMA estéril en forma líquida, mezclaron, dejaron solidificar y seguidamente se sembró en cada una de ellas cepa pura de *Rhizobium phaseoli*.

En las cajas dónde no se adicionó hidróxido de calcio el desarrollo de la bacteria fue abundante. En las cajas que recibieron concentraciones de hidróxido de calcio de 1 y 2 gramos por litro de agua el desarrollo de la bacteria fue menor y en las

que recibieron las concentraciones de 3 y 4 gramos por litro de agua no hubo desarrollo de la bacteria. Por los resultados obtenidos, se concluye que el hidróxido de calcio micronizado a dosis de 3 y 4 gramos por litro de agua inhibe el desarrollo de la bacteria *Rhizobium phaseoli*. Este trabajo puede servir de base para comprobar el efecto biocida del hidróxido de calcio en otras bacterias. (Microbiología Especial, 2004)

6.4 Hipoclorito de sodio.

Hipoclorito de sodio (NaOCl) es un compuesto que puede ser utilizado para desinfección del agua. Se usa a gran escala para la purificación de superficies, blanqueamiento, eliminación de olores y desinfección del agua. (OMS 2005)

6.4.1 Características del hipoclorito de sodio

El hipoclorito de sodio es una solución clara de ligero color amarillento y un olor característico. El hipoclorito de sodio tiene una densidad relativa de 1,1 (5,5% solución acuosa). Como agente blanqueante de uso doméstico normalmente contiene 5% de hipoclorito de sodio (con un PH de alrededor de 11, es irritante). Si está a mayor concentración, contiene un 10 a 15% de hipoclorito de sodio (con un PH alrededor de 13, se quema y es corrosivo).

Hipoclorito de sodio es inestable. El cloro se evapora a razón de 0,75 gramos de cloro activo por día desde la solución. Después calentado el hipoclorito de sodio se desintegra. Esto también ocurre cuando hipoclorito de sodio contacta con ácidos, luz del día, ciertos metales y venenos así como gases corrosivos, incluyendo el gas de cloro. El hipoclorito de sodio es un oxidante fuerte y reacción con compuestos combustibles y reductores. El hipoclorito de sodio es una base débil inflamable. Estas características se deben tener en cuenta en procedimientos

de transporte, almacenamiento y uso del producto. (Githui, Matu, Tunge , Juma 2007)

6.4.2.-Como afecta el PH al añadir hipoclorito de sodio al agua.

Debido a la presencia de soda cáustica en el hipoclorito de sodio, el valor del PH aumenta. Cuando el hipoclorito de sodio se disuelva en agua, se generan dos sustancias, que juegan el papel de oxidantes y desinfectantes. Estos son ácido hipocloroso (HOCl) y el ion de hipoclorito el cual es menos activo (OCl⁻). El PH del agua determina la cantidad de ácido hipocloroso que se forma. Cuando se utiliza hipoclorito de sodio, se utiliza el ácido acético para disminuir el pH. (Rutala, Weber 1997)

6.4.3.-Ventajas y desventajas de la utilización de hipoclorito de sodio.

6.4.3.1.-Ventajas.

El hipoclorito de sodio es un desinfectante que tiene las siguientes ventajas:

Puede ser fácilmente transportado y almacenado cuando se produce en el sitio. El almacenamiento y transporte del hipoclorito de sodio es seguro. El hipoclorito de sodio es tan efectivo como el gas cloro para la desinfección. El hipoclorito de sodio produce desinfección residual.

6.4.3.2.-Desventajas.

Hipoclorito de sodio es una sustancia peligrosa y corrosiva. Cuando se trabaja con hipoclorito de sodio, se deben tomar medidas de seguridad para proteger a los trabajadores y al medio ambiente. El hipoclorito de sodio no debería entrar en contacto con el aire, porque provoca su desintegración. Tanto el hipoclorito de sodio

como el cloro no provocan la desactivación de Giardia Lambia o Cryptosporidium. (Correa, Escobar 2002)

6.5.-Ozono.

El ozono es un gas incoloro que existe naturalmente en la atmosfera a una altura de 20 a 30 km, y protege a toda especie de vida en la tierra de la dañina acción de la radiación ultravioleta. También se puede producir dicho gas artificialmente fisionando la molécula de oxígeno por algún método como el de una descarga eléctrica, por luz ultravioleta o por reacciones electrolíticas y químicas.

El ozono es también oxígeno enriquecido O_3 , consta de tres átomos de oxígeno. Es inestable y se descompone con cierta facilidad en oxígeno normal O_2 y oxígeno nascente que es un fuerte oxidante O_2 debido a esta característica, el ozono actúa con gran eficiencia como desinfectante y oxidante. (Robles, Torres, Sánchez 2007)

El ozono es un gas ligeramente azul, de olor característico, es poco soluble en agua y muy volátil. Dependiendo de las características del agua se mantiene disuelto en esta solo algunos minutos. Las dosis necesarias para desinfectar el agua varían según la calidad de la misma, así como la cantidad de ozono que se pierde por la volatilización durante su aplicación. (Rodríguez 2003)

Se considera que el ozono es el desinfectante de mayor eficiencia microbicida y requiere tiempos de contacto bastante cortos. Se ha demostrado que cuando el ozono es transferido al agua mediante un mezclador estático, se logran tasas de transferencias a la fase acuosa bastante elevadas y con ellos los microorganismos patógenos pueden ser destruidos en pocos segundos.

La velocidad con la que el cloro mata a los microorganismos es bastante mayor que la del ozono, debido a que, si bien ambos son oxidantes, el mecanismo de acción es diferente: el ozono mata a la bacteria por medio de la ruptura de la membrana celular. Este proceso produce la dispersión del citoplasma celular en el agua y por consiguiente la muerte del microorganismo. En cambio el cloro debe introducirse a la por la pared celular de la bacteria y difundirse en el citoplasma, acción que depende del tiempo de contacto. (Galván, Molto y Beneyto 2008)

6.5.1.-Historia del ozono.

El uso del ozono en plantas de tratamiento de agua es muy poco. No obstante, se le conoce desde hace más 100 años y la línea del tiempo que se presenta ahora demuestra su desarrollo:

- 1785: Von Marum describe un olor característico en una maquina electrostática.
- 1801: Cruiksshank percibe el mismo olor en un ánodo.
- 1840: Schoenbein le denomina a la sustancia ozono por la palabra griega "ozein" que significa heder oler.
- 1857: Werner von Siemens diseña un generador de ozono, de tipo dieléctrico cilíndrico.
- 1893: Oudsshoorn, construye la primera planta en Holanda.
- 1906: Niza, Francia, planta bon voyage, "lugar de nacimiento de la ozonización en una planta de tratamiento de agua".

6.5.2.-Características del ozono.

El ozono es producido a partir de oxígeno puro y vuelve a oxígeno puro, este desaparece sin dejar rastro en cuanto ha sido usado una vez. Cuando el ozono desinfecta o descompone bacterias o contaminantes dañinos, no hay generalmente subproductos, a diferencia de muchos desinfectantes.

Tiene un olor característico asociado generalmente a las chispas y a las tormentas eléctricas. El olor es generalmente perceptible por la nariz humana. (Crites, R. and G. Tchobanoglous. 1998)

6.5.3.-Generación del ozono.

El ozono se produce en un generador tipo corona. El gas de insumo puede ser aire u oxígeno puro. Se aplica un voltaje alto (6000-20000volts) a dos electrodos y este voltaje produce un arco. En el arco, parte del O_2 se transforma en O_3 . El ozono es muy inestable y vuelve a convertirse en O_2 en cuestión de minutos. Por ello el ozono se genera en el lugar en donde se deberá utilizar, ya que no se le puede transportar de ninguna manera.

Aproximadamente del 1% al 10% del oxígeno que fluye por los electrodos se transforma en ozono. Cuando se utiliza aire como gas de insumo, la concentración de ozono varía entre 1% y 4%. Cuando se usa oxígeno puro, la concentración se encuentra entre 4% a 12%. Alrededor del 85% a 95% de la energía se convierte en calor, la que se debe eliminar del electrodo conectado a la tierra, generalmente mediante enfriamiento por agua.

Los sistemas de alimentación por aire deben eliminar el polvo y la humedad esto mediante la colocación de filtros. (Stanley, 2007)

6.5.4.-Ventajas y desventajas del ozono.

6.5.4.1.-Ventajas.

1. Mata a los microorganismos más efectivamente que el cloro.
2. Requiere un tiempo de contacto relativamente corto.
3. Mantiene un ambiente estéril.
4. No deja sabores desagradables.
5. No produce subproductos
6. Bajo costo de operación.

6.5.4.2.-Desventajas.

1. Requiere una alta cantidad de energía.
2. Debe ser generado en el lugar donde debe aplicarse.
3. No se puede almacenar.
4. La cantidad de ozono disminuye en temperaturas y PH alto.

6.5.5-El Ozono en la Industria.

En química industrial, el ozono tradicionalmente ha encontrado un número bastante limitado de aplicaciones, todas relacionadas con su poder oxidante, que lo convierte en un poderoso desinfectante. Se usa sobre todo para purificar el agua, sustituyendo al cloro, ya sea cloro libre o cloraminas en estos efectos; elimina el mal olor y sabor en este uso. También se utiliza para esterilizar, purificar y eliminar el mal olor del aire destruye las moléculas y bacterias que

Lo provocan), y para blanquear, maderas, ceras, aceites, y textiles.

La reacción de disociación de los dobles enlaces en moléculas

Orgánicas ha motivado que su uso en la producción de fármacos sea uno de los más relevantes.

Existen otros campos donde el ozono ha facilitado muchos procesos, tales el caso de la industria alimenticia, donde su interés se centra en la conservación de los alimentos, para la cual el ozono complementa la acción de las bajas temperaturas en las cámaras frigoríficas.

Si la utilidad de estas se basa en disminuir la velocidad de los procesos de alteración de los alimentos por los microorganismos, el papel del ozono consiste en evitar la proliferación de bacterias y mohos y, por lo tanto, la alteración del producto final. La importancia que su uso tiene en la conservación de alimentos es capital, puesto que el frío, por sí solo, no escapa de garantizar la buena conservación de los alimentos. Su papel como inhibidor de la mayoría de los procesos, no permite la eliminación de muchos de ellos, algunos de los cuales se "reactivan" tan pronto como las condiciones de temperatura le son favorables. Por otra parte existen ciertos tipos de organismos (psicrofilos) que son capaces de crecer a temperaturas del orden de los 0 °C.

Uno de los problemas asociados a la insuficiencia del frío, es que las paredes se impregnan de microorganismos y sustancias volátiles que alteran los productos, reduciéndose así el tiempo de mantenimiento en las cámaras.

Además, el frío tampoco elimina los malos olores. (FDA 2001, 2004)

6.5.6.-El Ozono como Desinfectante y Desodorizante.

El ozono resulta más adecuado por sus propiedades como desinfectante y desodorizante, su menor toxicidad y su fácil eliminación, no dejando residuo alguno. Se ha comprobado que su uso resulta en la carencia de mohos en alimentos y envases, conservación más larga de los alimentos, permitiendo conservar el peso inicial con alto grado de humedad, mejor calidad interna y apariencia externa, retraso en la maduración de la fruta.

Como resultado, el ozono se aplica en Europa desde antes de la segunda guerra mundial para la conservación de carnes, previniendo hasta por

36 semanas la aparición de mohos. Se aplica también para controlar el moho en el proceso de secado de los embutidos. El ozono resulta también útil en la conservación de huevos, pescados y frutas. (Losso J., Prudente 2008)

6.5.7.-Desinfección del Agua.

En términos prácticos, desinfectar el agua significa eliminar de ella los microorganismos patógenos. En la desinfección tradicional, se usa un agente físico o químico para destruir los microorganismos patógenos, que pueden transmitir enfermedades utilizando el agua como vehículo pasivo.

La desinfección es un proceso selectivo: no destruye todos los organismos presentes en el agua y no siempre elimina todos los organismos patógenos. Por

eso requiere procesos previos que los eliminen mediante procesos y operaciones tales como coagulación, sedimentación y filtración.

El uso de la desinfección como parte de un proceso de tratamiento del agua puede obedecer a los siguientes objetivos:

- a) Reducir el contenido inicial de contaminantes microbiológicos en el agua cruda (predesinfección).
- b) Desinfectar el agua después de la filtración. Constituye el uso más importante.
- c) Desinfección simple de un agua libre de contaminantes fisicoquímicos que no requiere otro tratamiento.

En el caso de la desinfección del agua por medio del ozono, interviene un factor muy importante, el ozono es muy inestable en solución acuosa. Es una sustancia altamente reactiva con un gran número de componentes que constituyen el agua para tomar, como materia orgánica natural (NOM), y

También experimenta un proceso de descomposición espontáneo, algunas veces referido como auto descomposición. La auto descomposición del ozono es un proceso de reacción en cadena muy complejo que involucra varias especies de radicales libres. La descomposición debe ser iniciada por un número de diferentes compuestos del agua, tales como el ion hidroxilo (OH^-) (valores de pH muy altos), material orgánico natural, y hierro ferroso. O puede ser iniciada también por la adición de peróxido de hidrógeno (H_2O_2), o por la irradiación de los rayos ultravioleta es el iniciador. (FDA 2001, 2004)

VII.-Materiales y Metodología.

.En la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro Unidad Laguna, carretera a santa fe y periférico Raúl López Sánchez Torreón Coahuila, Ubicado entre los paralelos 25° 42' y 24° 48' de latitud norte; los meridianos 103° 31' y 102° 58' de longitud oeste; altitud entre 1000 y 2500 m. con una temperatura promedio anual de 10 -36 °C y una precipitación de 100 - 400 mm y clima muy seco semicálido (89%) y Seco templado (11%).

7.1.-Descripción de equipo instalado en invernadero.

El invernadero mide 5m de largo por 2.5m de ancho por 3m de alto, forrado de plástico. En este invernadero se instaló el piso de cemento con un declive para un drenaje adecuado del agua, se instalaron las estanterías y las bandejas necesarias para la elaboración y evaluación de este proyecto. La instalación corresponde a: 2 estantes uno con capacidad de 56 charolas de 2.5 m de largo x 1.20 cm de ancho y 4 pisos de altura en cada piso se instalaron 14 bandejas de plástico de 50 cm x 35 cm ancho x 5 cm de alto y otro de 1m por 1.5m con capacidad de 24 charolas, cada una se perforó en los costados para permitir el drenaje del agua utilizada en el riego. La capacidad de producción de cada bandeja es entonces de 7 kg.

Se instaló un sistema de riego automático que consiste en una bomba de 1 hp. Acoplada a un sistema de riego mediante nebulizadores de 180 grados. El tiempo de riego se programó por periodo de un minuto cada 3 horas, desde las 8:00 am hasta las 5pm Para la activación de riego se conectó la bomba a la caja de fusibles.

Para las labores de pesaje de semillas, toma de muestras, y preparación de cal, Sorbato de potasio, benzoato de sodio se ocupara una mini báscula de 300 gr. Y una báscula de 10 kg.

Para acelerar el proceso de germinado se utilizaran botes de 20 lts. Con tapa para propiciar un ambiente sin luz que estimule el crecimiento de la planta, con el fin de mantener temperatura y humedad constante y el aislamiento de la luz solar. Para los procesos de medición de temperatura y humedad se utilizara un termómetro con medidor de humedad digital.

7.2.-Los tratamientos que se evaluaron se describen a continuación:

1.1

Tratamiento de semilla	Riego de semilla	Maíz	Trigo
semilla con ozono	Agua sin tratar	X	X
	Agua con ozono	X	X
	Riego cal	x	X
Semilla con cloro	Agua sin tratar	X	X
	Agua con ozono	X	X
	Agua con cal	x	X
Semilla con cal	Agua sin tratar	X	X
	Agua con ozono	X	X
	Agua con cal	x	X

7.3.-Control negativo riego Sorbato- benzoato.

1.2

Tratamiento de semilla	Riego de semilla	Maíz	Trigo
Semilla con cloro	Agua sin tratar	X	X
	Sorbato- benzoato	X	X
Semilla con cal	Agua sin tratar	X	X
	Sorbato- benzoato	X	X
Semilla agua hervida	Riego agua hervida	X	X

7.4.-Control positivo.

1.3

Tratamiento de semilla	Riego de semilla	Maíz	Trigo
Agua sin tratar	Agua sin tratar	X	X

7.5.-Materiales.

- Generador de ozono.
- Semilla de maíz y de trigo.
- Vacutainer estériles.
- Charolas de plástico equipo de ozono.
- 300 gr de benzoato de sodio.

- 300 gr de Sorbato de potasio.
- 4 kg de cal.
- 1 litro. De cloro.
- Agua.
- 4 botes de 20 litros.
- Pinzas de ratón.
- Malla perforada.
- Bascula.

7.6.-Procedimiento.

7.6.1.-Tratamiento de semilla con ozono.

Las semillas de maíz y trigo se enjuagaran con agua para eliminar el exceso de tierra y material no deseado, después se colocaran por separado las semillas de maíz y trigo en mallas para poder introducir las al bote de 20 litros y poder manipularlas por separado.

Se llenara el bote con agua hasta el tope y se colocara la manguera del equipo de ozono en el bote para poder eliminar los microorganismos presentes en agua y semillas para su desinfección y remojo esto por un tiempo de 16 horas.



7.6.2.-Tratamiento de semilla con cal.

Las semillas de maíz y trigo se enjuagaran con agua para eliminar el exceso de tierra y material no deseado, después se colocaran por separado las semillas de maíz y trigo en mallas para poder introducir las al bote de 20 litros y poder manipularlas por separado.

Se llenara el bote con agua hasta el tope y se colocaran 50 gr. De cal por litro de agua para poder eliminar los microorganismos presentes en agua y semillas para su desinfección y remojo esto por un tiempo de 16 horas.



7.6.3.-Tratamiento de semilla con cloro.

Las semillas de maíz y trigo se enjuagaran con agua para eliminar el exceso de tierra y material no deseado, después se colocaran por separado las semillas de maíz y trigo en mallas para poder introducir las al bote de 20 litros y poder manipularlas por separado.

Se llenara el bote con agua hasta el tope y se colocaran 10 ml por litro de agua. Para poder eliminar los microorganismos presentes en agua y semillas para su desinfección y remojo esto por un tiempo de 16 horas.



7.6.4.-Tratamiento de semilla con agua natural.

Las semillas de maíz y trigo se enjuagaran con agua para eliminar el exceso de tierra y material no deseado, después se colocaran por separado las semillas de maíz y trigo en mallas para poder introducir las al bote de 20 litros y poder manipularlas por separado.

Como este será el control positivo no se tratara la semilla.



7.6.5.-Riego de las semillas.

Se programaran cuatro riegos al día serán a las 8 am, 11 am, 2 pm y 5 pm.

Las semillas se regaran con agua con ozono, agua con Sorbato-benzoato agua con cloro, agua con cal, agua sin tratar y agua hervida. Como lo explica la tabla 1.1, 1.2 y 1.3



7.6.6.-Procedimiento del muestreo.

Se tomaran muestras el día 2, 5 y el día 10.

26 muestras el día 2, 5 y muestras el día 10.

Se tomaran 2.5 gr. de semillas de maíz y 2.5gr. de semilla de trigo de los diferentes tratamientos y riegos de semillas en Vacutainer estériles, para llevar al laboratorio y proceder a realizar cultivos para valorar cual tratamiento es más eficaz.

7.7.-Cultivo en laboratorio

La importancia de los hongos filamentosos en los alimentos puede considerarse desde diferentes puntos de vista.

Se utilizan en la fabricación de algunos alimentos (ejemplo *Penicillium camemberti* en el queso camembert)

Producen alteraciones diversas en los alimentos (*rhizopus nigricans* en el pan)

Generan toxinas con notables efectos en los animales y el hombre (*aspergillus flavus* produce Aflatoxinas en cereales)

En algunos alimentos su número se asocia a deficientes prácticas higiénicas de fabricación y almacenamiento)

Por estas razones se han desarrollado en el laboratorio de microbiología de alimentos, una diversidad de medios de cultivo y técnicas para efectuar su aislamiento, recuento e identificación. Los recuentos referirse a fragmentos de micelio, de hongos que han desarrollado en el alimento, o el desarrollo de colonias sobre un medio apropiado de este grupo microbiano. El primer caso puede utilizarse para conocer la calidad de la materia prima utilizada en la fabricación de un producto, habitualmente de naturaleza vegetal; la presencia de substanciasinhibitorias e incluso la falta de viabilidad del hongo. Si se desea

conocer el número de microorganismos presentes es indispensable una cuenta viable para estimar el nivel de contaminación como indicador de prácticas higiénicas deficientes. Para este último fin se sigue una técnica muy similar a la descrita para el recuento de colonias por vaciado en placa utilizando para ello el medio, tiempo y temperatura de incubación adecuados. Algunas diferencias que observan los hongos con respecto a las bacterias en las técnicas de recuento en placa para alimentos, incluyen:

Una velocidad de crecimiento más lenta que las bacterias.

La demanda de un ambiente aerobio.

La tendencia de algunas especies de desarrollar extensivamente sobre las placas de cultivo.

Una temperatura de crecimiento inferior a la de la mayoría de las bacterias mesofilicas de interés sanitario.

La formación de colonias es considerablemente mayor a las de las bacterias y limitadas a la superficie del medio.

Una tolerancia notable de la mayoría de las especies para desarrollar un medio de alta acidez (pH 3-5).

La resistencia de los hongos y levaduras para desarrollar en concentraciones de muchos antibióticos que son inhibitorios para las bacterias.

Sin merma en la exactitud y precisión, las técnicas de preparación de la muestra de diluciones pueden ser las mismas que se utilizan para el recuento de bacterias a partir de alimento. Incluso, así como para el recuento viable se emplean las técnicas de vaciado en placa, extensión de superficie y NMP, se ha señalado recientemente el éxito en su aplicación para el recuento de hongos. Los requerimientos nutricionales de los hongos en general no son estrictos, desarrollan con facilidad en casi todos los medios simples de laboratorio, sin embargo, dada la lentitud en su crecimiento que demanda hasta 5 días de incubación, para evitar la interferencia de bacterias, suele adicionarse al medio de

cultivo un agente selectivo, los más utilizados son antibióticos de amplio espectro que inhiben a bacterias (aureomicina y cloranfenicol) o la adición de un medio con ácido orgánico. Los datos reportados por algunos autores muestran que con estos artificios no suele encontrarse una diferencia significativa en los recuentos al utilizar diferentes medios de cultivo: agar papa dextrosa, agar extracto de malta, agar libre de azúcar, o agar cuenta estándar.

El suelo es el hábitat de hongos, su contacto con los alimentos fácilmente se traduce en un incremento de ellos en la carga microbiana. Al ponerse esto de manifiesto en el laboratorio, se puede dudar de la calidad del producto, cuando la cifra rebasa límites que previamente han demostrado ser inadecuados de una fabricación higiénica.

En general, simultáneamente con el recuento de hongos puede realizarse el de las levaduras, ya que el medio de cultivo les proporciona también buenas condiciones para su multiplicación. Sin embargo, cuando se presentan un desarrollo excesivo de hongos, difícilmente puede efectuarse el recuento de las colonias de levaduras. Si tal es el caso y existe la necesidad de practicar su recuento, lo recomendable es preparar doble serie de diluciones e incubar a 35° c durante 48 horas, lo que permite desarrollar a las levaduras cuando los hongos aun no cubren las placas. Las colonias de levaduras pueden aparecer sobre la superficie o en el seno del medio de cultivo. En el primer caso son circulares y de un diámetro mayor, en el seno del medio de suelen aparecer estrelladas y algo más pequeñas. Los alimentos en los que suele realizarse el recuento de hongos para conocer acerca de sus antecedentes sanitarios son las salsas, harinas, especias, mantequilla, margarina, leche y huevo en polvo.

Las levaduras tienen interés en las bebidas no alcohólicas embotelladas, melazas y mieles, salsas ocasionalmente en algunos lácteos.

Al contar las colonias de hongos en las placas cuidar de individualizar cada una debido a la confluencia en el desarrollo de las colonias cuyo centro no existe o es

difícilmente perceptible, esto se elimina o disminuye cuando el recuento se realiza en las primeras 72

Horas de incubación.

7.7.1.- Objetivos.

Realizar la técnica para el recuento de hongos filamentosos y levaduras en alimentos.

Conocer el fundamento y composición de los medios de cultivo utilizados para el recuento de estos microorganismos.

Conocer el significado sanitario de un número elevado en alimentos, así como la norma oficial mexicana.

7.7.2.-Procedimiento.

Realizar diluciones decimales de 10^{-1} a 10^{-3} .

Colocar por duplicado 1 ml. De cada dilución en cajas de Petri estériles.

Agregar de 12 ml a 15 ml de agar papa dextrosa acidificado con ácido tartárico al 10% hasta pH 3 (aproximadamente 1.5 ml por 100 ml de medio), fundido y mantenido entre 45° c y 48° c en baño de agua. Ya acidificado el medio no debe reutilizarse.

Homogenizarse y dejar solidificar.

Incubar una serie de placas a 25° c durante 5 días para el recuento de hongos y la otra serie a 35° c durante 48 horas para el recuento de levaduras.

Revisar las placas a las 48 horas y 72 horas y hacer los recuentos correspondientes. En caso de que no haya crecimiento de hongos continuar la incubación hasta los 5 días.

Contar las colonias de hongos en la serie incubada a 25° c. y en la incubada a 35° c.

Multiplicar por la inversa de la dilución e informar.

Unidades formadoras de colonias de hongos (UFC/g o ml) en placas de agar papa dextrosa acidificada, incubadas a 25° c durante 5 días.

Unidades formadoras de colonias de levaduras (UFC/GO ml) en placas de agar papa dextrosa acidificado, incubadas a 35° c durante 48 horas.

Adicionar a cada placa de 12 a 15 ml de PDA acidificado con ácido tartárico al 10% (aproximadamente 1.5 ml por cada 100 ml de medio).

Incubar una placa de cada dilución a 25° c durante 5 días para el recuento de hongos. Incubar la otra placa de cada dilución a 35° c durante 48 horas para el recuento de levaduras.

VIII.-Resultados.

Los dos grupos de semillas tratadas con los diferentes agentes químicos estuvieron expuestas a las mismas condiciones (temperatura, humedad, número de riegos y tiempo de hidratación).

Dando los siguientes resultados:

8.1.-Presencia macroscópica de hongos.

----: sin presencia, + muy poco, ++ regular, +++invadido completamente

Semillas tratamiento	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7	D8	D9	D10
Semilla Hidratada Ozono Riego Agua Cruda	----	----	----	+	+	++	++	+++	+++	+++
Semilla Hidratada Ozono Riego Ozono	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----
Semilla Hidratada Ozono Riego Cal	----	----	----	----	----	----	----	----	----	+
Semilla Hidratada Cloro Riego Agua Cruda	----	----	+	+	++	++	+++	+++	+++	+++

Semilla Hidratada Cloro Riego Ozono	----	----	----	----	+	+	+	++	++	++
Semilla Hidratada Cloro Riego Cal	----	----	----	----	+	+	++	++	++	++
Semilla Hidratada Cloro Riego S-B	----	----	----	----	+	+	++	++	+++	+++
Semilla Hidratada Cal Riego Ozono	----	----	----	----	----	----	----	----	----	+
Semilla Hidratada Cal RS-B	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----
Semilla Hidratada Cal Riego Cal	----	----	----	----	----	----	----	----	----	+
Semilla Hidratada Cal Riego Agua Cruda	----	----	----	+	+	++	++	+++	+++	+++
Semilla Hidratada Agua Cruda Riego Agua Cruda	----	----	+	+	++	++	+++	+++	+++	+++

Semilla Hidratada Agua Hervida	----	----	----	+	+	++	++	+++	+++	+++
Riego Agua Hervida										

8.2.-Olor de semillas.

OA: olor agradable, OF: olor fermentado, MO: mal olor, OD: olor desagradable

Semillas tratamiento	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7	D8	D9	D10
Semilla Hidratada Ozono Riego Agua Cruda	OA	OA	OA	OF	OF	MO	MO	OD	OD	OD
Semilla Hidratada Ozono Riego Ozono	OA	OA	OA	OA	OA	OA	OA	OA	OA	OA
Semilla Hidratada Ozono Riego Cal	OA	OA	OA	OA	OA	OA	OA	OA	OA	OA
Semilla Hidratada Cloro Riego Agua Cruda	OA	OA	OF	OF	MO	MO	OD	OD	OD	OD

Semilla Hidratada Cloro Riego Ozono	OA	OA	OA	OA	OF	OF	OF	MO	MO	MO
Semilla Hidratada Cloro Riego Cal	OA	OA	OA	OA	OF	OF	MO	MO	MO	MO
Semilla Hidratada Cloro Riego S-B	OA	OA	OA	OA	OF	OF	MO	MO	OD	OD
Semilla Hidratada Cal Riego Ozono	OA	OA	OA	OA	OA	OA	OA	OA	OA	OA
Semilla Hidratada Cal Riego S-B	OA	OA	OA	OA	OA	OA	OA	OA	OA	OA
Semilla Hidratada Cal Riego Cal	OA	OA	OA	OA	OA	OA	OA	OA	OA	OA
Semilla Hidratada Cal Riego AguaCruda	OA	OA	OA	OF	OF	MO	MO	OD	OD	OD

Semilla Hidratada Agua Cruda Riego Agua Cruda	OA	OA	OF	OF	MO	MO	OD	OD	OD	OD
Semilla Hidratada Agua Hervida Riego Agua Hervida	OA	OA	OA	OF	OF	MO	MO	OD	OD	OD

8.3.-Presencia microscópica de hongos.

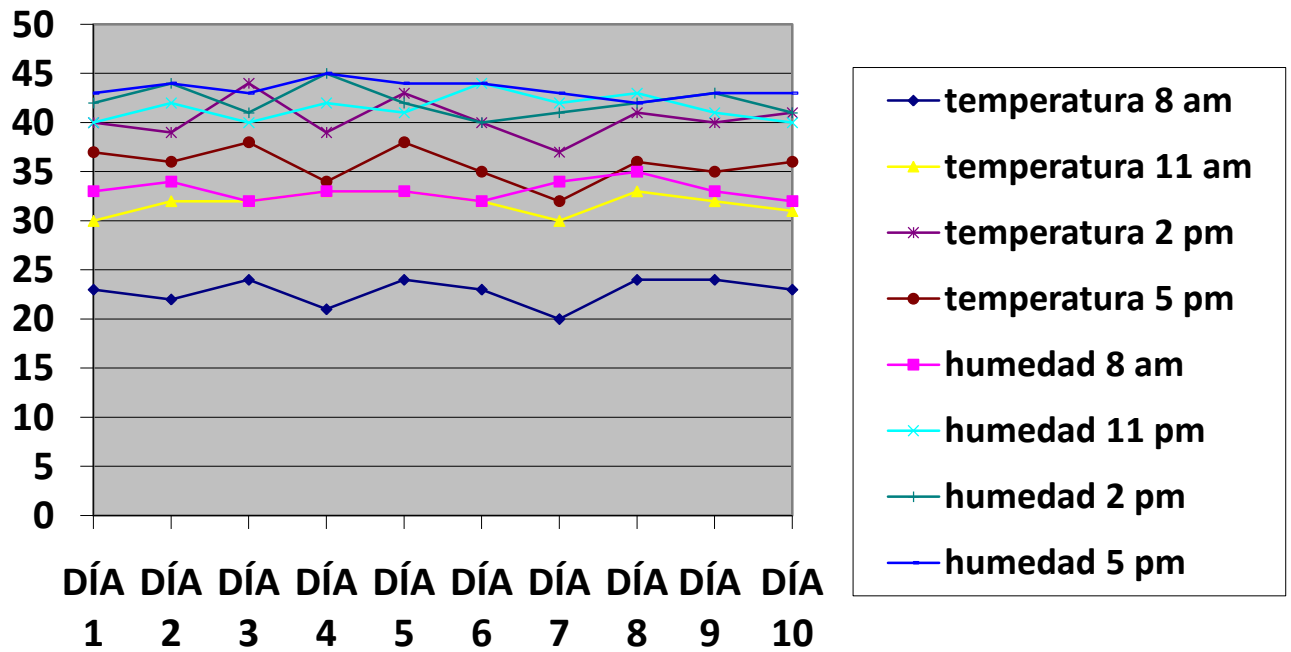
Sp: sin presencia

Semillas tratamiento	Muestra día 2	Muestra día 5	Muestra día 10
Semilla Hidratada Ozono Riego Agua Cruda	SP	RHIZOPUS	RHIZOPUS
Semilla Hidratada Ozono Riego Ozono	SP	SP	SP

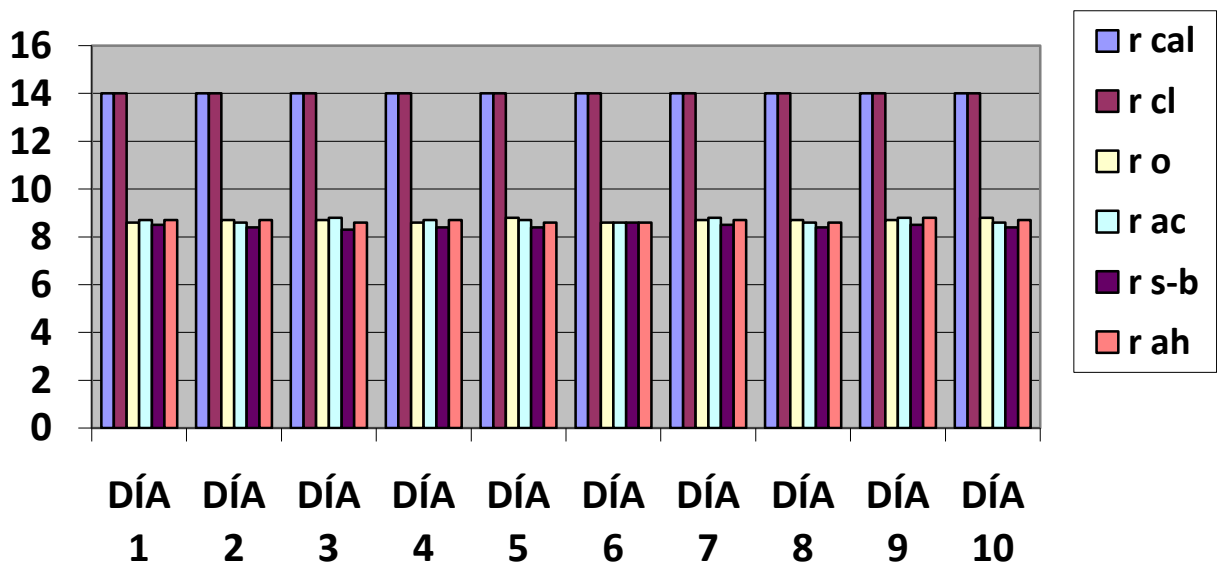
Semilla Hidratada Ozono Riego Cal	SP	SP	RHIZOPUS
Semilla Hidratada Cloro Riego AguaCruda	RHIZOPUS	RHIZOPUS	RHIZOPUS
Semilla Hidratada Cloro Riego Ozono	RHIZOPUS	RHIZOPUS	RHIZOPUS
Semilla Hidratada Cloro Riego Cal	RHIZOPUS	RHIZOPUS	RHIZOPUS
Semilla Hidratada Cloro RS-B	RHIZOPUS	RHIZOPUS	RHIZOPUS
Semilla Hidratada Cal Riego Ozono	SP	SP	ASPERGILLUS
Semilla Hidratada Cal RS-B	SP	SP	SP

Semilla Hidratada Cal Riego Cal	SP	SP	RHIZOPUS
Semilla Hidratada Cal Riego AguaCruda	SP	RHIZOPUS ASPERGILLUS	RHIZOPUS ASPERGILLUS
Semilla Hidratada AguaCruda Riego AguaCruda	RIZHOPUS	RHIZOPUS	RHIZOPUS
Semilla Hidratada Agua Hervida Riego Agua Hervida	RHIZOPUS	RHIZOPUS	RHIZOPUS

8.4.-Temperatura y humedad promedio del día 1 al 10.



8.5.-PH promedio del agua con los diferentes agentes químicos del día 1 al 10.



IX.-Discusión.

De las variantes estudiadas resultó mejor el tratamiento con ozono. Las semillas desinfectadas con agua - ozono y riegos de agua - ozono demostraron mantener el mejor índice de semillas libres de hongos durante todo el ciclo del cultivo con un 100% de efectividad con solo 15 minutos de tratamiento en el agua de hidratación además de darle un olor agradable a la semilla. Resultados similares presentaron las variantes de tratamiento en hidratación con cal y riegos con sorbato de potasio y benzoato de sodio, Siendo estos dos los tratamientos más eficaces.

Este último resultado pone en evidencia el éxito del trabajo del Dr. Marco Antonio Arellano García, especialistas del Centro de Investigaciones en Química Aplicada (CIQA). Además de haber tenido la experiencia anteriormente de utilizar este método para la producción de forraje verde hidropónica para la alimentación de cabras lecheras dando buenos resultados produciendo durante 16 días FVH libre de hongos. Los tratamientos de hidratación con cal Mostraron también resultados aceptables las semillas desinfectadas con cal y regadas con cal, las semillas desinfectadas con cal y regadas con ozono y las semillas desinfectadas con ozono regadas con cal.

Siendo el hipoclorito de sodio el menos efectivo para la desinfección de semillas ya que presento rápidamente proliferación de hongos en todos sus tratamientos en riego. Presentándose en las charolas contaminadas con hongos una alta incidencia de rhizopus y en menos cultivos aspergillus confirmando esto por medio de cultivos de laboratorio durante la toma de muestras en el día 2, 5 y 10 siendo estos hongos ambientales que predominan en la tierra.

X.-Conclusiones.

El éxito de un sistema de producción de Forraje Verde Hidropónico (FVH), está basado en cuidar cada uno de los detalles de la técnica.

Es muy común que se presenten contaminaciones por hongos, sobre todo cuando las temperaturas son muy elevadas y la circulación del aire es deficiente o cuando los riegos son muy exagerados.

La importancia de este trabajo fue identificar que agente desinfectante es el más eficaz para poder producir FVH sin la necesidad de tener instalaciones tecnificadas de alto costo ya que es necesario mantener parámetros estables de humedad, temperatura y ventilación para así aumentar el éxito de la producción de FVH.

Y poder llevar esta tecnología a las comunidades rurales y poder aumentar la producción animal al menor costo posible y aumentar la calidad de vida de las personas de comunidades rurales.

Este sistema de producción de forraje es el futuro de la alimentación del ganado debido al alto costo de forrajes y alimentos concentrados que dan mínimo margen de ganancia. Además de la alta calidad nutricional del forraje puede sustituir fácilmente alimentos como alfalfa y alimentos concentrados.

Ya que este puede ser producido en poco espacio, un m² puede producir 140 kg de forraje verde, necesita menos cantidad de agua y el agua utilizada se puede recircular siempre y cuando sea tratada. Por lo tanto podemos concluir que el forraje verde hidropónico es una alternativa muy viable para la alimentación del ganado.

XI.-Bibliografía.

“CULTIVOS HIDROPONICOS” , 1993 , Ediciones Culturales Ver Ltda., Bogotá, Colombia, pág. 149

Agencia Europea para la Seguridad y la Salud en el Trabajo (EU-OSHA) 2009

Alfredo Rodríguez y Hugo Tarrillo. Producción de Forraje Verde Hidropónico en condiciones de baja temperatura. Artículo técnico, Boletín Informativo N° 17, La Molina, UNALM.

Ana Cristina Rodríguez S. Cómo producir con facilidad, rapidez y óptimos resultados FORRAJE VERDE HIDROPONICO. Editorial Diana, México, 2003

Brock, T, Madigan, M. 1993 Microbiología. Trad. María del Consuelo Hidalgo y Mondragon. 6 ed. México, Prentice Hall Hispanoamericana S.A.p956

Correa Ana Lucia. Escobar María Luisa. Gómez Carlos Ignacio. Limpieza y desinfección. Edición 1. Hospital Pablo Tobon Uribe; 2002

Crites, R. and G. Tchobanoglous. 1998. Small and Decentralized Wastewater Management Systems. The McGraw-Hill Companies. New York, New York.

Environmental Health and Safety. University of Kentucky. PDF.

Estrela C, Bamman LL. Efecto enzimático de hidróxido de calcio. Rev ABO Nac 1999;7(1):32-42

Evaluación de riesgo en instalaciones con probabilidad de proliferación y dispersión de legionela 2008. Pedro Varo Galván, Roberto Seguí Molto y Manuel Segura Beneyto. Pag 161

Food and Drug Administration (FDA). 2004. Guidance to Industry. Recommendations to Processors of Apple Juice or Cider on the Use of Ozone for Pathogen Reduction Purposes. <http://www.cfsan.fda.gov/~dms/juicgu13.html>.]

Githui WA, Matu SW, Tunge N, Juma E. Biocidal effect of bleach on Mycobacterium tuberculosis: a safety measure. Int J Tuberc Lung Dis 2007. 11(7):798–802. PDF.

Hugo Tarrillo. Forraje Verde Hidropónico en Arequipa-Perú. Artículo Técnico. Boletín Informativo N° 15, Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima, Perú.

Introducción a la química ambiental 2007. Pág. 243 Stanley e Manahan

Lenntech 1998-2004 Agua Residual Calcio(en línea) consultado en marzo de 2004
Disponibile en: <http://www.lenntech.com/espanol/tabla-peiodica/Ca.htm>

Manual Técnico. "Forraje Verde Hidropónico". Oficina Regional de la FAO para América Latina y el Caribe. Santiago. Chile.2001

Microbiología Especial, 2004 Evaluación de Antisépticos, Desinfectantes, Antisépticos y conservadores.

Organización Mundial de la Salud. Manual de bioseguridad en el laboratorio

Principios de agricultura 2004 Marcela Rodríguez Aza pag 41

Procesos de potabilización del agua e influencia del tratamiento de ozonización 2003. Pág. 237 Dr. Francisco Javier Rodríguez.

Quiles, A. 2003 Medidas de Bioseguridad en las granjas avícolas (en línea) consultado 18 mar 2004 Disponible en: <http://www.portalveterinaria.com/sections.php?op=viewarticle&artid=204>

Rutala WA and Weber DJ. Uses of Inorganic Hypochlorite (Bleach) in Health-Care Facilities. Clinical Microbiological Reviews 1997; 10(4):597-610. PDF.

Salazar Soto C. Hidróxido de calcio: efectos biológicos y mecanismo de acción. Rev Fac Odont Univ Antioquia 1994;5(2):35-41

Sonia Guadalupe Rodríguez de la Rocha. Forraje Verde Hidropónico. Artículo Técnico de la Universidad Autónoma de Chihuahua Facultad de Ciencias Químicas, Chihuahua. México. Boletín Informativo N° 21, La Molina UNALM. tercera edición 2005.

Tratamientos de aguas para la eliminación de microorganismos y agentes contaminantes, 2010 Francisco Osorio Robles, Juan Carlos Torres Rojo y Mercedes Sánchez. Pag. 20

Uso de desinfectantes. Guías para la prevención, control y vigilancia epidemiológica de infecciones intrahospitalarias. Secretaría Distrital de Salud de Bogotá. PDF.

Wang Y., King J.M., Xu Z., Losso J., Prudente A. 2008. Lutein from ozone-treated corn retains antimutagenic properties. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 56,7942–7949.