



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
CUAUTITLAN

“EFECTO ANTIFÚNGICO DE QUITOSAN APLICADO COMO  
RECUBRIMIENTO EN TRIGO PARA DISMINUIR  
PERDIDAS POSTCOSECHA”.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

INGENIERA EN ALIMENTOS

PRESENTA:

ELIZABETH LIMA RODRÍGUEZ

ASESORAS:

DRA. SUSANA PATRICIA MIRANDA CASTRO

M EN C. MARÍA CRISTINA JULIA PÉREZ REYES



**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN  
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR  
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES**

**ASUNTO: VOTO APROBATORIO**  
FACULTAD DE ESTUDIOS  
SUPERIORES CUAUTITLÁN

**DRA. SUEMI RODRÍGUEZ ROMO**  
**DIRECTORA DE LA FES CUAUTITLÁN**  
**PRESENTE**

**ATN: L.A. ARACELI HERRERA HERNÁNDEZ**  
**Jefa del Departamento de Exámenes**  
**Profesionales de la FES Cuautitlán**

Con base en el Art. 28 del Reglamento de Exámenes Profesionales nos permitimos comunicar a usted que revisamos la: **TESIS**

**Efecto antifúngico de quitosán aplicado como recubrimiento en trigo para disminuir pérdidas postcosecha**

Que presenta la pasante: **Elizabeth Lima Rodríguez**  
Con número de cuenta: **405085532** para obtener el Título de: **Ingeniera en Alimentos**

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO**.

**ATENTAMENTE**  
**“POR MI RAZA HABLARA EL ESPÍRITU”**  
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 14 de noviembre de 2012.

**PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO**

	<b>NOMBRE</b>	<b>FIRMA</b>
<b>PRESIDENTE</b>	Dr. José Francisco Montiel Sosa	
<b>VOCAL</b>	Dra. Susana Patricia Miranda Castro	
<b>SECRETARIO</b>	IA. María Guadalupe López Franco	
<b>1er SUPLENTE</b>	M. en C. María Guadalupe Amaya León	
<b>2do SUPLENTE</b>	IA. Miriam Álvarez Velasco	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 120).  
HHA/pm

## **DEDICATORIAS**

*Esta tesis me la dedico a mí. . . por la entrega para alcanzar mi sueño, el día de hoy miro hacia atrás y veo el camino recorrido para llegar hasta aquí, un camino lleno de adversidades, tropiezos, sacrificios y que el día de hoy me recompensa al ver mi sueño realizado y me regala descubrirme como una mujer fuerte, valiente e inteligente.*

## **Agradecimientos**

A mi Padre y Madre por darme la vida, por las enseñanzas que de ellos recibí, por los principios y valores que me inculcaron, a mis hermanos por su apoyo para que yo pudiera continuar estudiando, por sus enseñanzas y por su amor.

A mis asesoras por el apoyo y la paciencia para la realización de este trabajo.

A mis amig@s por acompañarme en este largo camino, por aquellas experiencias que enriquecieron mi vida y por su cariño incondicional.

# Índice General

Introducción.....	6
Resumen.....	8
<b>Capítulo I</b>	
<b>Antecedentes</b>	
<b>1.1 Generalidades de los cereales.....</b>	<b>10</b>
1.1.1 Estructura del grano.....	10
<b>1.2 Generalidades del trigo.....</b>	<b>11</b>
<b>1.3 Morfología del trigo.....</b>	<b>12</b>
1.3.1 Composición química del grano.....	15
1.3.2 Proceso respiratorio.....	16
1.3.3 Factores que afectan la respiración.....	17
1.3.4 Consecuencias del proceso respiratorio.....	18
<b>1.4 Producción de trigo.....</b>	<b>19</b>
1.4.1 Consumo de trigo en México.....	22
1.4.2 Situación mundial de la producción.....	24
1.4.3 Comercialización de Trigo.....	26
<b>1.5 Almacenamiento.....</b>	<b>27</b>
1.5.1 Sistemas básicos de almacenamiento.....	28
1.5.2 Factores que determinan pérdidas en el almacén.....	29
<b>1.6 Hongos.....</b>	<b>31</b>
1.6.1 Micobiota.....	31
1.6.2 Hongos de Campo.....	32
1.6.3 Hongos de almacén.....	32
1.6.4 Factores que influyen para el desarrollo de los hongos.....	33
1.6.5 Daños provocados por una invasión fúngica en el grano.....	35
1.6.6 Germinación en el grano.....	36
1.6.7 Micotoxinas.....	37

<b>1.7 Generalidades quitina y quitosán.....</b>	<b>38</b>
1.7.1 Generalidades quitina.....	38
1.7.2 Generalidades quitosán.....	39
1.7.3 Procesamiento de quitosán.....	40
1.7.4 Propiedades antimicrobianas del quitosán.....	41
1.7.5 Mecanismo antifúngico de quitosán.....	42
1.7.6 Propiedades de las películas de quitosán.....	43
1.7.7 Industria de las películas comestibles.....	43
1.7.8 Aplicaciones del quitosán.....	43
<b>1.8 Aceites Esenciales.....</b>	<b>46</b>
1.8.1 Características físicas de los aceites esenciales.....	47
1.8.2 Composición química de los aceites esenciales.....	47
1.8.3 Principal compuesto del aceite esencial de Canela.....	48
1.8.4 Mecanismo de acción de los aceites esenciales.....	48
1.8.5 Usos de los aceites esenciales.....	49
<b>Capítulo II. Metodología</b>	
Cuadro Metodológico.....	51
Objetivo General.....	52
Objetivos Particulares.....	52
<b>Capítulo III. Resultados y Discusión.....</b>	<b>60</b>
<b>Conclusiones.....</b>	<b>74</b>
<b>Recomendaciones.....</b>	<b>76</b>
<b>Bibliografía.....</b>	<b>77</b>

## Índice de figuras

<b>Figura 1:</b> Esquema del grano de trigo y las capas que constituyen: salvado, germen y endospermo	12
<b>Figura 2.</b> Producción de granos básicos 1992 – 2002	19
<b>Figura 3.</b> Porcentaje de productores de trigo en México	22
<b>Figura 4:</b> Consumo de trigo en México	24
<b>Figura 5:</b> Producción mundial de trigo	25
<b>Figura 6:</b> Principales países productores de trigo 2010-2011	25
<b>Figura 7.</b> Estructura química de la quitina	38
<b>Figura 8.</b> Estructura química del quitosán	39
<b>Figura 9.</b> Muestras con trigo con sus respectivos tratamientos	55
<b>Figura 10.</b> Muestras de trigo tratado con quitosán – aceite esencial de canela al 0.1 y al 0.2%	57
<b>Figura 11.</b> Muestras de trigo tratado con quitosán – aceite esencial de canela al 0.2%	57
<b>Figura 12.</b> Prueba de % de germinación y vigor en el día 60 de una muestra de quitosán- aceite esencial de canela a 0.1 %	72

## Índice de tablas

<b>Tabla 1.3</b> Componentes químicos del trigo	16
<b>Tabla 1.4</b> Clasificación del trigo y usos industriales	21
<b>Tabla 1.6</b> Contenido de humedad y su relación con los hongos de almacén	34
<b>Tabla 1.7</b> Factores bactericidas de quitosán	41
<b>Tabla 1.7.1</b> Principales aplicaciones del quitosán	44
<b>Tabla 1.7.2</b> Principales aplicaciones del quitosán	45
<b>Tabla 3.1</b> Determinación del contenido de humedad de trigo almacenado y tratado con quitosán y aceite esencial de canela	61
<b>Tabla 3.2</b> Presencia de hongos en trigo almacenado y tratado con quitosán y aceite esencial de canela en el tiempo 20	63
<b>Tabla 3.3</b> Presencia de hongos en trigo almacenado y tratado con quitosán y aceite esencial de canela en el tiempo 40	64
<b>Tabla 3.4</b> Presencia de hongos en trigo almacenado y tratado con quitosán y aceite esencial de canela en el tiempo 60	65
<b>Tabla 3.5</b> Presencia de hongos en trigo almacenado y tratado con quitosán y aceite esencial de canela en el tiempo 80	66
<b>Tabla 3.6</b> Presencia de hongos en trigo almacenado y tratado con quitosán y aceite esencial de canela en el tiempo 100	67
<b>Tabla 3.7</b> Porcentaje de microbiota total presente en trigo y tratado con quitosán y aceite esencial de canela durante 100 días	68
<b>Tabla 3.8</b> Muestra los datos de germinación a diferente tiempo	71
<b>Tabla 3.9</b> Muestra los datos de longitud de plúmula (vigor) a diferente tiempo	74

## Introducción

El trigo es uno de los principales cultivos a nivel mundial, en México es el segundo cereal más consumido y su importancia radica en la variedad de alimentos que se obtienen a partir de su molienda que son fuente importante de alimento para la humanidad por el aporte nutricional para el crecimiento sano de la población (Othon, 2001).

El almacenamiento y conservación de los cereales básicos es una actividad bastante compleja. Tres factores fundamentales controlan la velocidad de crecimiento de hongos en los cereales, estos son: humedad, tiempo y temperatura. Cuando las condiciones no son adecuadas ciertas especies de hongos, son causa importante del deterioro del grano durante el almacenamiento. Los hongos pueden dañar los granos antes o después de la cosecha a los primeros se les denomina “hongos de campo” y a los segundos se les llama “hongos de almacén” (Hoseney, 1991). Sin embargo, uno de los problemas más importantes que provocan es la producción de sustancias altamente tóxicas, dichas sustancias llamadas micotoxinas afectan gravemente la salud del hombre o de los animales cuando consumen alimentos contaminados (Doyle y Beuchat, 2001).

A nivel mundial, después de los insectos, los hongos son los principales causantes de la reducción de la calidad de los cereales almacenados. Según datos de la FAO, el inadecuado manejo post-cosecha genera pérdidas a los agricultores que van desde 15 hasta 50 por ciento de la producción agravando así el problema del hambre (FAO, 2008).

Entre los métodos para controlar el ataque de insectos y hongos en el almacenamiento ha sido el control químico, pero, problemas de contaminación ambiental, ha conducido a la búsqueda y desarrollo de alternativas ecológicas,

como el quitosán derivado de la quitina que posee actividad antimicrobiana, el comportamiento de la formación de películas son favorables para lograr nuevas aplicaciones de este polímero natural (Agulló *et al*, 2003). Varios estudios han demostrado que el efecto antimicrobiano y antioxidante del quitosán se ha mejorado en gran medida por la adición de aceites esenciales (Georgantelis *et al*, 2007).

La incorporación de aceites esenciales en las películas de quitosán o recubrimiento no sólo puede aumentar a las películas el potencial antimicrobiano y antioxidante, sino también reducir la permeabilidad al vapor de agua y la oxidación de lípidos del producto en el que se aplica la película (Shahidi *et al*, 1999). Por lo que se consideró importante en este estudio probar el efecto del quitosán y aceite esencial, planteando como principal objetivo comparar el efecto antifúngico del quitosán y quitosán adicionado con aceite esencial de canela, como recubrimiento en grano de trigo para preservar su calidad sanitaria y biológica durante su almacenamiento.

## Resumen

En el presente trabajo se realizó una evaluación para determinar el efecto antifúngico del quitosán, él adicionado con aceite esencial de canela y aceite esencial de canela a diferentes concentraciones, aplicado como recubrimiento en trigo para disminuir pérdidas postcosecha.

Para realizar este trabajo el trigo se sometió a condiciones adversas de almacenamiento durante un período de 100 días a una temperatura de 25°C y 75% HR. Se probaron 6 tratamientos diferentes con los cuales se recubrió el grano, los cuales fueron quitosán al 1%, quitosán adicionado con aceite esencial de canela a tres diferentes concentraciones (0.05%, 0.1%, 0.2%) y aceite esencial de canela a dos diferentes concentraciones (0.1% y 0.2%), se realizaron muestreos cada 20 días para determinar el porcentaje del contenido de humedad, la microbiota presente, el vigor y porcentaje de germinación para evaluar su calidad sanitaria y biológica. Los tratamientos de quitosán y quitosán adicionado con aceite esencial de canela inhibieron casi por completo el crecimiento de hongos, sin embargo los tratamientos con mayor concentración de aceite esencial de canela tuvieron un efecto perjudicial en el porcentaje de germinación, viéndose como mejor opción el tratamiento con quitosán al 1% y el adicionado con de aceite esencial de canela a 0.05%, respecto al contenido de humedad, los tratamientos con mayor contenido de aceite de canela tuvieron los porcentajes menores y esta disminuyó a medida que aumentó el porcentaje de aceite de canela, de acuerdo a los resultados obtenidos parece haber un efecto de sinergia entre el aceite esencial de canela y el quitosán contra el crecimiento de hongos,

# Capítulo I

## 1.- Antecedentes

### 1.1 Generalidades de los cereales

Los cereales son una especie vegetal perteneciente a la familia de las gramíneas; los más cultivados son el trigo, el maíz, el arroz, la cebada, la avena, el sorgo y el mijo. Los cereales requieren diversas cantidades de humedad y se desarrollan en diferentes tipos de suelo. La mano de obra necesaria para el cultivo es baja y el rendimiento de alimento es alto en relación con el trabajo invertido (Calaveras, 2004).

Los cereales son seres vivos, respiran desprendiendo dióxido de carbono, agua y calor. En el comercio y en la industria, los cereales se recolectan, transportan y almacenan en forma de grano. Además los cereales constituyen una de las fuentes principales de carbohidratos, también contienen proteínas, grasas, algunas vitaminas y minerales (Trcheuschkner, 2001).

#### 1.1.2 Estructura del grano

Según Othon (2001) los granos de trigo, centeno y maíz conocidos como granos desnudos se componen de una cubierta de fruto (pericarpio) y semilla. La semilla está constituida a su vez por una cubierta de semilla, germen y endospermo.

El grano se subdivide en tres partes fundamentales: pericarpio, endospermo y germen:

1. **Pericarpio.** Protege al grano contra agentes bióticos (microorganismos, insectos), impide la pérdida de humedad, conduce y distribuye el agua y otros nutrientes durante la germinación. El pericarpio está compuesto por las siguientes capas:

- Epicarpio
  - Mesocarpio
  - Endocarpio
2. **Endospermo** Es la porción más grande de un grano, y está compuesto de células que almacenan almidón. Sus paredes son bastante delgadas ya que existe menos celulosa. Los nutrientes que se encuentran en esta zona son el almidón y las proteínas.
3. **Germen (embrión)**. Sirve como almacén de nutrientes y como puente de comunicación entre el embrión en desarrollo y los nutrientes del endospermo- carece de almidón y tiene un alto contenido en grasas, proteínas, azúcares solubles y cenizas.

## 1.2 Generalidades del trigo

Los trigos crecieron por primera vez en el Medio Oriente, pero a través de los siglos su cultivo se ha extendido. Se estima que existen cerca de 30 mil variedades de trigo, pero solo unas trescientas se cultivan para su comercialización (Hoseney, 1991).

### Descripción

Planta gramínea anual con espigas de cuyos granos molidos se saca la harina. La forma del grano de Trigo es ovalada con extremos redondeados, en uno de ellos sobresale el germen y en el otro hay un mechón de pelos finos conocido como el pincel; los granos de Trigo común pueden ser blandos o duros. En el fondo del surco hay una zona vascular fuertemente pigmentada; la altura de la planta que varía entre 30 y 150 cm; el tallo es recto y cilíndrico; la hoja es lanceolada, con un ancho de 0.5 a 1 cm y una longitud de 15 a 25 cm, cada planta tiene de 4 a 6 hojas ([www.siap.gob.mx](http://www.siap.gob.mx)).

## **Clima**

El mejor cultivo del Trigo se consigue en terreno cargado de marga y arcilla, aunque el rendimiento es satisfactorio en terrenos más ligeros. Prospera en climas sub-tropicales, moderadamente templados y moderadamente fríos; lo más apropiado es una pluviosidad anual de 229 a 762 mm, más abundante en primavera que en verano, la temperatura media en el verano debe ser de 13°C o más ([www.siap.gob.mx](http://www.siap.gob.mx)).

## **Siembra**

La cantidad de semilla depende del tipo de Trigo, en el que se siembra al voleo se emplean de 150 a 180 kg/ha, y si se realiza en líneas esta cantidad disminuye de 120 a 125 kg/ha, si el Trigo se destina a forraje verde se emplea mayor cantidad de semilla ([www.siap.gob.mx](http://www.siap.gob.mx)).

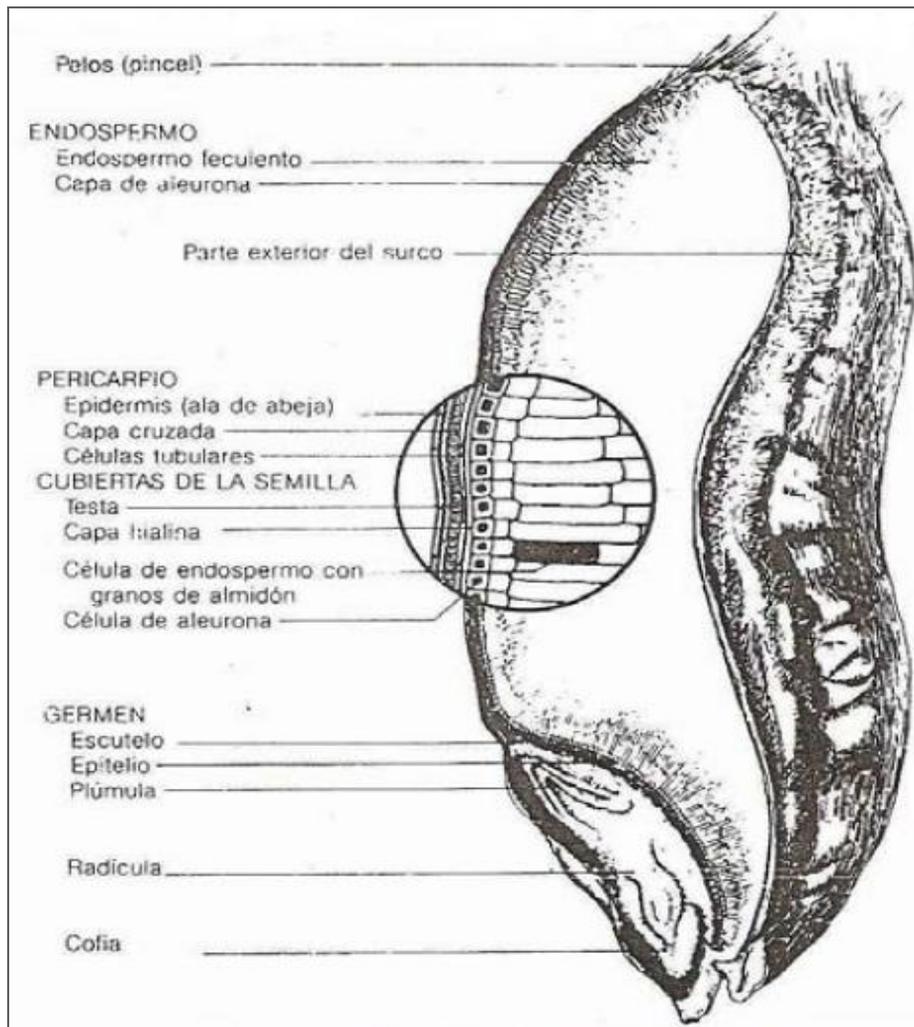
## **Cosecha**

El momento más conveniente para realizar la siega o cosecha es aquel en que los tallos han perdido por completo su color verde y el grano tiene suficiente consistencia. El corte del tallo se lleva a cabo a unos 30 cm del suelo y es regulada por la cosechadora. Los Trigos de invierno suelen cultivarse en las zonas templadas ([www.siap.gob.mx](http://www.siap.gob.mx)).

### **1.3 Morfología del trigo**

El trigo es una planta anual herbácea de hasta 1,2 m de altura. Los tallos son erectos y presentan estructura de caña, es decir están huecos en su interior excepto en los nudos. El crecimiento de los tallos no es apical sino que se produce por el estiramiento de los tejidos situados por encima de los nudos

(meristemo). Las hojas nacen de los nudos. Al igual que el resto de las gramíneas presentan dos partes: la vaina que rodea al peciolo y protege el meristemo o zona de crecimiento y el limbo que tiene forma alargada y presenta nervios paralelos (Hoseney, 1991).



**Figura 1:** Esquema del grano de trigo y las capas que constituyen: salvado, germen y endospermo (Kent, 1987).

Según Kent (1987) las flores se reúnen en espigas. Cada espiga consta de un eje principal o raquis sobre las que se distribuyen lateralmente las espiguillas. Estas constan de un eje principal del que nacen unos filamentos terminados por las glumas que encierran las flores hasta que estas empiezan a madurar.

Cada grano de trigo consta de las siguientes partes (fig. 1):

**a) Cobertura protectora.-** Es la estructura externa que envuelve la semilla y puede estar constituida apenas por el tegumento y, en algunos casos, también por el pericarpio. El tegumento es una cobertura formada por una capa de células; el pericarpio se origina de la pared del ovario.

La cobertura protectora tiene como funciones mantener unidas las partes internas de las semillas; contra choques y abrasiones; servir como barrera a la entrada de microorganismos en la semilla; regular la velocidad de rehidratación de la semilla, evitando o disminuyendo posibles daños causados por las presiones desarrolladas durante la absorción; regular la germinación, causando en algunos casos dormancia. En resumen, la cobertura protectora tiene funciones protectoras, reguladoras y delimitadoras.

**b) Eje embrionario.-** El eje embrionario tiene función reproductiva con capacidad para iniciar divisiones celulares y crecer. Es la parte vital de la semilla. Se trata de un eje porque inicia el crecimiento en dos direcciones: hacia las raíces y hacia el tallo. Generalmente, el eje embrionario es pequeño con respecto a las demás partes de la semilla.

**c) Capas internas.-** Es una fuente de energía y de sustancias orgánicas que son utilizadas por el eje embrionario en el proceso de germinación; desde el comienzo de la germinación hasta que se vuelve autotrófico, capaz de sintetizar materias orgánicas por el proceso de fotosíntesis. Las reservas de la semilla se pueden ubicar en los cotiledones, en el endospermo o en el perispermo.

**Testa.-** Es una capa intermedia entre las envolturas externas y el endospermo o albumen. Consta fundamentalmente de aceites y colorantes.

**Endospermo o albumen.-** Es la capa interna del grano de trigo y la que representa el mayor porcentaje del mismo (entre el 80 y 90% del peso total). El albumen está formado por hidratos de carbono en forma de almidón. La función de esta parte es proporcionar las sustancias de reserva para el crecimiento de la nueva planta.

**Germen.-** Ocupa la parte interior del endospermo. Está formado fundamentalmente por proteínas, aceite, enzimas y vitaminas del grupo B. Consta de la radícula (raíz embrionaria) y de la plúmula (hoja embrionaria) a partir de esta parte del grano se origina el crecimiento de una nueva planta.

### 1.3.1 Composición química del grano

De acuerdo a Scade (1981) las principales sustancias almacenadas por los granos son los carbohidratos, los lípidos y las proteínas. El principal carbohidrato de reserva en los granos es el almidón. Cuando el almidón es la sustancia de reserva predominante, el grano es denominado amilácea; es llamado oleaginoso cuando los lípidos son las sustancias de reserva predominantes; y proteico cuando éstas son las proteínas.

**Tabla 1.3** Componentes químicos del trigo

Carbohidratos	Proteínas	Lípidos
<p>El almidón es el hidrato de carbono más importante de todos los cereales, constituyendo aproximadamente el 64% de la materia seca del grano completo de trigo y un 70% de su endospermo.</p> <p>La celulosa y la hemicelulosa, son los principales constituyentes de la pared celular de los granos de cereal y junto con la lignina constituyen el grueso de la fibra cruda.</p> <p>Azúcares. La riqueza de los granos del cereal en azúcar libre es de 1 – 3%. Los oligosacáridos de la harina de trigo son la maltotriosa, terrosa y pentosa.</p>	<p>En las proteínas de los cereales se encuentran unos 18 aminoácidos diferentes y constituyen el 9 -13 % del peso seco de la harina de trigo. Las proporciones en que se encuentran estos aminoácidos y su orden en las cadenas, determinan las propiedades de cada proteína.</p> <p>El 85% de las proteínas poseen la característica singular de combinarse con el agua, dando lugar al denominado “gluten”, que confiere a la masa la capacidad de retener gas. El gluten está constituido por dos grupos principales de proteínas: glutelinas, de alto peso molecular, que son glutelinas (proteínas solubles en soluciones diluidas de ácido o base) y gliadinas de bajo peso molecular, que son prolaminas.</p>	<p>I. Ácidos grasos. Los lípidos de los cereales son glicéridos de ácidos grasos. Los ácidos grasos saturados constituyen el 11-26% del total, los no saturados 72-85%.</p> <p>II. Fosfolípidos. Son una mezcla compleja de grasas, ácidos grasos esenciales, ácido fosfórico y dos vitaminas del grupo B.</p> <p>Los principales tipos de Fosfolípidos son las lecitinas, las cefalinas y las esfingomielinas, siendo la lecitina el principal fosfolípido presente en los cereales. La grasa de los cereales contienen hasta un 4% de Fosfolípidos.</p>

**Fuente:** Scade (1981)

### 1.3.2 Proceso respiratorio

Después de cosechados, los granos continúan viviendo y, como todos los organismos vivos, respiran. La respiración bajo condiciones aeróbicas (en presencia de oxígeno libre) es el proceso por medio del cual las células vivas de los vegetales oxidan los carbohidratos y las grasas, por medio del oxígeno

atmosférico, produciendo gas carbónico ( $\text{CO}_2$ ), agua ( $\text{H}_2\text{O}$ ) liberando energía en forma de calor (Trcheuschkner, 2001).

### **1.3.3 Factores que afectan la respiración**

De acuerdo a Ramírez (1992) según las reacciones presentadas, el proceso respiratorio va acompañado de una pérdida de sustancias nutritivas. Los principales factores que afectan la velocidad del proceso respiratorio son:

#### **1) Temperatura**

Al estudiar la influencia de la temperatura sobre el proceso respiratorio de los granos, diversos investigadores concluyeron que la respiración aumenta rápidamente cuando la temperatura se eleva de  $30^\circ$  a  $40^\circ\text{C}$ , y a partir de este punto se produce un acentuado descenso del proceso. Por lo general, el aumento de la temperatura puede acelerar la respiración dos o tres veces hasta un cierto límite, arriba del cual disminuye como resultado de los efectos destructores de las altas temperaturas sobre las enzimas.

#### **2) Nivel de humedad**

El nivel de humedad de los granos influye directamente sobre su velocidad de respiración. Los granos almacenados con humedad de entre 11 y 13 por ciento tienen un proceso respiratorio lento. Sin embargo, si se aumenta el contenido de humedad, se acelera considerablemente la respiración y, en consecuencia, ocurre un deterioro. El nivel de humedad del producto es un factor fundamental para su conservación.

### **3) Desarrollo de los Hongos**

La respiración del grano es bastante difícil de medir a causa de la dificultad para distinguir entre la respiración propia del grano y la de los microorganismos que siempre van asociados con él.

Recientes investigaciones concluyeron que una parte significativa del gas carbónico ( $\text{CO}_2$ ) que se produce durante la respiración, se debe al metabolismo de los insectos presentes en los granos secos y a los microorganismos (sobre todo hongos) presentes en los granos húmedos. Cuando los hongos son los principales agentes responsables del aumento del proceso respiratorio se puede llegar a un punto en que los granos húmedos dejan de ser organismos vivos y pasan a ser un substrato alimenticio de los hongos, que siguen respirando y transformando la materia seca de los granos en gas carbónico, agua y calor.

### **4) Composición del aire ambiente**

A parte de la temperatura y del contenido de humedad que actúan sobre todos los procesos bioquímicos, la composición del aire ambiente de almacenaje (relación entre gas carbónico y oxígeno) también afecta el proceso respiratorio de la masa de granos. Cuanto mayor sea la proporción de  $\text{CO}_2$  y menor la de oxígeno menor será la intensidad respiratoria de los granos almacenados en una bodega o silo. La intensidad de la aireación afecta a la respiración, tanto del grano como de sus microorganismos asociados ya que la respiración consume oxígeno y produce dióxido de carbono. Con baja intensidad de aireación, la respiración tiende a quedar limitada por el suministro de oxígeno.

### 1.3.4 Consecuencias del proceso respiratorio

El grano almacenado bajo condiciones razonables, perderá peso lentamente, a causa de la respiración. En general, si se almacena el grano convenientemente, la pérdida de peso es muy lenta. Se pierde una proporción mucho mayor de grano en el almacenamiento inmediatamente posterior a la recolección, a causa de los insectos, microorganismos, roedores o pájaros. Estas pérdidas, pueden ser muy grandes, y en algunos países se han estimado hasta en un 50% (Trcheuschkner, 2001).

#### ➤ Pérdida de peso

Mientras más alto es el contenido de humedad y la temperatura de la masa de granos, más intenso es el proceso respiratorio lo que implica mayor consumo de sustancias orgánicas, rápido deterioro del producto y mayor pérdida de materia seca y peso.

#### ➤ Calentamiento de los granos

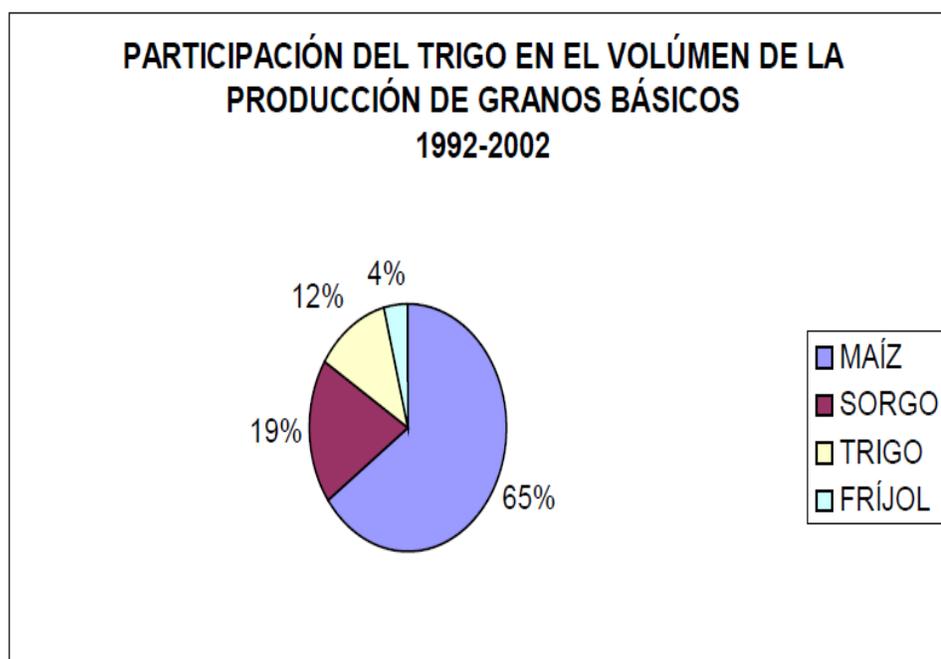
Existen dos clases de calentamiento en los granos:

- a) Calentamiento de granos secos o calentamiento ocasionado por insectos que pueden desarrollarse en los granos con humedad cercana al 15 por ciento o menos, lo que produce temperaturas de hasta 42 °C;
- b) Calentamiento de granos húmedos ocasionado por microorganismos que se desarrollan en los granos con humedad de 15 por ciento o superior, lo que produce temperaturas de hasta 62 °C.

## 1.4 Producción de trigo

El trigo es muy importante para la dieta alimentaria a nivel mundial, es uno de los principales granos para la alimentación, el cual junto con el maíz y el arroz se producen en muchos países. Con él se elaboran varios productos de consumo

masivo, como panes, tortillas, pastas, galletas, atoles, papillas, obleas y pasteles ([www.oeidrus-bc.gob.mx](http://www.oeidrus-bc.gob.mx)). Además contiene nutrientes y valor energético en mayor cantidad que los demás granos y el valor nutrimental sólo es comparable con la avena (Figura 1) ([www.siap.gob.mx](http://www.siap.gob.mx)).



**Figura 2.** Producción de granos básicos 1992 – 2002.

**Fuente:** SAGARPA Y SIAP, junio 2004.

La producción primaria de trigo en México se concentra principalmente en dos regiones del país, el noroeste y el Bajío. La primera, representa aproximadamente el 55% de total nacional y agrupa a los estados de Baja California, Sonora y Sinaloa; en tanto que el 20% lo conforma la región Bajío a través de los estados de Guanajuato, Jalisco, Michoacán y Querétaro. El principal ciclo agrícola para la producción de trigo corresponde al de Otoño–Invierno como se puede observar en el cuadro 1.1, para este período destacan los estados de Sonora, Guanajuato, Baja California, Sinaloa, Michoacán, Chihuahua y Jalisco. En el ciclo de Primavera–Verano, los principales estados productores son Tlaxcala, México, Puebla, Hidalgo y Jalisco ([www.infoaserca.gob.mx](http://www.infoaserca.gob.mx)).

En Mexico existe una clasificación de trigos que depende del tipo y características del gluten (tabla 1.4). La producción nacional se destaca por el cultivo de variedades de trigos suaves y cristalinos.

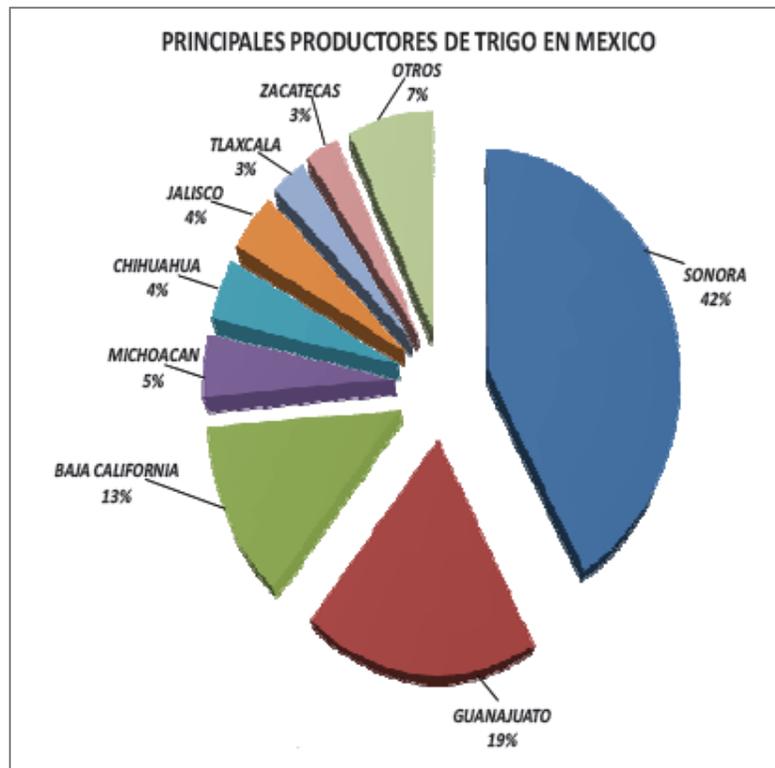
**Tabla 1.4** Clasificación del trigo y usos industriales

Grupo	Tipo y características del gluten	Usos industriales	Características
I	Fuerte y elástico	Industria mecanizada de panificación. Se usa como mejorador de trigos suaves.	Produce Harina panificable
II	Medio fuerte y elástico	Industria del pan hecho a mano o semimecanizado	Produce Harina panificable
III	Suave y extensible	Industria galletera, frituras y elaboración de tortillas	<b>Fuente:</b> Centro de Estadísticas Agropecuario, SAGARPA por si solos, necesitan ser mezclados
IV	Corto y tenaz	Industria pastelera y elaboración de galletas	No producen harinas panificables por si solos, necesitan ser mezclados
V	Tenaz, corto y cristalino con contenido de caroteno	Industria de pastas, spaguettis y macarrones.	No es panificable

**Fuente:** Servicios de comercialización agropecuaria (ACERCA) y Agronegocios

En el periodo 1996 – 2009, la producción nacional del trigo fue en promedio de 3.265 millones de toneladas, siendo los años 2003 y 2004 los que registraron la menor producción. La menor producción observada en 2004 (394 mil toneladas), se debió a una menor superficie sembrada (14%) en comparación con 2003,

principal estado productor, quien disminuyó su participación de superficie sembrada en un 58.5% con respecto de 2003, al pasar de 251,335 has. a tan sólo 104,268 has. Sonora es el principal estado productor y su contribución en la producción durante 2008 se ubicó en 41.9% (Fig. 2); seguido por Guanajuato que contribuyó con el 19.2% y Baja California con el 12.7% en promedio anual ([www.sagarpa.gob.mx](http://www.sagarpa.gob.mx)).



**Figura 3.** Porcentaje de productores de trigo en México.

**Fuente:** Fuente: Servicio de Información Agroalimentaria y pesquera, con cifras tomadas del Sistema de Información de Consulta (SIACON).

#### 1.4.1 Consumo de trigo en México

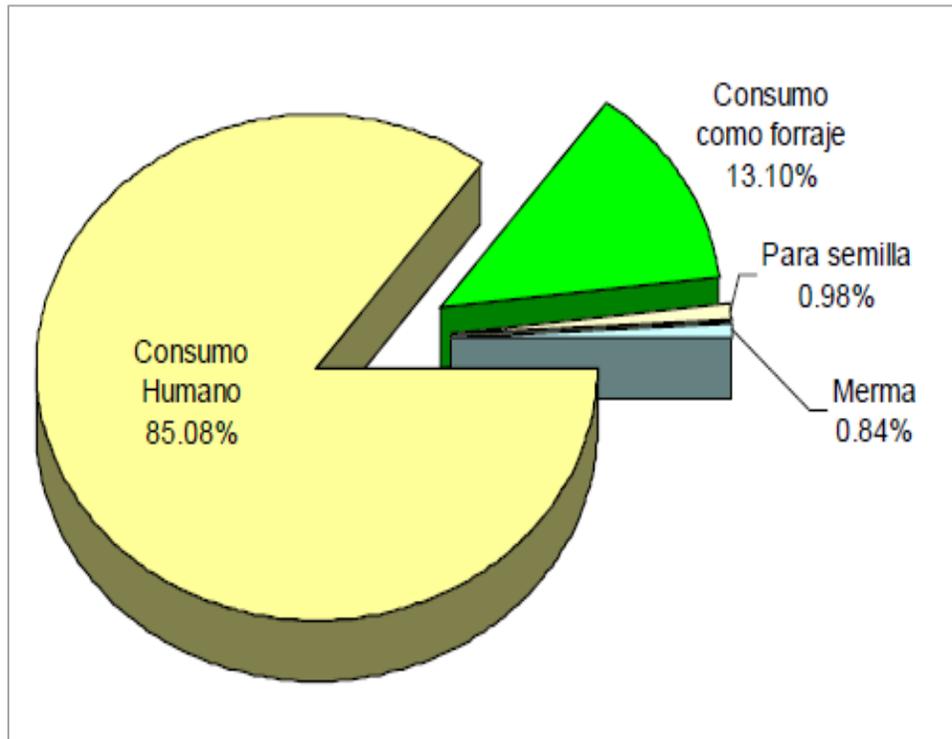
El consumo humano de este cereal, no puede realizarse directamente, pues requiere un proceso previo de transformación que comienza con la molienda, mediante la que se obtiene la harina, lo cual ubica a la industria harinera como el eslabón estratégico de la cadena producción-consumo y la constituye como principal demandante del grano. La harina cruda no es digerible por el sistema

digestivo humano, por eso, para el consumo se requiere de cocción, generalmente por horneado o hervido ([www.oeidrus-bc.gob.mx](http://www.oeidrus-bc.gob.mx)).

El trigo posee un alto grado de comercialización, por lo que el autoconsumo no es significativo. Este cereal requiere, para su consumo humano un proceso previo de transformación que da como resultado la producción de harina, que es utilizada como materia prima en algunas industrias, que la transforman cocinada a productos masivos terminales (panificación y repostería). Por lo anterior, la mayor demanda del cereal en nuestro país la tiene la industria harinera, la que a su vez provee de materia prima a los fabricantes de la industria del pan, en donde la calidad del producto es determinada por la cantidad y la calidad de la proteína del grano ([www.oeidrus-bc.gob.mx](http://www.oeidrus-bc.gob.mx)). Las importaciones de trigo representan el 72.4% en relación con la producción nacional y el 38.9% del consumo nacional del producto. Las exportaciones alcanzan el 13.3% de la producción en el país, y particularmente se refiere a trigos duros. A pesar del déficit en la balanza comercial, el 24.3% del consumo nacional de trigo se destina a usos como alimento para animales (Fig. 4), empleando principalmente trigos denominados “panza blanca”, cuyo valor en la industria es muy bajo. La producción para uso como semilla y las mermas se estiman en menos de 1% cada una ([www.sagarpa.gob](http://www.sagarpa.gob)).

En la actualidad la cadena agroalimentaria del trigo en México se encuentra inmersa en el fenómeno de globalización de los mercados, particularmente al nivel de su eslabón en la producción primaria, la cual compite de manera abierta con la oferta mundial de trigo para hacer llegar el producto a la industria harinera, la que a su vez, a pesar de tener un buen posicionamiento en el mercado nacional, enfrenta el riesgo de incremento de competencia con productos extranjeros que satisfagan las crecientes demandas de calidad por la industria de panificación, galletera, pastas alimenticias y pastelería. Éstos últimos no sólo participan en el

mercado local, ya que algunos de ellos, particularmente las grandes compañías, han empezado a desarrollar mercados en otros países, con mucho énfasis en América Latina ([www.siap.gob.mx](http://www.siap.gob.mx)).



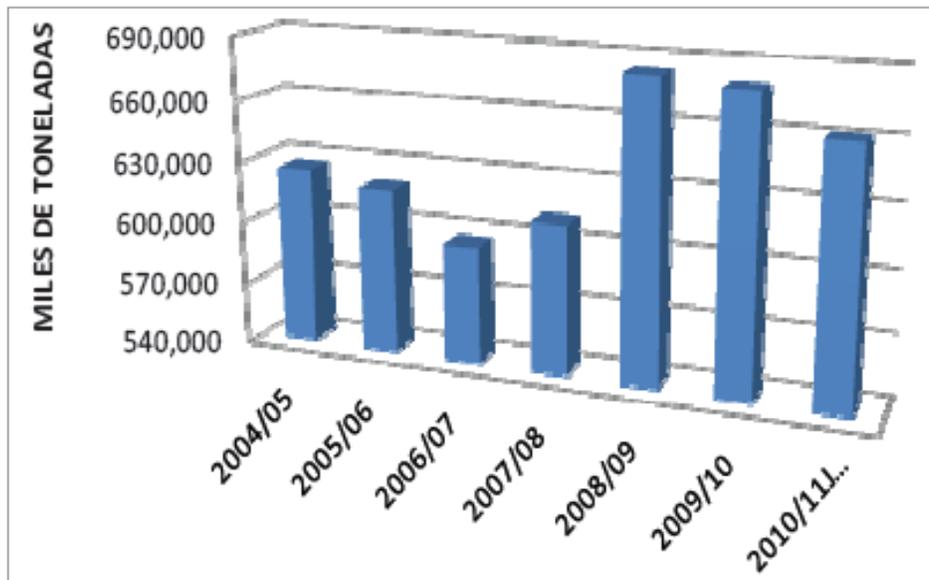
**Figura 4:** Consumo de trigo en México.

**Fuente:** Balanza Mensual de disponibilidad – consumo, Servicio de Información y Estadística Agroalimentaria y Pesquera (SIAP), SAGARPA, México, 2003.

#### 1.4.2 Situación mundial de la producción

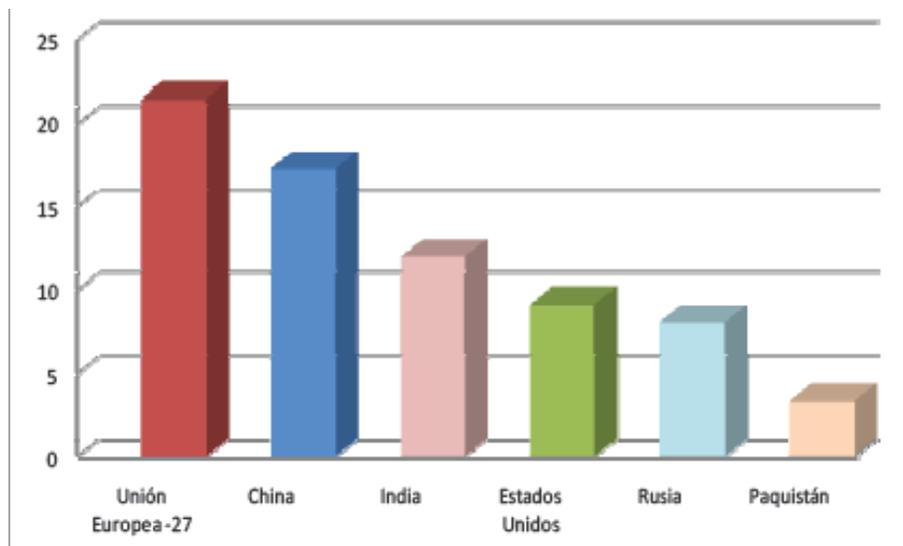
En el período 2004/05 y 2010/11, de acuerdo a datos del Foreign Agricultural Service (FAS- USDA), la producción promedio de trigo a nivel mundial se ubicó en 639.4 millones de toneladas (fig. 4), observándose que en dichos años, el que mayor producción registró fue 2008/09, con una oferta mundial de 683.3 millones de toneladas. Durante el período, los principales países productores fueron la Unión Europea con 21.4% de la producción mundial, segundo por China con

17.32%, India con 11.96%, Rusia con 8%, Estados Unidos con 9.1% y Paquistán con 3.4% (fig. 5) ([www.infoaserca.gob.mx](http://www.infoaserca.gob.mx)).



**Figura 5:** Producción mundial de trigo.

**Fuente:** Foreign Agricultural Service/USDA Office of global Analysis, Jul 2010



**Figura 6:** Principales países productores de trigo 2010-2011 (porcentaje)

**Fuente:** Foreign Agricultural Service/USDA Office of global Analysis, Jul 2010

### 1.4.3 Comercialización de Trigo

En la medida en que un mayor número de países se integre a los mercados globales y que el incremento en productividad y la autosuficiencia se logre a través de una mayor competitividad económica y las ventajas comparativas de estas naciones, las posibilidades de abastecer de alimentos a la población serán mayores, en la medida en que serán empleados los recursos globales en forma especializada y en función de las ventajas comparativas que cada región o nación posea o desarrolle ([www.siap.gob.mx](http://www.siap.gob.mx)).

Los exportadores tradicionales de trigo como son Argentina, Australia, Canadá y los Estados Unidos definitivamente se verán beneficiados con el incremento en la demanda mundial de trigo, en la medida en que esta ejerza presión para que los precios internacionales aumenten. De igual forma, se espera que nuevos países exportadores emerjan de América latina y África. Aquellos países que cuenten con una alta proporción tierra – mano de obra calificada y capacitada, buena infraestructura de mercado y condiciones agroclimáticas adecuadas serán los candidatos a ser países exportadores de trigo. México y Brasil son dos de los países que se encuentran cercanos a estas condiciones. En el caso de México se tienen las condiciones para impulsar su participación como un importante productor en el mercado de los trigos duros ([www.siap.gob.mx](http://www.siap.gob.mx)).

## 1.5 Almacenamiento

Los cereales son sometidos a almacenamiento durante periodos de tiempo relativamente largos. Se suelen cosechar con contenidos de humedad relativamente bajos y cuando se almacenan protegidos de las inclemencias meteorológicas y evitando insectos y roedores, se pueden conservar fácilmente durante varios años. Bajo condiciones ideales de almacenamiento el período de seguridad para la conservación, se puede medir en decenios (Ramírez, 1992).

El almacenamiento de los granos alimenticios, es un proceso costoso que trae implícitos fuertes gastos y problemas de carácter muy complejo, los granos y cereales destinados a ser usados como semillas, alimento o para la industria, están sujetos durante el período crítico de su almacenamiento a pérdidas variables, adicionales a las naturales, causadas principalmente por factores físicos o bióticos (Othon, 2001).

Los factores físicos más favorables para el desarrollo rápido de las plagas y enfermedades son la humedad y la temperatura pudiendo ser las principales causas del deterioro y pérdida de granos y semillas en el almacenamiento. El desarrollo de los insectos y microorganismos, así como la respiración de las semillas y de los granos, se incrementa mucho más cuando estos dos factores actúan al mismo tiempo y en el mismo sentido; que cuando solamente uno de ellos es favorable para estas actividades bióticas, el otro se convierte entonces en un factor limitante en el proceso complejo que, finalmente, determinará la conservación del grano o la semilla almacenados (Haldore, 1985).

El principio de un buen almacenamiento y conservación de granos y semillas es el empleo de bodegas secas, limpias y libres de plagas donde se almacenen granos secos y enteros, sanos y sin impurezas. En el aspecto agrícola, todos los esfuerzos realizados por el hombre para incrementar la producción de granos alimenticios, pierden virtualmente su valor, si no se dispone de sistemas apropiados para conservar esos productos (Hoseney, 1991).

### **1.5.1 Sistemas básicos de almacenamiento.**

El almacenamiento del grano puede variar desde el sencillo vertido del grano sobre el suelo o sobre las calles, hasta el almacenamiento sobre grandes estructuras de cemento. Generalmente, se apila el grano sobre el suelo solamente durante la temporada de recolección cuando el equipo de transporte queda escaso, este sistema de almacenamiento no es tan malo ya que un montón de grano elimina agua muy bien, y solamente se estropea, a corto plazo, la capa superior de una pulgada o dos. Las sociedades primitivas solían almacenar bajo tierra el excedente de sus granos. Esta práctica continúa hoy en día en algunas regiones del mundo, ya que el almacenamiento subterráneo ofrece varias ventajas, protege al grano de las variaciones diarias y estacionales de temperatura; la construcción es relativamente sencilla; y protege al cereal de insectos y hongos a causa del bajo contenido de oxígeno y alto valor del CO<sub>2</sub> en el aire que queda entre las semillas. El paso siguiente de mejora de almacenamiento son los sacos. El grano ensacado se puede conservar en casi cualquier albergue que proteja los sacos de las inclemencias del tiempo y de los predadores. Los sacos se pueden manejar sin equipo. Sin embargo, son relativamente caros y el manejo es costoso, a no ser que la mano de obra sea muy barata (Ramírez, 1992).

El almacenamiento a granel en depósitos es el sistema más generalizado hoy día, el tamaño del depósito puede variar dependiendo el uso. Cuando se vierte el grano a un depósito, se forma un ángulo con la horizontal que se llama *ángulo al reposo*, el ángulo que forman la mayoría de los granos es de unos 27° C. La tolva de descarga en la parte inferior del silo, debe tener forma cónica con pendiente mayor que la del ángulo de reposo, pues si no, no fluirá el grano (Hoseney, 1991).

### **1.5.2 Factores que determinan pérdidas en el almacén**

Según Haldore (1985) considera que los principales factores en orden de importancia que determinan y acentúan las pérdidas de los granos que se almacenan en la mayoría de las áreas del mundo, son las siguientes:

#### **1) La carencia de almacenes adecuados para el manejo y el almacenamiento.**

El almacén, bodega o troje, es el lugar que determina, en gran parte, con que seguridad se conservaran los granos y productos allí depositados. La función primordial de un almacén o bodega, de cualquier tipo o capacidad, es la de proporcionar a los granos y a sus productos toda la protección posible contra los factores adversos del medio ambiente para garantizar su conservación adecuada a corto o largo plazo.

#### **2) El alto contenido de humedad y de impurezas del grano en el momento de almacenarlo.**

Cuando el grano es almacenado con exceso de humedad, automáticamente se predispone a un calentamiento excesivo o espontaneo, debido a su alto

rango respiratorio y simultanea o subsecuentemente, a la descomposición y pérdida de este grano por el ataque de hongos, bacterias e insectos.

La presencia de grano roto almacenado o de impurezas en el mismo, indudablemente es un factor negativo para que el grano se almacene con propiedad y, sobre todo, se conserve en buenas condiciones por un tiempo determinado (Othon, 2001).

Se han efectuado muchos trabajos de investigación a este respecto y está plenamente comprobado que el grano roto y dañado respira mucho más rápido que los granos completos o enteros bajo las mismas condiciones ambientales. Por otro lado, los granos dañados tienen mayores superficies de acceso para los hongos ya que son una fuente de nutrientes mucho más accesible para los insectos (Magan *et al*, 1983).

### **3) La presencia de plagas y enfermedades**

Existen cuatro tipos de plagas y enfermedades que individualmente o en conjunto pueden causar pérdidas a los granos tanto el campo como en el almacén. Estas son: los insectos; los microorganismos (hongos y bacterias); los roedores (ratas y ratones) y los pájaros en el campo antes de la cosecha.

### **4) Manejo deficiente de granos y semillas**

La conservación de un producto de esta naturaleza depende de la disponibilidad de grano o semilla en buena condición, es decir, sano, limpio y seco, y de la facilidad de tener una bodega, almacén o silo, que mantenga la condición del grano almacenado y lo proteja de los factores adversos, durante un corto o largo período de almacenamiento (Hoseney, 1991).

## 1.6 Hongos

Los hongos son los principales microorganismos de la micobiota presentes en los granos almacenados y constituyen la más importante causa de pérdidas y deterioro durante el almacenamiento. Prefieren ambientes o substratos con alto contenido de humedad y son los agentes responsables del deterioro por el gran aumento de la respiración de los granos húmedos. Por lo general, los hongos que atacan los granos se dividen ecológicamente en: hongos de campo, hongos de almacenamiento y de deterioro avanzado. El grano recién cosechado es a menudo contaminado con una variedad de hongos de campo y de almacén. El tipo de hongos que se desarrollan en el almacenamiento y llegan a dominar el ecosistema del grano almacenado va depender del contenido de humedad del grano y su temperatura, que puede ser modificado por el calentamiento espontáneo (Clarke, 1986).

### 1.6.1 Micobiota

Los cereales son hospederos de gran número de especies diferentes de hongos, solamente unos pocos géneros atacan al grano almacenado. Estos son primordialmente especies de *Aspergillus* y *Penicillium*, que están adaptadas a vivir en grano con poca humedad. Dentro de los factores bióticos que ocasionan deterioro en granos y semillas, los hongos juegan un papel importante ya que afectan su poder germinativo, y su calidad nutricional y sanitaria como granos alimenticios (Kent, 1987).

Se han reportado más de 150 especies de hongos en granos y semillas; la mayoría de estas especies se encuentran como contaminantes superficiales debido a que la principal forma de propagación de las esporas es por medio del aire. Sin embargo, uno de los problemas más importantes que provocan es la

producción de metabolitos secundarios altamente tóxicos cuando las condiciones de temperatura y humedad les son favorables. Dichos metabolitos son llamados micotoxinas, los cuales afectan gravemente la salud del hombre o de los animales cuando consumen alimentos contaminados (Williams, 1983).

### **1.6.2 Hongos de Campo**

Son aquellos que invaden las semillas durante su desarrollo en el campo o cuando estas han madurado y permanecen en el campo en espera de ser cosechadas. Los hongos de campo requieren contenidos de humedad en los granos de 25 a 30 por ciento (base húmeda) por lo que detienen su desarrollo cuando las semillas infectadas alcanzan porcentajes de humedad inferiores. Las esporas de estos hongos pueden sobrevivir durante mucho tiempo en los granos húmedos; sin embargo, no germinan cuando el contenido de humedad está en equilibrio con humedades relativas inferiores al 75 por ciento (Hill, 1983).

Los hongos de campo pueden provocar pérdida de la coloración natural y del brillo de los granos, con lo que se reduce el valor comercial del producto. En las semillas, además de reducir el poder germinativo y el vigor, pueden ocasionar putrefacción de las raíces y otras enfermedades de las plantas, los hongos de campo que predominan varían de acuerdo con la cosecha, localidad geográfica y el clima, pero con el trigo, la mayoría corresponde a los géneros *Alternaria*, *Cladosporium*, *Hemilthosporium* y *Fusarium* (Pomeranz, 1982).

### **1.6.3 Hongos de almacén**

Las fuentes de contaminación se encuentran en los graneros y silos por ser ahí donde estos hongos encuentran las condiciones favorables para su desarrollo y donde sus esporas permanecen en estado latente de una temporada de

almacenamiento a otra, a veces durante varios años. La característica principal de los hongos de almacén es su habilidad para crecer en granos y semillas que tienen bajos contenidos de humedad (13.5 - 14%). Estos hongos se desarrollan después de la cosecha, cuando el contenido de humedad de los granos está en equilibrio con una humedad relativa superior al 65 o 70%. Los hongos de almacén, causan diversos daños a los granos y semillas almacenadas, siendo los más sobresalientes la reducción del poder germinativo de las semillas, el ennegrecimiento de los granos y la producción de micotoxinas. La mayoría de las micotoxinas son producidas por especies de los géneros *Aspergillus* y *Penicillium* (Hill, 1983).

*Aspergillus* es el nombre genérico para designar a un grupo de hongos, este grupo de hongos se encuentra entre los seres vivos más abundantes en la naturaleza. Las condiciones que favorecen el crecimiento de *Aspergillus* son altas temperaturas, estas condiciones también favorecen la producción de aflatoxinas a partir de estos hongos, como *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* y *Aspergillus nomius*. Los mohos de este género *Aspergillus* causan el deterioro de muchos productos alimenticios. También producen la inhibición de la germinación junto con cambios de color, calentamiento, enmohecimiento, apelmazamiento y finalmente podredumbre de las semillas (Kulik *et al*, 1987).

#### 1.6.4 Factores que influyen en el desarrollo de los hongos

De acuerdo a Ramírez (1992) los factores que influyen para el óptimo desarrollo de los hongos son:

**Humedad.-** El contenido seguro de humedad del grano para conservarse almacenado por un año es de 12 a 13 por ciento. Con contenidos de humedad de 14-15% *Aspergillus restrictus* puede crecer lentamente y eventualmente producirá enmohecimiento y decoloración en el germen. A medida que aumenta el contenido

de humedad, los hongos crecen más rápido y causan más daño, también estarán compitiendo con especies con mayores requerimientos de humedad como se puede observar en la tabla 1.6.

**Tabla 1.6** Contenido de humedad y su relación con los hongos de almacén

Humedad Relativa %	Avena, Arroz, Cebada, Maíz, Mijo, sorgo, trigo	Hongos
65 - 70	13.0 – 14.0	<i>Aspergillus halophilicus</i>
70 - 75	14.0 – 15.0	<i>A. restrictus</i> , <i>A. glaucus</i>
75 - 80	14.5 – 16.0	<i>A. candidus</i> , <i>A. ochraceus</i> mas los de arriba
80 - 85	16.0 – 18.0	<i>A. flavus</i> , <i>Penicillium</i> mas los de arriba
85 - 90	18.0 – 20.0	<i>Penicillium</i> , mas los de arriba

Fuente: Barnett, (1999).

**Temperatura:** La mayoría de los hongos de granos almacenados crecen rápidamente entre los 20 a 40 °C cuando la humedad relativa excede del 90%. El conocimiento de los límites de temperatura y de la humedad del grano en la cual crecen los diferentes grupos de hongos, permite determinar los requerimientos de manejo necesarios para evitar el deterioro del grano.

**Oxígeno:** Por lo general los organismos vivos requieren de oxígeno atmosférico para subsistir, sin embargo, existen algunos microorganismos que se desarrollan perfectamente con concentraciones de oxígeno muy bajas, como es el caso de hongos de almacén.

**Tiempo para desarrollarse:** El período de almacenamiento es un factor importante para el desarrollo de los hongos y está muy relacionado con el contenido de humedad y la temperatura que deben estar perfectamente controladas.

### 1.6.5 Daños provocados por una invasión fúngica en el grano.

Según Hosney (1991) los efectos de la invasión de hongos incluyen:

- i. **Modificación de las características organolépticas del alimento:** mal olor, mal sabor, mal aspecto con decoloración, apelmazamiento y disminución de la fluidez. Es evidente que todo esto conduce a una significativa disminución de la calidad del grano.
- ii. **Deterioro y reducción de las características nutritivas del alimento:** en las fases de proliferación y crecimiento fúngico, hay un consumo de nutrientes básicos por parte de los mohos y levaduras produciéndose una degradación de proteínas, grasas e hidratos de carbono así como también alteraciones en los valores vitamínicos. Todo esto conduce a una disminución del valor proteico, de la energía y del contenido total de almidón con la consiguiente pérdida de energía y alteración del valor energético del alimento.
- iii. **Segregación masiva de enzimas que provoca reacciones de lisis fuertemente exotérmicas.** Es evidente que este calor perdido disminuye el valor energético original del alimento afectado. Por otro lado se pueden ocasionar explosiones e incendios por la acumulación en los silos del metano y otros gases inflamables que se desprenden en los procesos metabólicos de los hongos durante el ataque a las materias primas almacenadas.
- iv. **Reducción de peso en el producto almacenado**  
La respiración del grano y hongos se traduce en una pérdida de materia seca y se produce calor y humedad que contribuyen a su deterioro adicional. La respiración de los hongos libera calor, dióxido de carbono y agua lo que ocasiona un aumento en la temperatura y humedad, que

facilita el crecimiento de hongos. Algunas veces los hongos ocasionan la formación de una masa o apelmazamiento de granos que en casos extremos puede llegar a ser negro y carbonizado (Ramírez, 1992).

#### **1.6.6 Germinación en el grano**

La germinación es uno de los indicadores más sensibles de la invasión de hongos en el almacenamiento. Los hongos de almacenamiento al invadir matan a los embriones, algunas veces el daño no se nota al exterior del grano, algunos hongos, tales como *A. restrictus* parecen atacar el germen exclusivamente. La germinación puede ser baja por varias razones, pero cuando se le da seguimiento al progreso de la proliferación de hongos y porcentaje de germinación durante el almacenamiento, a menudo hay una relación (Scade, 1981).

Los granos poco a poco pierden su viabilidad, la acción de los hongos, la actividad enzimática y la respiración lenta gradualmente perturban la integridad de las células por lo que las semillas ya no germinan normalmente. La temperatura alta es perjudicial para las semillas con o sin hongos. Los mecanismos para la reducción de la germinación son variables y poco conocidos. La respiración de los hongos da como resultado una pérdida de materia seca en el grano, bajo ciertas condiciones la pérdida de peso menor al 0.5% ocurre cuando hay suficiente crecimiento de hongos lo que puede dar lugar a la contaminación por micotoxinas (Pomeranz, 1982).

### 1.6.7 Micotoxinas

Las micotoxinas son metabolitos secundarios producidos por hongos filamentosos, cuya ingestión, inhalación o absorción cutánea produce enfermedades o causa la muerte de animales y personas. Los géneros de hongos más abundantes que producen estas toxinas son *Fusarium*, *Aspergillus* y *Penicillium*. Las propiedades químicas, biológicas y toxicológicas de las micotoxinas son diversas, por lo tanto, sus efectos tóxicos en humanos y animales son variables dependiendo de diversos factores como: el tipo de toxina, sus mecanismos de acción, el nivel de ingesta, la duración de la exposición, el metabolismo, los mecanismos de defensa, la edad y sexo (Magan *et al*, 1983).

La “micotoxicosis” se define como la respuesta tóxica causada por las micotoxinas en el hombre y los animales. Las aflatoxinas son las más conocidas y probablemente las micotoxinas más importantes. Se trata principalmente de un problema en zonas cálidas y tropicales, debido a las condiciones ambientales que prevalecen en el campo, así como en el almacenamiento. Se han encontrado en una gran variedad de cereales, productos de cereales, frutos secos y otros productos alimenticios (Ramírez, 1992).

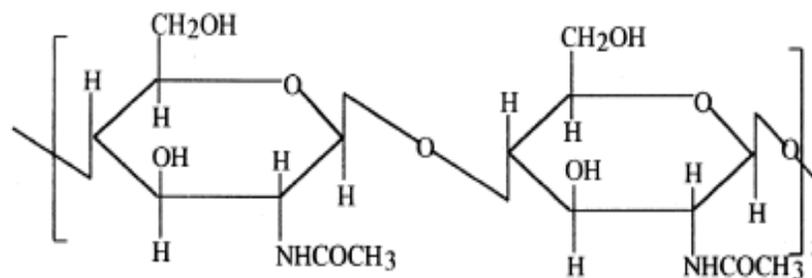
Debido a su capacidad de producir aflatoxinas, *Aspergillus flavus* es probablemente el más importante de los hongos de almacén. Los hongos toxicológicos más importantes (*Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium*) tienen amplia distribución geográfica y pueden desarrollarse sobre una amplia gama de granos almacenados, la humedad y la temperatura son las condiciones que más influyen en el desarrollo de uno o varios hongos de almacenamiento (Hoseney, 1991).

## 1.7 Generalidades quitina y quitosán

### 1.7.1 Generalidades Quitina

La quitina es un mucopolisacárido natural abundante, sirve de estructura de los crustáceos, insectos, etc., consiste de 2 acetamido-2-desoxi-  $\beta$  D-glucosa a través de (1-4)  $\alpha$ - $\beta$  (Majeti *et al*, 2000).

La quitina se produce en la naturaleza como microfibrillas cristalinas que forman los componentes estructurales en el exoesqueleto de los artrópodos o en las paredes celulares de hongos y levaduras. Es el segundo polímero natural más importante del mundo. Este biopolímero es sintetizado por una enorme cantidad de organismos vivos, y considerando la cantidad de quitina que se produce anualmente en el mundo, es el polímero más abundante después de la celulosa (Marguerite, 2006).



Chitin

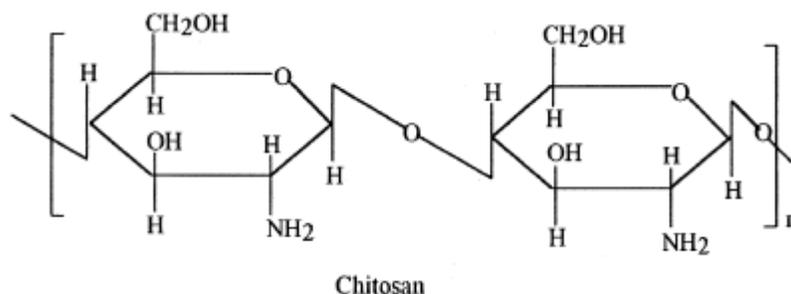
Figura 7. Estructura química de la quitina (Majeti *et al*, 2000)

La quitina y quitosán son de interés comercial debido a su alto porcentaje de nitrógeno (6,89%) en comparación a la celulosa sintéticamente sustituido (1,25%). Esto hace de la quitina un agente quelante útil (Muzzarelli, 1993).

El derivado de la quitina que mayor atención y usos ha recibido es el quitosán. Al igual que la quitina es uno de los polímeros más abundantes en la naturaleza, es polication y tiene aplicaciones industriales extremadamente importantes. El quitosán fue descubierto por Rouget en 1859, quien encontró que al tratar quitina con una solución caliente de hidróxido de potasio se obtiene un producto soluble en ácidos orgánicos, y la llamo quitina modificada (Katamaya *et al*, 1990).

### 1.7.2 Generalidades Quitosán

Quitosán (Poli- $\beta$ -(1-4)-D-glucosamina) es un biopolímero versátil, tiene un amplio rango de aplicaciones en frutas y vegetales por su capacidad para formar películas, propiedades bioquímicas, actividades antimicrobianas y en la obtención de respuestas de defensa en los tejidos vegetales, se encuentran en las conchas de los crustáceos, insectos y pared celular de los hongos (Chandra *et al*, 2009).



**Figura 8.** Estructura química del quitosán (Majeti *et al*, 2000)

Los atributos positivos como excelente biocompatibilidad y biodegradabilidad junto con baja toxicidad y amigable con el medio ambiente han proporcionado amplias oportunidades para un mayor desarrollo (Jayakumar *et al*, 2007). Ha tenido gran interés no sólo como un nuevo biomaterial funcional de alto potencial en los diversos campos (Kurita *et al*, 2006).

Las películas de quitosán se han investigado con éxito a nivel experimental en los alimentos como los huevos, frutas, verduras, productos lácteos y la carne, donde se ha observado que el tratamiento ofrece protección contra la contaminación, el deterioro microbiano, y un aumento en la calidad de los alimentos y la vida útil (Dutta *et al*, 2008).

### **1.7.3 Procesamiento de Quitosán**

En el proceso general de obtención de quitosán se han identificado tres pasos importantes: desmineralización con ácido diluido, desproteización con alcalinos diluidos y con un calentamiento moderado para purificar la quitina y finalmente una desacetilación, donde los grupos acetilo son eliminados y el grupo amino se encuentra libre como amina primaria (Yamada *et al*, 2005).

Se han desarrollado una variedad de procedimientos para preparar quitosán a partir de quitina. Las variaciones en los métodos de preparación así como de la temperatura del tratamiento determinan la calidad y efectividad del producto y pueden dar lugar a diferencias en el grado de desacetilación, distribución de los grupos acetilo, la longitud de la cadena y la estructura de conformación de quitosán, y estas tendrán una influencia sobre la solubilidad, la actividad antimicrobiana y otras propiedades (Tsai *et al*, 2002).

#### 1.7.4 Propiedades antimicrobianas del quitosán

El quitosán, un polímero catiónico es un agente conocido por su actividad antifúngica. El quitosán inhibe el crecimiento de una amplia variedad de hongos patógenos, varios trabajos de investigación reportan su aplicación en forma de película en frutas y hortalizas (Tikhonov *et al*, 2006).

De acuerdo a Ming *et al*, (2010) las variaciones en la eficacia bactericida del quitosán surgen de los diversos factores. De acuerdo con los papeles que juegan, estos factores se pueden clasificar en cuatro categorías de la siguiente manera.

**Tabla 1.7** Factores bactericidas de quitosán

<b>Microbianos</b>	Relacionados con los microorganismos especies y edad de las células,
<b>Intrínsecos de quitosán</b>	Incluyendo densidad de carga positiva, Mw, concentración, hidrófilo / hidrófobo características y la capacidad quelante
<b>Estado físico</b>	Estado soluble en agua y sólidos de quitosán;
<b>Factores ambientales</b>	Implica la fuerza iónica en el medio, pH, temperatura y reactiva tiempo

Fuente Ming *et al*, (2010)

El quitosán no solo es efectivo en poner un alto al crecimiento del patógeno, también induce a cambios morfológicos marcados, alteraciones estructurales y desorganización molecular de la célula de los hongos (Khalid *et al*, 2006).

### 1.7.5 Mecanismo antifúngico de quitosán

Tres mecanismos se han propuesto como una explicación para las propiedades antimicrobianas del quitosán. En el primero, las cargas positivas presentes en la cadena polimérica de quitosán, debido a que su grupo amino, interactúa con las cargas negativas de los residuos de macromoléculas en las membranas de las células microbianas, interfiriendo con el intercambio de nutrientes entre el exterior y interior de la célula. Estas cargas también pueden competir con el calcio por los sitios electronegativos de la membrana, lo que compromete su integridad, causando la liberación de material intracelular, dando lugar a la muerte celular (Möller *et al*, 2004).

El segundo mecanismo propone que el quitosán actúa como un agente quelante, creando compuestos de trazas de metales esenciales para la célula, mientras que el tercer mecanismo establece que el quitosán de bajo peso molecular es capaz de entrar en el núcleo celular, interactuando con el ADN, interfiriendo con la síntesis de ARN mensajero. Se ha encontrado que la incorporación de aceites esenciales en recubrimiento de quitosán puede mejorar en gran medida las propiedades de revestimiento antimicrobianos, la adición de agentes antimicrobianos, tales como aceites esenciales en recubrimientos comestibles puede extender la vida útil de las frutas y mantener la calidad durante el proceso de envasado (Ojagh *et al*, 2009)

### **1.7.6 Propiedades de las películas de quitosán**

Las películas de quitosán presentan las siguientes características; biodegradable, biocompatibles, flexibles, resistentes, fuertes, difíciles de romper, tienen valores moderados de permeabilidad al agua y el oxígeno, disminuyen la tasa respiratoria de los alimentos y también inhiben el crecimiento microbiano (Hastings *et al*, 1998).

### **1.7.7 Industria de las películas comestibles**

El uso de películas comestibles y revestimiento para prolongar la vida útil y mejorar la calidad de las frutas y verduras se ha examinado durante los últimos años. Las películas comestibles incluyen la celulosa y derivados de las proteínas. Debido a su capacidad para formar películas semipermeables el quitosán ha sido utilizado con éxito como envolturas de alimentos, por lo tanto tiene la propiedad de extender la vida útil. Las películas de quitosán son de larga duración, flexibles y muy difíciles de romper. Tienen barreras para la penetración de oxígeno, disminución de las tasas de respiración, retrasan el proceso de maduración debido a la reducción de etileno y evolución de dióxido de carbono además, inhibe el desarrollo de hongos (Agulló *et al*, 2003).

### **1.7.8 Aplicaciones del quitosán**

El interés en la quitina se origina en el estudio de las características y el comportamiento químico de la lisozima, una enzima presente en los fluidos del cuerpo humano. Una amplia variedad de aplicaciones médicas de los derivados de quitina y quitosán se han registrado durante las últimas tres décadas (Majeti *et al*, 2000).

**Tabla 1.7.1** Principales aplicaciones del quitosán

<b>Agricultura</b>	<p>Mecanismo de defensa en plantas</p> <p>La estimulación del crecimiento vegetal Recubrimiento de semillas, protección contra heladas</p> <p>Tiempo de liberación de los fertilizantes y nutrientes en el suelo</p>
<b>Aguas y tratamiento de residuos</b>	<p>Floculante para aclarar el agua (potable agua, piscinas)</p> <p>Eliminación de iones metálicos ya que es un polímero Ecológico (eliminar polímeros sintéticos)</p> <p>Reduce olores</p>
<b>Alimentos y bebidas</b>	<p>No es digerible por el ser humano ( fibra dietaria)</p> <p>Enlaza los lípidos (reduce el colesterol) preservativo</p> <p>Estabilizante y espesante para salsas protección, fungistático, antibacteriano recubrimiento para frutas</p>
<b>Cosméticos y artículos de tocador</b>	<p>Mantener la humedad de la piel</p> <p>Tratar el acné</p> <p>Mejorar la flexibilidad del cabello</p> <p>Reducir la electricidad estática en el cabello</p> <p>El cuidado bucal (pasta de dientes, goma de mascar)</p>
<b>Biofarmaceuticos</b>	<p>Inmunológico, antitumoral, hemostáticos y anticoagulantes.</p>

**Fuente** Agulló *et al*, (2003).

**Tabla 1.7.2** Principales aplicaciones del quitosán

<b>Tratamiento de aguas</b>	Es una de las áreas más importantes debido a que el quitosán y la quitina son sustancias “ambientalmente amigables”. Entre los principales usos que se hacen en la actualidad de estos biomateriales, y algunos de sus derivados, en este campo incluye como coagulante primario para aguas residuales de alta turbidez y alta alcalinidad; floculante para la remoción de partículas coloidales solidas y aceites de pescado.
<b>Medicina</b>	Producción de suturas quirúrgicas a partir de quitina; Producción de gasas y vendajes tratados con quitosán; Cremas bactericidas para el tratamiento de quemaduras. Se ha sugerido que el quitosán puede ser utilizado para inhibir la fibroplasia en la cicatrización de heridas y para promover el crecimiento y la diferenciación de tejidos en cultivo de tejidos.
<b>Fotografía</b>	Quitosán tiene importantes aplicaciones en fotografía debido a la resistencia a la abrasión, sus características ópticas, y su habilidad para formar películas.
<b>Gelificantes</b>	Un gelificante es una sustancia que cambia la textura de los productos alimenticios, ayuda a estabilizar los cristales, que impiden el azúcar o el hielo que se cristalicen. El quitosán podría aumentar la viscosidad de los alimentos, ya que tiene la propiedad de gelificar y podría actuar como un agente espesante, sin efectos tóxicos o alergénicos.
<b>Oftalmología</b>	El quitosán posee todas las características requeridas para la fabricación de un lente de contacto ideal: la claridad óptica, la estabilidad mecánica, la corrección óptica suficiente permeabilidad a los gases, sobre todo hacia el oxígeno, capacidad de humectación y la compatibilidad inmunológica

**Fuente** Agulló *et al*, (2003).

## 1.8 Aceites Esenciales

Los aceites esenciales son sustancias olorosas obtenidas a partir de plantas mediante destilación en corriente de vapor. Proviene fundamentalmente del metabolismo secundario de las plantas en los que ejercen funciones de defensa y atracción (Bakkali *et al*, 2008). Se les llama aceites por su apariencia física y consistencia que es bastante parecida a los aceites grasos, pero se distinguen de ellos, porque al dejar caer unas gotas de esencia sobre el papel, éstas se volatilizan fácilmente sin dejar ninguna huella ni mancha grasosa (Angioni *et al*, 2006)

Los aceites esenciales son mezcla de lípidos o grasas de bajo peso molecular muy hidrofóbicas; generalmente son menos densas que el agua, y confieren el sabor y aroma característico de la fuente vegetal o cultivo de donde provienen (Teissedre *et al*, 2000).

Los aceites esenciales se encuentran muy difundidos en el reino vegetal, se pueden localizar en diferentes partes de la planta, por ejemplo: en las hojas (albahaca, mejorana, menta, romero, salvia, etc.), en las raíces (cálamo, valeriana, etc.), en la corteza (canela, cedro, sándalo, etc.), en las flores (jazmín, rosa, etc.), en la cáscara del fruto (limón, mandarina, naranja, etc.), en los frutos (anís, cardamomo, eneldo, hinojo, etc.). La cantidad y composición del aceite varía de una especie a otra, y dentro de los mismos géneros de la planta (Massotti *et al*, 2003).

Pueden contener, dependiendo de la parte y tipo de planta utilizada, algunos de los siguientes compuestos: monoterpenos,  $\alpha$ -pineno, limoneno y timol, entre muchos otros; su mecanismo de acción se asocia con la capacidad de interactuar con el citoplasma de la membrana de los patógenos, su modo de acción parece estar estrechamente relacionada con la solubilidad de cada compuesto (Burt, 2004).

Los métodos usados para la extracción de las sustancias aromáticas contenidos en los aceites esenciales incluyen: la compresión, la extracción por solventes, la extracción con fluidos supercríticos, la extracción con etanol y la destilación que es el más usado de todos (Teissedre *et al*, 2000).

### **1.8.1 Características físicas de los aceites esenciales**

Los aceites esenciales son volátiles y son líquidos a temperatura ambiente. Recién destilados son incoloros o ligeramente amarillos. Su densidad es inferior a la del agua (la esencia de safrán o de clavo constituyen excepciones). Casi siempre dotados de poder rotatorio, tienen un índice de refracción elevado. Son solubles en alcoholes y en disolventes orgánicos habituales, como éter o cloroformo, y alcohol de alta gradación. Son liposolubles y muy poco solubles en agua, pero son arrastrables por el vapor de agua (Bruneton, 2001).

### **1.8.2 Composición química de los aceites esenciales**

Los aceites esenciales son conocidos como inhibidores de microorganismos. Los principales componentes pueden constituir hasta un 85% del total, mientras que el resto se presenta en pequeñas cantidades o trazas. Cada aceite lo integran por lo menos 100 compuestos químicos diferentes, clasificados como aldehídos, fenoles, óxidos, ésteres, cetonas, alcoholes y terpenos (Burt, 2004). Existen evidencias de que los componentes menores desempeñan un papel relevante en la función

antimicrobiana, probablemente generando un efecto sinérgico con los otros constituyentes de las mezclas (Ipek *et al*, 2005).

Es precisamente debido a su compleja composición química, que son diversos en sus efectos, y en ello se fundamenta su acción antimicrobiana pues esto contribuye a hacer difícil la mutación o inducción de resistencia de los microorganismos. Los aceites ricos en terpenos y compuestos fenólicos poseen alta actividad antimicrobiana; algunas hierbas o especias con estas propiedades incluyen a la pimienta, la albahaca, el laurel, el clavo, la canela, la cúrcuma, el eucalipto, el orégano, el rábano, el romero, la salvia, entre otras más (Croteau *et al*, 2000).

### **1.8.3 Principal compuesto del aceite esencial de Canela**

El aceite esencial de canela es rico en cinamaldehído conocido como  $\beta$ -cariofileno linalol y otros terpenos. Cinamaldehído es el mayor constituyente y es el que le confiere el olor distintivo y sabor (Matan *et al*, 2002). La concentración de cinamaldehído en la mezcla de aceites esenciales procedente de la canela puede variar entre el 60 y 75%. Son muchos los factores que influyen en la composición de un aceite, entre ellos, los más importantes serían el origen, la especie y el órgano de la planta, las condiciones climáticas y de crecimiento (temperatura, fertilizantes, tierra de cultivo, etc.), así como la destilación y la forma de almacenamiento de la planta (Tzortzakis, 2009).

### **1.8.4 Mecanismo de acción de los aceites esenciales**

La información respecto al mecanismo de acción actualmente es escasa, en lo reportado se coincide en que, al ser mezclas complejas de numerosas moléculas con gran diversidad de grupos químicos, es muy probable que la actividad antimicrobiana no se atribuya a un mecanismo específico ya que en las células

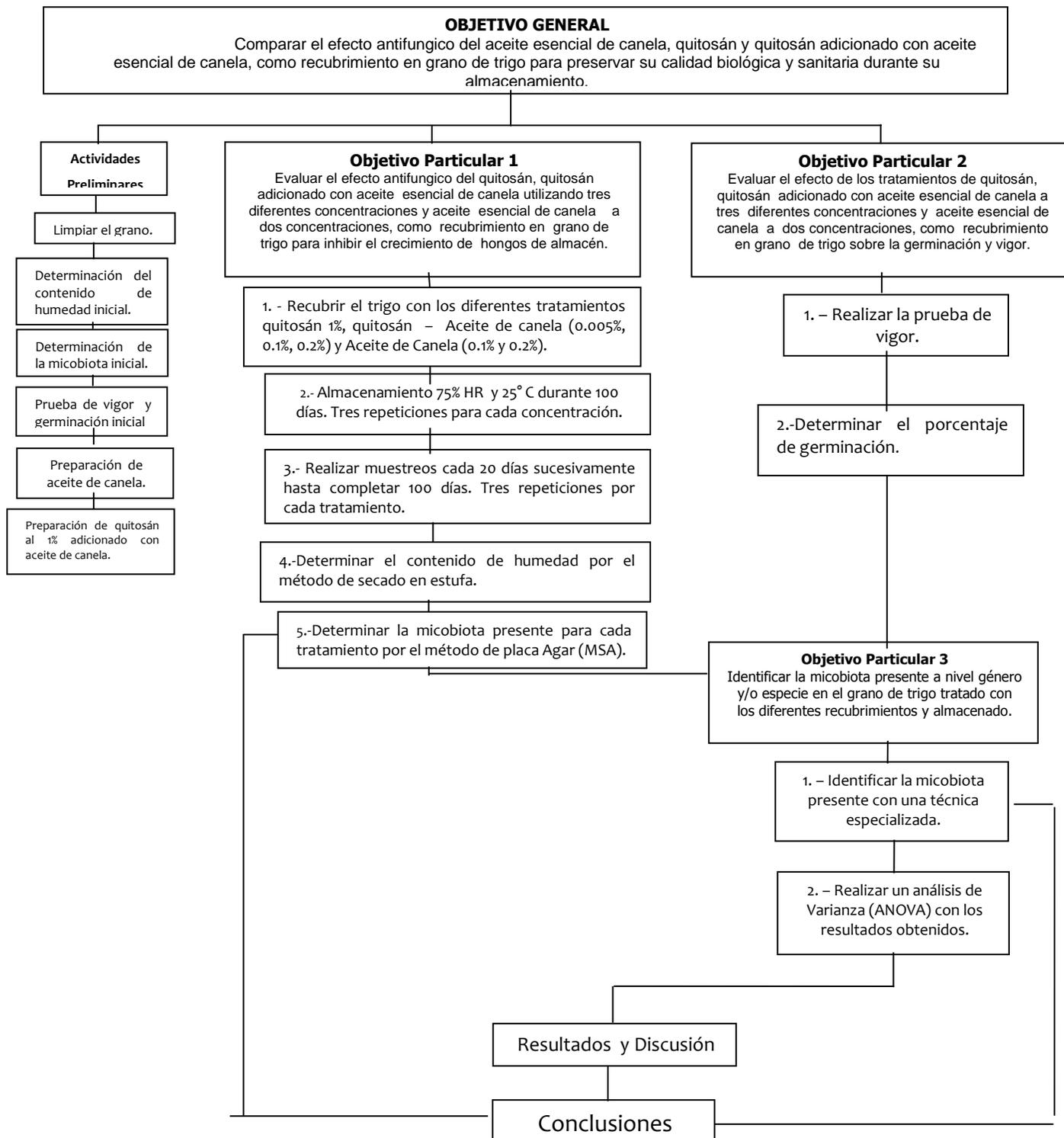
hay diferentes sitios en donde pueden actuar, y los eventos pueden llevarse a cabo en forma independiente, simultánea o consecutiva (Nielsen *et al*, 2000).

El carácter hidrofóbico de los aceites les permite incorporarse en los lípidos de las membranas bacterianas y mitocondriales, perturbando su estructura y consecuentemente su permeabilidad, dando lugar a la fuga de iones y otros contenidos celulares vitales, conduciendo finalmente a la muerte del microorganismo (Di Pasqua *et al*, 2006). Los aceites también podrían actuar sobre las proteínas embebidas en la membrana citoplasmática deformando la interacción lípido – proteína y afectando la actividad de enzimas como la ATPasa, disminuyendo la producción de energía requerida para el funcionamiento celular (Velluti *et al*, 2003).

### **1.8.5 Usos de los aceites esenciales**

Los aceites esenciales son los aditivos naturales que más interés han generado en los últimos años en la industria de los alimentos ya que ofrecen una alternativa antimicrobiana y antioxidante que puede garantizar la seguridad e inocuidad de los alimentos en donde se adicionen sin riesgo de contaminar el entorno (Seyed *et al*, 2010). Se utilizan para dar sabor y aroma al café, el té, los vinos y las bebidas alcohólicas. Son los ingredientes básicos en la industria de los perfumes y se utiliza en jabones, desinfectantes y productos similares (Bakkali *et al*, 2008).

# Capítulo II



## **II. METODOLOGÍA**

### **OBJETIVOS**

#### **OBJETIVO GENERAL**

Comparar el efecto antifúngico del aceite esencial de canela, quitosán y quitosán adicionado con aceite esencial de canela, como recubrimiento en grano de trigo para preservar su calidad biológica y sanitaria durante su almacenamiento.

#### **OBJETIVOS PARTICULARES**

1.- Evaluar el efecto antifúngico del quitosán, quitosán adicionado con aceite esencial de canela utilizando tres diferentes concentraciones y aceite esencial de canela a dos concentraciones, como recubrimiento en grano de trigo para inhibir el crecimiento de hongos de almacén.

2.- Evaluar el efecto de los tratamientos de quitosán, quitosán adicionado con aceite esencial de canela a tres diferentes concentraciones y aceite esencial de canela a dos concentraciones, como recubrimiento en grano de trigo sobre la germinación y vigor.

3.- Identificar la microbiota presente a nivel género y/o especie en el grano de trigo almacenado.

## **ACTIVIDADES PRELIMINARES**

- **Limpieza del grano.**

Se realizó la limpieza del grano para quitar basura y materia extraña, así como los granos quebrados o que presentaran algún defecto que pudiera interferir con los resultados.

- **Determinación del contenido de humedad inicial.**

Se determinó el contenido de humedad inicial en la muestra sin tratamiento por el método de secado en estufa marca Linderg modelo MO1490 A-1, se registró el número de cada caja, se pesaron las cajas vacías y después se peso con muestra de trigo, las muestras se colocaron en una charola y se metieron en la estufa a una temperatura de 130 °C durante 19 hrs (ISSTA, 1993).

- **Micobiota inicial del trigo.**

Para la determinación de la micobiota inicial del trigo se utilizó la técnica de sembrado en placa con papa dextrosa agar (PDA) para determinar la cantidad de hongos presentes en el trigo.

- **Prueba de vigor y porcentaje de germinación inicial.**

Se realizó la prueba de vigor y germinación para determinar las condiciones iniciales de la semilla y para determinar cómo se ve influenciada con los diferentes tratamientos aplicados.

- **Preparación de solución de aceite de canela.**

Se prepararon dos soluciones de tween 80 al 10%, se les adicionó aceite esencial de canela hasta obtener una concentración de 0.1%, 0.2% respectivamente, se agitó durante 5 minutos hasta obtener una mezcla homogénea.

- **Preparación de una solución de quitosán al 1% adicionado con aceite de canela.**

La solución se preparó disolviendo quitosán en una solución acuosa (1% v / v) de ácido acético ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ), se colocó en una parrilla de agitación hasta obtener una solución homogénea, una vez obtenido 500 ml de quitosán al 1% se dividió en 4 partes iguales, quedando 125 ml a los cuales se les adicionó aceite esencial de canela a tres diferentes concentraciones (0.05%, 0.1%, 0.2%).

### **OBJETIVO PARTICULAR 1**

➤ **Recubrimiento de grano con diferentes tratamientos.**

Los granos de trigo fueron recubiertos con los diferentes tratamientos, quitosán al 1%, quitosán adicionado con aceite esencial de canela a tres diferentes concentraciones (0.05%, 0.1%, 0.2%) y diferentes soluciones de aceite de canela a dos concentraciones (0.1% y 0.2%), se sumergieron 125 g del grano por cada tratamiento durante 5 minutos, se retiraron de la solución y se colocaron en una charola para ponerlos a secar a temperatura ambiente, una vez que la muestra se observó seca a simple vista se metieron a la estufa para finalizar el proceso de secado a una temperatura de 19°C por 24 hrs.

➤ **Almacenamiento a 75 % HR y 25°C.**

Para el almacenamiento, se pesaron 30g de trigo de cada muestra tratada y se colocaron en frascos de vidrio previamente rotulados, la boca del frasco se cubrió con un plástico perforado (fig.9).



**Figura 9.** Muestras con trigo con sus respectivos tratamientos.

Posteriormente se colocaron dentro de una cámara húmeda previamente preparada con una solución sobresaturada de NaCl para obtener una humedad relativa de 75%. Se almacenaron a 25°C todas las unidades experimentales, en total 21 frascos, realizando tres repeticiones por tratamiento incluido el testigo (fig.10).



**Figura 10.** Muestras de trigo tratado con quitosán – aceite esencial de canela al 0.1 y al 0.2%.



**Figura 11.** Muestras de trigo tratado con quitosán – aceite esencial de canela al 0.2%.

➤ **Muestreos**

Se realizaron 5 muestreos cada 20 días hasta completar los 100 días de almacenamiento, se retiraron tres frascos de cada tratamiento de manera aleatoria incluyendo el testigo para realizarle las pruebas de calidad biológica y sanitaria.

➤ **Contenido de humedad por el método de secado en estufa.**

Para determinar el contenido de humedad se revisó visualmente que los granos no estuvieran partidos o quebrados, se emplearon tres muestras por cada tratamiento en cajas de aluminio obteniendo el peso seco de la semilla en una estufa de secado a una temperatura de 130° por 19 horas (ISSTA, 1993). El peso de la semilla se determinó en una balanza analítica marca Linderg modelo MO1490 A-1.

➤ **Prueba de micobiota por el método de placa Agar (MSA).**

Se hizo prueba de micobiota a las tres repeticiones de cada tratamiento en total fueron 21 muestras de los 6 tratamientos y el testigo.

Para el sembrado se contaron 50 granos al azar, se desinfectaron superficialmente con una solución de hipoclorito de sodio al 3% durante tres minutos y se sembraron en dos placas, colocando 25 granos en cada caja Petri, el grano se sembró con el embrión hacia arriba, se colocaron de manera ordenada y equidistantes en hilera de manera que quedará espacio suficiente entre cada uno para dar espacio suficiente para al desarrollo de las colonias, para el sembrado se utilizó medio de cultivo MSA (Malta Sal Agar) se incubaron por 7 días a una temperatura de 25 °C. Posteriormente fueron cuantificados e identificados a nivel de género y/o especie con claves especializadas por sus características morfológicas, se utilizó una incubadora Marca Precisión modelo 815.

## **OBJETIVO PARTICULAR 2**

### ➤ **Determinación del porcentaje de germinación y vigor**

Para las pruebas de vigor y geminación se tomó una muestra aleatoria de 50 granos, sobre una hoja previamente rayada (para determinar el crecimiento de la plúmula), se colocó una tira de masking tape con el pegamento hacia arriba sobre la cual se pegaron 25 granos por hoja con el embrión hacia arriba, se realizaron tres repeticiones por cada tratamiento incluido el testigo, una vez que se terminó de pegar el trigo, la hoja se envolvió en forma de taco y se metió a chorro de agua para que quedara completamente mojada, los tacos de germinación y vigor se metieron húmedos en una bolsa de plástico las cuales a su vez se colocaron en un recipiente y se incubaron a 25 °C . Realizando la primera lectura a los 20 días, las posteriores lecturas se hicieron cada 20 días hasta completar el período de 100 días.

### **OBJETIVO PARTICULAR 3**

#### **Identificar la microbiota presente con claves especializadas.**

Para identificar la microbiota se tomó una muestra de las colonias de hongos, se realizaron preparaciones con lactofenol y azul de algodón para poder identificar la micromorfología de las colonias en un microscopio compuesto Marca Olympus, se tomó una pequeña muestra del hongo en un porta objetos, con una aguja esterilizada (mediante el flameado) se transfirió a un porta objetos para observarla a través de microscopio y poder determinar la especie mediante la morfología de las esporas, para nivel de género Barnett y Hunter, (1999) y para *Aspergillus* Klich, (2002).

#### **Diseño Experimental**

##### **➤ Análisis de varianza (ANOVA)**

Para los resultados obtenidos durante los 100 días de almacenamiento de las pruebas de contenido de humedad, microbiota presente en el grano y porcentaje de germinación y vigor se realizó un análisis de varianza (ANOVA) y la comparación de medias se hizo utilizando el paquete SAS versión 9.

Para el análisis de varianza se tomó como variable independiente el tiempo que fueron 20, 40, 60, 80 y 100 días y el tratamiento aplicado, quitosán al 1%, quitosán adicionado con aceite esencial de canela a tres diferentes concentraciones (0.05%, 0.1%, 0.2%) y solución de aceite esencial de canela a dos diferentes concentraciones (0.05%, 0.1%, 0.2%), como variable dependiente el porcentaje de humedad, microbiota presente y porcentaje de germinación y vigor con el objetivo de determinar el efecto antifúngico sobre hongos de almacén de los diferentes tratamientos aplicados.

# Capítulo III

### III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### Contenido de Humedad

En la Tabla 3.1 se muestran los resultados obtenidos del trigo almacenado durante un período de 100 días, a 75% de humedad relativa y 25 °C, se puede observar que el contenido de humedad fue en aumento a medida que transcurrió el tiempo, observando que los tratamientos de quitosán adicionado con aceite esencial de canela al 0.1%, 0.2% y aceite esencial de canela al 0.1% llegaron a su máximo valor en el día 60 posteriormente disminuyeron para los días 80 y 100, mientras que los demás tratamientos durante todo el período de almacenamiento se fueron incrementando su valor hasta llegar al día 100.

Para el día 80 los tratamientos de quitosán al 1%, quitosán adicionado con aceite esencial de canela a 0.05%, 0.1% y aceite esencial de canela a 0.1% son estadísticamente similares y tienen un porcentaje mayor de humedad respecto al testigo.

**Tabla 3.1** Determinación del contenido de humedad de trigo almacenado y tratado con quitosán y aceite esencial de canela.

Tratamiento	Tiempo (días)				
	20	40	60	80	100
Testigo	12.98 <i>d</i>	14.18 <i>e</i>	14.12 <i>c</i>	14.81 <i>ba</i>	15.06 <i>ba</i>
Quitosán 1%	14.5 <i>b</i>	14.92 <i>c</i>	14.76 <i>bc</i>	15.29 <i>a</i>	15.24 <i>a</i>
Quitosán- Ac. Esencial de Canela 0.05%	13.88 <i>c</i>	14.69 <i>d</i>	14.49 <i>bc</i>	14.97 <i>a</i>	15.06 <i>ba</i>
Quitosán- Ac. Esencial de Canela 0.1%	14.88 <i>a</i>	15.32 <i>a</i>	16.11 <i>a</i>	15.13 <i>a</i>	15.03 <i>ba</i>
Quitosán- Ac. Esencial de Canela 0.2%	14.56 <i>b</i>	15.05 <i>bc</i>	15.05 <i>bac</i>	14.44 <i>bc</i>	14.81 <i>b</i>
Aceite Esencial de Canela 0.1%	15.01 <i>a</i>	14.97 <i>c</i>	15.27 <i>bac</i>	15.12 <i>a</i>	15.19 <i>a</i>
Aceite Esencial de Canela 0.2%	14.88 <i>a</i>	15.19 <i>ba</i>	15.62 <i>ba</i>	14.19 <i>c</i>	15.26 <i>a</i>

Medias por columna con la misma letra no son significativamente diferentes (LSD,  $p \leq 0.001$ ).

Por otro lado las muestras recubiertas con quitosán adicionado con aceite esencial de canela a una concentración de 0.2% presentaron el contenido de humedad más bajo al final del período de almacenamiento, mientras que los tratamientos de quitosán con aceite esencial de canela en concentraciones de 0.05% y 0.1% fueron estadísticamente iguales al testigo, por otro lado el tratamiento de quitosán al 1% y los tratamientos de aceite esencial de canela mostraron resultados en porcentaje de humedad superiores a los demás tratamientos.

De acuerdo a la tabla 3.1 los tratamientos de quitosán adicionado con aceite esencial de canela 0.05%, 0.1% y 0.2% comparada con el testigo, son los tratamientos que al final del período de almacenamiento tuvieron los menores contenidos de humedad, esto concuerda con lo encontrado por Ojagh *et al*, (2010) en un estudio realizado con una película biodegradable hecha de quitosán y aceite esencial de canela que menciona que el contenido de humedad disminuye a medida que se incorpora aceite de esencial canela en la película, esto se debe a que el aceite de canela forma enlaces covalentes con los grupos funcionales de las cadenas de quitosán, que conduce a una disminución en la disponibilidad de grupos hidroxilo y amino limitando la interacción con el agua y que resulta en una disminución del valor del contenido de humedad del recubrimiento, mencionando que el contenido de humedad disminuye a medida que aumenta la concentración de aceite esencial de canela.

## Micobiota

Las siguientes tablas 3.2 – 3.6 muestran los resultados obtenidos de micobiota en el trigo almacenado durante un período de 100 días a condiciones adversas de 75% de humedad relativa y 25 °C.

De acuerdo con el resultado obtenido en los periodos de 20 y 40 días de almacenamiento se puede notar la presencia del género de *Nigrospora* en las muestras de testigo y quitosán al 1% observándose diferencias significativas entre los tratamientos y el testigo.

**Tabla 3.2** Presencia de colonias de Hongos en trigo almacenado y tratado con quitosán y aceite esencial de canela en el tiempo 20

Tratamiento	Tiempo 20 días				
	<i>Nigrospora</i>	<i>Fusarium</i>	<i>A.restrictus</i>	<i>Eurotium</i>	Total
Testigo	2.0 <i>a</i>	0.00 <i>a</i>	0.00 <i>a</i>	0.00 <i>a</i>	2.0
Quitosán 1%	0.66 <i>b</i>	0.00 <i>a</i>	0.00 <i>a</i>	0.00 <i>a</i>	0.66
Quitosán- Ac. Esencial de Canela 0.05%	0.33 <i>b</i>	0.00 <i>a</i>	0.00 <i>a</i>	0.00 <i>a</i>	0.33
Quitosán- Ac. Esencial de Canela 0.1%	0.00 <i>b</i>	0.00 <i>a</i>	0.00 <i>a</i>	0.00 <i>a</i>	0.00
Quitosán- Ac. Esencial de Canela 0.2%	0.00 <i>b</i>	0.00 <i>a</i>	0.00 <i>a</i>	0.00 <i>a</i>	0.00
Aceite Esencial de Canela 0.1%	0.00 <i>b</i>	0.00 <i>a</i>	0.00 <i>a</i>	0.00 <i>a</i>	0.00
Aceite Esencial de Canela 0.2%	0.00 <i>b</i>	0.00 <i>a</i>	0.00 <i>a</i>	0.00 <i>a</i>	0.00

Medias por columna con la misma letra no son significativamente diferentes (LSD,  $p \leq 0.001$ ).

**Tabla 3.3** Presencia de Hongos en trigo almacenado y tratado con quitosán y aceite esencial de canela en el tiempo 40.

Tratamiento	Tiempo 40 días				
	<i>Nigrospora</i>	<i>Fusarium</i>	<i>A.restrictus</i>	<i>Eurotium</i>	Total
Testigo	2.66 <i>a</i>	0.00 <i>a</i>	0.00 <i>a</i>	0.00 <i>a</i>	2.66
Quitosán 1%	0.33 <i>b</i>	0.00 <i>a</i>	0.00 <i>a</i>	0.00 <i>a</i>	0.33
Quitosán- Ac. Esencial de Canela 0.05%	0.00 <i>b</i>	0.00 <i>a</i>	0.00 <i>a</i>	0.00 <i>a</i>	0.00
Quitosán- Ac. Esencial de Canela 0.1%	0.00 <i>b</i>	0.00 <i>a</i>	0.00 <i>a</i>	0.00 <i>a</i>	0.00
Quitosán- Ac. Esencial de Canela 0.2%	0.00 <i>b</i>	0.00 <i>a</i>	0.00 <i>a</i>	0.00 <i>a</i>	0.00
Aceite Esencial de Canela 0.1%	0.33 <i>b</i>	0.00 <i>a</i>	0.00 <i>a</i>	0.00 <i>a</i>	0.33
Aceite Esencial de Canela 0.2%	0.00 <i>b</i>	0.00 <i>a</i>	0.00 <i>a</i>	0.00 <i>a</i>	0.00

Medias por columna con la misma letra no son significativamente diferentes (LSD,  $p \leq 0.001$ ).

**Tabla 3.4** Presencia de Hongos en trigo almacenado y tratado con quitosán y aceite esencial de canela en el tiempo 60.

Tratamiento	Tiempo 60 días				
	<i>Nigrospora</i>	<i>Fusarium</i>	<i>A.restrictus</i>	<i>Eurotium</i>	Total
Testigo	0.33 <i>a</i>	0.00 <i>a</i>	0.00 <i>a</i>	0.00 <i>a</i>	0.33
Quitosán 1%	0.33 <i>a</i>	0.00 <i>a</i>	0.00 <i>a</i>	0.00 <i>a</i>	0.33
Quitosán- Ac. Esencial de Canela 0.05%	0.00 <i>a</i>	0.00 <i>a</i>	0.00 <i>a</i>	0.00 <i>a</i>	0.00
Quitosán- Ac. Esencial de Canela 0.1%	0.00 <i>a</i>	0.00 <i>a</i>	0.00 <i>a</i>	0.00 <i>a</i>	0.00
Quitosán- Ac. Esencial de Canela	0.00 <i>a</i>	0.00 <i>a</i>	0.00 <i>a</i>	0.00 <i>a</i>	0.00

0.2%						
Aceite Esencial de Canela 0.1%		0.33 <sub>a</sub>	0.00 <sub>a</sub>	0.00 <sub>a</sub>	0.00 <sub>a</sub>	0.33
Aceite Esencial de Canela 0.2%		0.00 <sub>a</sub>	0.00 <sub>a</sub>	0.00 <sub>a</sub>	0.00 <sub>a</sub>	0.00

Medias por columna con la misma letra no son significativamente diferentes (LSD,  $p \leq 0.001$ ).

Para los 60 días se nota una disminución de *Nigrospora* en las muestras de testigo y quitosán al 1%, a los 80 días se puede observar la presencia además de *Nigrospora*, otros como *Fusarium*, *A. restrictus* y *Eurotium* en el testigo y en el tratamiento de aceite esencial de canela al 0.1% y en menor proporción en la muestra con quitosán al 1% respecto al testigo.

**Tabla 3.5** Presencia de Hongos en trigo almacenado y tratado con quitosán y aceite esencial de canela en el tiempo 80.

Tratamiento	Tiempo 80 días				
	<i>Nigrospora</i>	<i>Fusarium</i>	<i>A.restrictus</i>	<i>Eurotium</i>	Total
Testigo	0.33 <sub>a</sub>	3.33 <sub>a</sub>	3.33 <sub>a</sub>	3.00 <sub>a</sub>	9.99
Quitosán 1%	0.00 <sub>a</sub>	0.00 <sub>a</sub>	0.00 <sub>b</sub>	1.00 <sub>a</sub>	1.00
Quitosán- Ac. Esencial de Canela 0.05%	0.00 <sub>a</sub>	0.00 <sub>a</sub>	0.00 <sub>b</sub>	0.00 <sub>b</sub>	0.00
Quitosán- Ac. Esencial de Canela 0.1%	0.00 <sub>a</sub>	0.00 <sub>a</sub>	0.00 <sub>b</sub>	0.00 <sub>b</sub>	0.00
Quitosán- Ac. Esencial de Canela 0.2%	0.00 <sub>a</sub>	0.00 <sub>a</sub>	0.00 <sub>b</sub>	0.00 <sub>b</sub>	0.00
Aceite Esencial de Canela 0.1%	0.00 <sub>a</sub>	0.00 <sub>a</sub>	0.00 <sub>b</sub>	3.66 <sub>a</sub>	3.66
Aceite Esencial de Canela 0.2%	0.00 <sub>a</sub>	0.00 <sub>a</sub>	0.00 <sub>b</sub>	0.00 <sub>b</sub>	0.00

Medias por columna con la misma letra no son significativamente diferentes (LSD,  $p \leq 0.001$ ).

Durante el período de almacenamiento de 100 días el género *Fusarium* solo se presentó en el testigo en muy bajo porcentaje observándose las condiciones óptimas para el desarrollo de hongos de almacén como *Aspergillus restrictus* y *Eurotium*.

Los tratamientos que presentaron el mejor efecto fungicida sobre el desarrollo de *Aspergillus restrictus* fueron los de quitosán adicionado con aceite esencial de canela al 0.05%, 0.1% y 0.2% (tabla 3.6), en los tratamientos de quitosán al 1% y aceite esencial de canela al 0.2% mostraron un efecto fungistático en comparación al testigo mientras que el tratamiento de aceite esencial de canela al 0.1% no tuvo efecto alguno contra *Aspergillus restrictus* ya que se tiene un mayor porcentaje de crecimiento de este hongo en comparación con el testigo.

**Tabla 3.6** Presencia de Hongos en trigo almacenado y tratado con quitosán y aceite esencial de canela en el tiempo 100.

Tratamiento	Tiempo 100 días				
	<i>Nigrospora</i>	<i>Fusarium</i>	<i>A.restrictus</i>	<i>Eurotium</i>	Total
Testigo	0.33 <i>a</i>	1.33 <i>b</i>	6.66 <i>b</i>	14.33 <i>a</i>	22.65
Quitosán 1%	0.00 <i>a</i>	0.00 <i>a</i>	3.00 <i>cd</i>	10.66 <i>b</i>	13.66
Quitosán- Ac. Esencial de Canela 0.05%	0.00 <i>a</i>	0.00 <i>a</i>	0.00 <i>d</i>	0.00 <i>d</i>	0.0
Quitosán- Ac. Esencial de Canela 0.1%	0.00 <i>a</i>	0.00 <i>a</i>	0.00 <i>d</i>	0.00 <i>d</i>	0.0
Quitosán- Ac. Esencial de Canela 0.2%	0.00 <i>a</i>	0.00 <i>a</i>	0.00 <i>d</i>	0.00 <i>d</i>	0.0
Aceite Esencial de Canela 0.1%	0.00 <i>a</i>	0.00 <i>a</i>	13.33 <i>a</i>	5.33 <i>c</i>	18.66
Aceite Esencial de Canela 0.2%	0.00 <i>a</i>	0.00 <i>a</i>	3.33 <i>c</i>	2.00 <i>d</i>	5.33

Medias por columna con la misma letra no son significativamente diferentes (LSD,  $p \leq 0.001$ ).

Para el género *Eurotium* los tratamientos de quitosán adicionados con aceite esencial de canela también resultaron ser los mejores con efecto fungicida. El aceite esencial de canela al 0.2% presentó el mejor efecto fungistático observándose el desarrollo de 2.0 % de colonias en comparación con el aceite esencial de canela al 0.1% y quitosán al 1% en donde se aislaron 5.33 y 10.66 por ciento de colonias.

**Tabla 3.7** Porcentaje de micobiota presente en trigo tratado con quitosán y aceite esencial de canela durante 100 días.

Tratamiento	Hongos (%)
Testigo	37.64
Quitosán 1%	15.98
Quitosán- Ac. Esencial de Canela 0.05%	0.33
Quitosán- Ac. Esencial de Canela 0.1%	0
Quitosán- Ac. Esencial de Canela 0.2%	0
Aceite Esencial de Canela 0.1%	19.32
Aceite Esencial de Canela 0.2%	5.33

La tabla 3.7 muestra el porcentaje de crecimiento de hongos de almacén durante el período de almacenamiento de 100 días en la cual se puede notar que los tratamientos que presentaron un efecto fungicida fueron los de quitosán adicionado con aceite esencial de canela, mientras que el tratamiento de aceite esencial de canela al 0.2% solo mostró un efecto fungistático, siendo los tratamientos de quitosán al 1% y aceite esencial de canela 0.1% los de menor efecto contra los hongos de almacén.

La tabla 3.7 muestra que el mejor tratamiento para inhibir el crecimiento de hongos de almacén durante todo el período de almacenamiento fue el de quitosán adicionado con aceite esencial de canela en sus tres diferentes concentraciones, por sí solo el quitosán posee propiedades antifúngicas de acuerdo a Hirano y Nagao (1989) que en sus investigaciones encontraron la actividad antimicrobiana del quitosán contra bacterias y hongos. En otro estudio realizado por Georgantelis *et al*, (2007) menciona que el quitosán presenta un efecto antioxidante y antimicrobiano y que este puede incrementarse por la adición de aceites esenciales, lo cual puede observarse en los resultados obtenidos en este estudio en donde el tratamiento con quitosán adicionado con aceite esencial de canela 0.1%, 0.2% no presentaron ningún desarrollo de hongos a lo largo de todo el período de almacenamiento, de acuerdo a las investigaciones de Paran *et al* (1996) en donde encontraron que el aceite esencial de canela presenta una alta actividad antifúngica contra *Fusarium moniliforme*, según Ranasinghe *et al* (2002) menciona que la actividad antifúngica de los aceites esenciales no se especifica en un solo componente sino en la mezcla de los componentes presentes.

Según Khalid *et al*, (2006) en sus investigaciones han mostrado que no solo el quitosán es efectivo en inhibir el crecimiento del patógeno, también induce a cambios morfológicos marcados, alteraciones estructurales y desorganización molecular de la célula de los hongos confirmando esta información con los datos de la tabla en donde los tratamientos de quitosán mantuvieron un efecto antifúngico y esto es posible gracias a la carga positiva del quitosán, de acuerdo a Yage *et al*, (2010) la carga positiva del quitosán es debido a la protonización de su grupo funcional amino, este grupo reacciona con la carga negativa de la pared celular de las macromoléculas causando un dramático incremento en el nivel de la permeabilidad de la membrana celular, causando interrupciones que ocasionan la muerte celular.

El tratamiento con aceite esencial de canela al 0.2% también tuvo un resultado favorable contra la inhibición de hongos según la tabla 3.7 coincidiendo con la información de Matan (2002) el cual menciona que las sustancias de aceites esenciales de canela y clavo que inhiben el crecimiento de hongos levaduras y bacterias, algunos hongos como *A. flavus*, *A. parasiticus*, *A. ochraceus*, *Penicillium*, *Roqueforti*, *P. patulum*, y *P. citrinum*, esto resulta de los compuestos de los aceites esenciales en el caso del aceite esencial de canela el principal constituyente es el cinamaldehído aproximadamente un 80%, de acuerdo a los resultados obtenidos por Sheng-Yang (2005) de los componentes que posee el aceite esencial de canela que se encuentran en mayor proporción son el cinamaldehído y en segundo lugar el eugenol, siendo el cinamaldehído el principal constituyente antifúngico menciona también que los compuestos que poseen un grupo aldehído tienen mejor actividad antifúngica.

### Vigor y porcentaje de germinación

En la Tabla 3.8 y 3.9 se muestran los resultados obtenidos de porcentaje de germinación y vigor del trigo tratado almacenado durante un período de 100 días, a 75% de humedad relativa y 25 °C, observando que las muestras recubiertas con quitosán conservaron un alto porcentaje de germinación hasta los 80 días de almacenamiento.

**Tabla 3.8** Muestra los datos de Germinación a diferente tiempo

Tratamiento	Tiempo				
	20	40	60	80	100
<b>Testigo</b>	98.0 <i>ab</i>	96.54 <i>a</i>	94.21 <i>a</i>	93.9 <i>a</i>	64.66 <i>b</i>
<b>Quitosán 1%</b>	97.33 <i>ab</i>	97.66 <i>a</i>	98.66 <i>a</i>	96.3 <i>a</i>	74.66 <i>a</i>
<b>QAC 0.05%</b>	99.33 <i>a</i>	96.0 <i>a</i>	86.0 <i>b</i>	77.0 <i>b</i>	66.36 <i>b</i>
<b>QAC 0.1%</b>	87.66 <i>c</i>	86.0 <i>b</i>	47.33 <i>d</i>	36.33 <i>e</i>	11.66 <i>d</i>
<b>QAC 0.2%</b>	56.67 <i>d</i>	40.33 <i>d</i>	33.33 <i>d</i>	29.66 <i>e</i>	9.0 <i>d</i>
<b>AC 0.1%</b>	96.23 <i>b</i>	97.66 <i>a</i>	80.02 <i>d</i>	72.0 <i>c</i>	37.66 <i>b</i>
<b>AC 0.2%</b>	90.66 <i>bc</i>	80.33 <i>c</i>	65.33 <i>c</i>	48.33 <i>d</i>	13.66 <i>c</i>

Medias por columna con la misma letra no son significativamente diferentes (LSD,  $p \leq 0.001$ ).

En la tabla 3.8 se puede notar que el mejor tratamiento para la germinación en el tiempo 20 fueron quitosán al 1% y quitosán adicionado con aceite esencial de canela a 0.05% mientras que el peor fue el tratamiento de quitosán adicionado con aceite esencial de canela al 0.2% llegando a un porcentaje de 56.67, para el día 40 los tratamientos con aceite esencial de canela al 0.2% fueron los que presentaron menor porcentaje de germinación respecto al testigo, en el tiempo 60 solamente el tratamiento de quitosán al 1% y quitosán adicionado con aceite esencial de canela al 0.5% mantuvieron el porcentaje de germinación arriba del 85% siendo el tratamiento de quitosán adicionado con aceite esencial de canela al 0.2% el más bajo, para el día 80 el tratamiento con mayor porcentaje de germinación fue el de quitosán al 1%, mientras que los tratamientos adicionados

con aceite esencial de canela al 0.1% , 0.2% y aceite esencial al 0.2% presentaron un porcentaje de germinación menor al 50%, obteniendo resultados estadísticamente similares para el tiempo 80.

De acuerdo con los resultados obtenidos en las tabla 3.8 se puede observar que el porcentaje de germinación después de transcurridos los 100 días se vió favorecido con el tratamiento de quitosán al 1% siendo estadísticamente el porcentaje de germinación mas alto (74.66%), seguido de quitosán adicionado con aceite esencial de canela al 0.05% con un porcentaje de 66.36%, según O'Herlihy *et al* (2003), las semillas de papa, pepino, zanahoria, tomate, y trigo cubiertas con quitosán germinaron mejor que aquellas sin tratamiento ya que se obtuvo una plántula con mejores condiciones.



**Figura 12.** Prueba de porcentaje de germinación y vigor en el día 60 de una muestra de Quitosán- Ac. Esencial de canela a 0.1 %.

La tabla 3.8 nos muestra los datos obtenidos de los porcentajes de germinación cada 20 días, para aquellas muestras que contenían el mayor porcentaje de aceite esencial de canela vieron reducido significativamente el valor de germinación y vigor, mientras que los tratamientos con quitosán y quitosán adicionado con aceite esencial de canela a 0.05% se mantuvo por encima del 50%, mientras que para la concentración de 0.1% solo se mantuvo por arriba del 50% los primeros 40 días, esta información concuerda con Freepons (1997) que menciona en sus estudios que las semillas que habían sido tratadas con soluciones de quitosán mejoraron los valores de germinación y contribuyeron a mejorar los resultados de grano cosechado, el mecanismo de acción de quitosán en la semilla se debe a que el quitosán actúa sobre la semilla haciendo que esta produzca ciertas sustancias que la protejan esto según Bhaskara Reddy *et al.* (1999) que menciona en su investigación que los estudios realizados probaron que quitosán induce a la producción de fitoalexinas y ácidos fenólicos sustancias que protegen a la semilla contra el ataque de microorganismos y esporas.

Como se puede notar en la tabla 3.8 hubo una disminución significativa del porcentaje de germinación a los 100 días, en este período hubo un aumento en el crecimiento de hongos *A. Restrictus* el cual pudo ser un factor importante para la disminución de la germinación en las muestras que se presentó ya que de acuerdo a Sauer y Christensen, (1966) mencionan que algunos hongos, tales como *A. restrictus*, parecen atacar el germen casi exclusivamente, en su investigación notaron que *Aspergillus restrictus* creció y disminuyó la germinación de semillas.

**Tabla 3.9** Muestra los datos de Longitud de Plúmula (Vigor) a diferente tiempo

Tratamiento	Tiempo				
	20	40	60	80	100
Testigo	12.08 <sub>a</sub>	11.09 <sub>a</sub>	10.0 <sub>a</sub>	9.66 <sub>a</sub>	2.21 <sub>d</sub>
Quitosán 1%	11.19 <sub>a</sub>	10.81 <sub>ba</sub>	9.43 <sub>a</sub>	8.78 <sub>a</sub>	5.81 <sub>a</sub>
QAC 0.05%	11.70 <sub>a</sub>	10.14 <sub>b</sub>	8.21 <sub>b</sub>	6.37 <sub>b</sub>	5.03 <sub>b</sub>
QAC 0.1%	8.69 <sub>b</sub>	7.72 <sub>c</sub>	5.76 <sub>d</sub>	2.48 <sub>dc</sub>	.56 <sub>f</sub>
QAC 0.2%	6.17 <sub>c</sub>	4.02 <sub>e</sub>	3.41 <sub>d</sub>	2.65 <sub>dc</sub>	.44 <sub>f</sub>
AC 0.1%	7.22 <sub>c</sub>	6.45 <sub>d</sub>	4.76 <sub>d</sub>	3.33 <sub>c</sub>	2.76 <sub>c</sub>
AC 0.2%	4.31 <sub>d</sub>	3.77 <sub>f</sub>	1.95 <sub>c</sub>	1.72 <sub>d</sub>	1.24 <sub>e</sub>

Medias por columna con la misma letra no son significativamente diferentes (LSD,  $p \leq 0.001$ ).

De acuerdo a la tabla 3.9 los valores de vigor en la semilla con el tratamiento de quitosán y quitosán adicionado con aceite esencial de canela a 0.05% fueron los más altos respecto a los demás, 5.81% y 5.03% respectivamente, colocándose por encima del valor del testigo, en los demás tratamientos con mayor porcentaje aceite de canela y sin quitosán se observó una disminución significativa después de los 40 días, según Bhaskara Reddy *et al.* (1999) mostró que los tratamientos basados en quitosán contra *Fusarium graminearum* beneficiaron la calidad de las semillas resultando en un mejor porcentaje de germinación y vigor.

# Conclusiones

- ❖ El valor de humedad disminuyó en los tratamientos de quitosán adicionado con aceite esencial de canela a medida que la concentración de aceite esencial de canela aumentó.
- ❖ De acuerdo a los datos obtenidos, los tratamientos que mostraron resultados más favorables contra el crecimiento de hongos de almacén son los de quitosán adicionado con aceite esencial de canela con sus tres respectivas concentraciones, mientras que los tratamientos de quitosán al 1% y aceite esencial de canela 0.1% fueron los de menor efecto contra los hongos de almacén.
- ❖ El tratamiento de quitosán adicionado con aceite esencial de canela a 0.2% inhibió por completo el crecimiento de hongos durante los 100 días, sin embargo los resultados respecto a la calidad biológica del grano se vieron perjudicados, ya que los datos de porcentaje de germinación y vigor estuvieron por debajo de los demás tratamientos.
- ❖ El porcentaje de germinación después de transcurridos los 100 días se vio favorecido con el tratamiento de quitosán al 1% siendo estadísticamente el porcentaje de germinación más alto.
- ❖ Los resultados de trabajar con quitosán y quitosán adicionado con aceite esencial de canela fueron favorables respecto a la inhibición de crecimiento hongos de almacén, así como para el porcentaje de germinación y vigor, haciendo al quitosán una opción económica, fácil y amigable con el medio ambiente, pudiendo cambiar el uso de químicos fungicidas convencionales por una mejor alternativa, la cual, además de cuidar la calidad sanitaria del grano en caso de almacenarlo, también mejora notablemente su calidad biológica en caso de utilizarse como semilla, asimismo se evita la contaminación del medio ambiente.

## RECOMENDACIONES

- Recubrir el trigo con los tratamientos de quitosán adicionado con aceite esencial de canela y someterlos a diferentes tipos de hongos de almacén para determinar con cual concentración y para cuales es más efectivo.
  
- Adicionar al quitosán otros aceites esenciales y determinar cuál de ellos pudiera ser menos agresivo para el grano cuando se utiliza como semilla.
  
- Realizar un estudio para conocer las causas moleculares del efecto antifúngico sobre el ADN del tratamiento de quitosán adicionado con aceite esencial de canela.
  
- Realizar un proyecto para determinar a gran escala los costos en infraestructura su viabilidad.

# Bibliografía

- Agulló E., Rodríguez M., Ramos V., Albertengo L. (2003) Present and Future Role of Chitin and Chitosan in Food. *Macromolecular Bioscience*. 8: 521-530.
- Angioni A., Barra A., Coroneo V., Dessi S., Cabras P. (2006) Chemical composition, seasonal variability, and antifungal activity of *Lavandula stoechas* essential oils from stem/leaves and flowers. *Agricultural Food Chemistry*. 54: 4364–4370.
- Bakkali F., Averbeck S., Idaomar C. (2008) Biological effects of essential oils – A review. *Food and Chemical Toxicology*. 46: 446–475.
- Barnett, H.L. and Hunter, B.B. (1999) *Illustrated genera of imperfect Fungi*. Fourth Edition. APS PRESS, ST. Paul Minnesota, USA. 218 p.
- Bhaskara R., AitBarka E., Castaigne F., Arul J. (1998) Effect of chitosan on growth and toxin production by *Alternaria alternate*. *Biocontrol Science Technology*. 8: 33-43.
- Bruneton J. (2001). *Farmacognosia. Fitoquímica. Plantas Medicinales*. Editorial Acribia. Zaragoza, España. pp. 125-128.
- Burt S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in food—a review. *International Journal of Food Microbiology*. 94: 223– 253.
- Calaveras J. (2004) *Nuevo tratado de panificación y bollería*. Ed. AMV. Madrid, España. pp.622.
- Chandra P.S., Willi P., (2009) Chitin and chitosan polymers: Chemistry, solubility and fiber formation. *Progress in polymer science*. 34: 641-678.
- Clarke H., Hill T. (1986) Mycoflora of moist barley during sealed storage in farm and Laboratory silos. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 77: 557-565.
- Croteau R., Kutchan T.M., Lewis N.G., (2000) Natural products (secondary metabolites). *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*. American Society of Plant Physiologists. 12: 238-321.

- Di Pasqua R., Hoskins N., Betts G., Mauriello G. (2006) Changes in membrane fatty acids composition of microbial cells induced by addition of thymol, carvacrol, limonene, cinnamaldehyde, and eugenol in the growing media. *J. Agric. Food Chem.* 54: 2745–2749.
- Doyle P. M. y Beuchat R. L. (2001). *Microbiología de los Alimentos*. Editorial Acribia. Madrid, España. pp.128-130, 562 -564.
- Dutta P.K., Tripathi S., Mehrotra G.K., Dutta J. (2008) Perspectives for chitosan based antimicrobial films in food applications. *Food Chemistry*. 21: 1173–1182.
- Freepons, Donald (1997). Enhancing food production with chitosan seed-coating technology. *Applications of Chitin and Chitosan*. Ed. CRC. Boca Raton, Florida, pp.129 -139.
- Georgantelis D., Ambrosiadis I., Katikou P., (2007) Effect of Rosemary extract, chitosan and  $\alpha$ -tocopherol on microbiological parameters and lipid oxidation of fresh pork sausages stored at 4°C. *Meat Science*. 76: 172-181.
- Haldore Hanson (1985). *Trigo en el tercer mundo*. Mexico: CIMMYT. pp 3-15.
- Hastings G.W., Andrew C.A., Khor E. (1998) The influence of anionic chitin derivatives on calcium phosphate crystalization. *Biomaterials*. 19: 1309 – 1316.
- Hill R.A. Lacey J. (1983). Factors determining the microflora stored barley grains. *Annals of applied biology*. 102: 467-483.
- Hirano S., Nagao N. (1989) Effects of chitosan, pectic acid, lysozyme, and chitinase on the growth of several phytopathogens. *Agricultural and biological chemistry*. 53: 3065-3066.
- Hoseney R. C. (1991). *Principios de Ciencia y Tecnología de Cereales*. Editorial Acribia. España. pp. 109, 112.
- Ipek E., Zeytinoglu H., Okay S., Tuylu B.A., Kurkcuoglu M., Husnu Can Baser K. (2005) Genotoxicity and antigenotoxicity of Origanum oil and carvacrol evaluated by Ames Salmonella/microsomal test. *Food Chemistry*. 93: 551–556.

- ISSTA 1993. International Rules for Seed testing. Rules 1993. Seed Sci Technology. 21: 1-288.
- Jayakumar R., Nwe N., Tokura S., Tamura H. (2007) Sulfated chitin and chitosan as novel biomaterials. *Inst Biol Macromol.* 40:75–81.
- Katamaya H., Tsuzuki S., Kuramoto H. (2003) Application of chitin and chitosan derivatives in the pharmaceutical field. *Curr Pharm Biotechnol.* 4: 3003-3009.
- Kent N.L. (1987). *Tecnología de los cereales.* Editorial Acribia. Madrid, España. pp.220.
- Khalid Z., Beatriz U., Maté J. (2010) Application of bioactive coatings based on chitosan for artichoke seed protection. *Crop Protection.* 29: 853 – 859.
- Klich, M.A. (2002) Identification of common *Aspergillus* species. First Edition. Centralbureau Door Schimmelcutares, the Netherlands. 116 p
- Kulik M., Oren J. (1987) Some influences of storage fungi, temperatures and Relative Humidity on the germinability of Grass seeds Stored. *Prod Res.* 3: 335-343.
- Kurita K. (2006) Chitin and chitosan: functional biopolymers from marine crustaceans. *Mar Biotechnol.* 8: 203–206.
- Magan N., Lacey J. (1983) Late application o fungicides to wheat. *Rothamsted Report.* part 1: 198-199.
- Majeti N.V., Ravi K., (2000) A review of chitin and chitosan applications. *Reactive and funtional polymers.* 46: 1-27.
- Marguerite, R. (2006) Chitin and chitosan: Properties and applications. *Progress in polymer science.* 31: 603-632.
- Masotti V., Juteau F., Bessiere J.M., Viano J. (2003) Seasonal and phenological variations of the essential oil from the narrow endemic species *Artemisia molinieri* and its biological activities. *J. Agric. Food Chem.* 51: 7115–7121.

- Matan N., Rimkeeree H., Mawson A.J., Chompreda P., Haruthaithanasan V., Parker M. (2002) Antimicrobial activity of cinnamon and clove oils under modified atmosphere conditions. *Food Chemistry*. 8: 35-44.
- Ming K., Xi Guang C., Ke X., Hyun Jin P. (2010) Antimicrobial properties of chitosan and mode of action: A state of the review. *International Journal of food microbiology*. 144: 51-63.
- Möller H., Grelier S., Pardon P., Coma V. (2004) Antimicrobial and physicochemical properties of chitosan–HMPC based films. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 52: 6585–6591.
- Muzzarelli R.A. (1997). Human enzymatic activities related to the therapeutical administration of chitin derivatives. *Cell Mol. Biol. Life Sci*. 4: 53-131.
- Nielsen P.V., Rios R. (2000) Inhibition of fungal growth on bread by volatile components from spices and herbs, and possible application in active packaging, with special emphasis on mustard essential oil. *International Journal of Food Microbiology*. 60: 219– 229.
- Ojagh S.M., Rezaei M., Razavi S.H., Hosseini S. (2010) Development and evaluation of a novel biodegradable film made from chitosan essential oil with low affinity toward water”. *Food Chemistry*. 34: 210-233.
- O’Herlihy E.A., Duffy E.M., Cassells A.C. (2003) The effects of arbuscular mycorrhizal fungi and chitosan sprays on yield and late blight resistance in potato crops from plant lets. *Folia Geobotanica*. 38: 201-207.
- Othon S.S. (2001). *Química, almacenamiento e industrialización de los cereales*. México: A.G.T. editor, S.A. pp. 521.
- Pomeranz Y. (1982). Biochemical, functional and nutritive changes during storage. *Storage of cereal grains and their Products*. 3rd edn. pp. 145-217.
- Rabea E. I., El Badawy M., Stevens C. V., Smagghe G., & Steurbaut W. (2003) Chitosan as antimicrobial agent: Applications and mode of action. *Biomacromolecules*. 4(6): 1457–1465.
- Ramírez J. (1992). *Almacenamiento y Conservación de granos y semillas*. México: Continental. pp 24-35.

- Ranasinghe L., Jayawardena B., Abeywickrama K., (2002) Fungicidal activity of essential oils of cinnamon and syzygium. *Letters in applied microbiology*. 35: 208-211.
- Scade J. (1981). *Cereales* . Madrid, España: Acribia S.A. pp. 93.
- Seyed M.O., Masoud R., Seyed H.R., Seyed M.H., (2010) Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. *Food Chemistry*. 120: 193 – 198.
- Shahidi F., Arachchi J. K. V., Jeon Y. J. (1999) Food applications of chitin and chitosans. *Trends in Food Science and Technology*. 10(2): 37–51.
- Sheng-Yang W., Pin-Fun C., Shang-Tzen C. (2005) Antifungal activities of essential oils and their constituents from indigenous cinnamon (*Cinnamomum osmophloeum*) leaves against wood decay fungi. *Food Chemistry*. 65: 203-212.
- Teissedre P.L., Waterhouse A.L., (2000) Inhibition of oxidation of human low density lipoproteins by phenolic substances in different essential oils varieties. *J. Agric. Food Chem*. 48: 3605–3801.
- Tikhonov V.E., Stepnova E.A., Babak V.G., Yamskov V. (2006) Bactericidal and antifungal activities of a low molecular weight chitosan and its N-(2-(3-dodec-2-enyl) succinoyl)-derivatives. *Carbohydrate polymers*. 64: 66-72.
- Trcheuschkner D. (2001). *Fundamentos de Tecnología de alimentos*. Madrid, España: Acribia S.A. pp. 476.
- Tsai G.J., Su W.H., Chen H.C., Pan C.L. (2002) Antimicrobial activity of shrimp chitin and chitosan from different treatments and applications of fish preservation. *Fisheries Science*. 68: 170-177.
- Tzortzakis N. G. (2009) Impact of cinnamon oil-enrichment on microbial spoilage of fresh produce. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 10: 97–102.
- Velluti A., Sanchis V., Ramos A.J., Egidio J., Marin S. (2003) Inhibitory effect of cinnamon, clove, lemongrass, oregano and palmarose essential oils on

growth and fumonisin B1 production by *Fusarium proliferatum* in maize grain. *Int. Food Microbiology*. 89: 145–154.

- Williams, R.J., Macdonald, D. (1983). Grain molds in the tropics: Problems and importance. *Annu. Rev.* 21: 153-178.
- Yage X., Xihong L., Qinglian X., Juan Y., Yaqing L., Yao T. (2010) Effects of chitosan coating enriched with cinnamon oil on qualitative properties of sweet pepper. *Food Chemistry*. 61: 1443 – 1450.
- Yamada K., Akiba Y., Shibuya T., Kashiwada A., Matsuda C. (2005) Water purification through bioconversion of phenol compounds by tyrosinase and chemical adsorption by chitosan beads. *Biotechnology Progress*. 21: 823 – 829.

http: [www.fao.org](http://www.fao.org)

http: [www.oeidrus-bc.gob.mx](http://www.oeidrus-bc.gob.mx)

http: [www.siap.gob.mx](http://www.siap.gob.mx)

http: [www.infoaserca.gob.mx](http://www.infoaserca.gob.mx)

http: [www.sagarpa.gob.mx](http://www.sagarpa.gob.mx)