

AISLAMIENTO DE HONGOS ASOCIADOS AL GRANO DE CAFÉ PROVENIENTES DE ZONAS PRODUCTORAS EN NORTE DE SANTANDER - COLOMBIA

ISOLATION OF FUNGI ASSOCIATED WITH COFFEE BEAN FROM PRODUCING AREAS IN NORTE DE SANTANDER - COLOMBIA

Cajiao P. Ángela^{1*}, Rojas C. Liliana¹, Ayala C. Carlos², Sánchez H. Erika².

*Universidad de Pamplona, Facultad de Ciencias Básicas, ¹ Grupo de Investigación en Microbiología y Biotecnología – GIMBIO –
² Semillero en Microbiología y Biotecnología – SIMBIO –. Km. 1 Vía Bucaramanga, angelacajiaooster@gmail.com, tel:
3102640280, Pamplona - Norte de Santander- Colombia.*

Recibido 21 de Octubre 2015; aceptado 30 de Marzo de 2016

RESUMEN

El comercio del café es uno de los renglones económicos más importantes a nivel mundial, sin embargo, también es susceptible a contaminaciones desde su cosecha hasta su transformación. Para la realización de este estudio se recolectaron muestras de café cereza procedentes de diferentes municipios productores de Norte de Santander y posteriormente en el laboratorio se aislaron y caracterizaron fenotípicamente los siguientes agentes fúngicos del grano de café: *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., *Fusarium* spp., *Cladosporium* spp., *Mucor* spp. y *Rhizopus* spp. con ayuda de claves taxonómicas. Los hongos que presentaron una alta incidencia fueron *Aspergillus* spp. y *Fusarium* spp. Entre las tres variables fisicoquímicas analizadas en el café cereza

(pH, actividad de agua, % de humedad) se puede afirmar con certeza que la actividad de agua y el porcentaje de humedad influyen directamente en el número y tipo de aislamientos fúngicos obtenidos.

*Autor a quien debe dirigirse la correspondencia Angela Cajiao E-mail: angelacajiaoster@gmail.com

Palabras clave: *Aislamiento, café cereza, caracterización, hongos.*

ABSTRACT

The coffee trade is one of the most important global economic lines, however, is also susceptible to contamination from harvest to processing. To carry out this study samples of coffee cherry producers from different municipalities of Norte de Santander and later collected in the laboratory isolated and characterized phenotypically these fungal agents coffee bean: *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., *Fusarium* spp., *Cladosporium* spp., *Mucor* spp. and *Rhizopus* spp. using taxonomic keys. The fungi that had a high incidence were *Aspergillus* spp. and *Fusarium* spp. Among the three variables analyzed in the physicochemical coffee cherries (pH, water activity, % moisture) can say with certainty that the water activity and humidity percentage directly influence the number and type of fungal isolates obtained.

Key words: Isolation, coffee cherry, characterization, fungi.

INTRODUCCIÓN

El café pertenece al género *Coffea* y a la familia de las rubiáceas, las especies más

importantes comercialmente pertenecientes al género *Coffea* son conocidas como *Coffea arábica* Linneo (conocida como

Arábica o Arábica) y *Coffea canephora* (Durán, 2004).

El café está predispuesto a la contaminación por hongos como *Penicillium* y *Aspergillus* (Peraica *et al.*, 1999) debido a que, por razones económicas, permanece almacenado durante largos periodos, generalmente sin control de la humedad y la temperatura; y debido a que se trata de un alimento de amplio consumo, la población tiene un alto riesgo de ser contaminado por micotoxinas, ya que el tostado de café no es un proceso que asegure su total destrucción, por lo que una taza de café podría contener cantidades elevadas de ocratoxina A (OTA) (Carrillo, 2003).

Se ha encontrado en diversos estudios en varios países la presencia de hongos productores de OTA (Marin, 2001; Noonim, 2008; Quintana, 2007) lo anterior nos alerta ante las medidas preventivas a tener en cuenta en toda la cadena productiva, dichos estudios relacionan los casos de aflatoxinas y ocratoxinas como factores de riesgo causantes de enfermedades como cáncer, efectos nefrotóxicos y afecciones al hígado en humanos y animales (Jaramillo, 2011).

Gamboa (2012) encontró en su estudio que taxones fúngicos potencialmente toxígenos, tales como *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp.

y *Penicillium* spp., son comúnmente encontrados en todos los estadios del procesamiento de café; así mismo Rojas *et al.*, 2015 asilaron hongos en las diferentes etapas del beneficio de café cultivado y comercializado en Toledo, Norte de Santander.

En Brasil, Taniwaki (2003), durante 1999 y 2000 examinaron muestras de café donde estudiaron la presencia de ocratoxina A (OTA) y hongos productores. Las muestras fueron tomadas de cuatro regiones: Alta Paulista, Alta Mogiana y el Cerrado Mineiro. Más de 800 aislamientos de hongos fueron identificados, también se determinó la capacidad de producir OTA mediante la técnica en agar y cromatografía en capa fina (TLC). *A. niger* fue la especie que se encontró con mayor frecuencia (63 % de los aislamientos).

En el presente estudio se aislaron y caracterizaron fenotípicamente y con ayuda de claves de identificación (Rojas, 1997; Abarca, 2000; Carrillo, 2003; Guevara *et al.*, 2007; Herrera *et al.*, 2015) agentes fúngicos del grano de café (cereza), procedentes de diferentes municipios productores de Norte de Santander.

MATERIALES Y MÉTODOS

Durante los meses de Febrero, Marzo y Abril de 2015, se realizó la recolección de muestras de granos de café cereza en los municipios de Chinácota (1), Toledo (2), Salazar de las Palmas (3), Bochalema (1), Durania (2), Pamplonita (2) y Gramalote (4).

Para el análisis microbiológico de las muestras de café, éstas fueron tratadas de la siguiente forma: primero se les realizó una desinfección con hipoclorito de sodio al 3 % y 1 % sumergiendo los granos de café por 10 segundos aproximadamente, luego en alcohol al 90 – 70 – 40 - 10 % por 10 segundos cada uno y por último se sumergían en agua destilada estéril (Franco *et al.*, 2014). Después de esta desinfección se colocaron 4 granos de café cereza en cajas individuales de Agar PDA. También se realizaron montajes con muestras control, las cuales no tenían desinfección. Posterior a esto las cajas se incubaron a 25 °C / 3 - 5 días; finalizado este tiempo se revisaron las cajas periódicamente y si el crecimiento de hongos era positivo, se realizaban las

resiembras necesarias para obtener cultivos puros y proceder a su caracterización morfológica según (Abarca, 2000; Carrillo, 2003; Guevara *et al.*, 2007; Rojas, 1997).

Para los análisis fisicoquímicos se utilizaron equipos de laboratorio como: balanza de humedad (Precisa XM 60 – The balance of Quality), equipo Microprocessor pH meter (Hanna instrument) y Rotronic HYGROPALM HP23-AWA para medir la actividad acuosa.

Para el análisis estadístico de los datos se usó el software Office Excel 2007 y el software StatGraphics Centurion XV v 15.02.3 para Windows. Se aplicó estadísticas de tipo descriptivo tales como: promedios, desviaciones estándar, que comparan algunas variables cuantitativas vistas por etapas del café y municipios.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A nivel mundial se han asociado al grano de café microorganismos como levaduras, hongos, bacterias, como consecuencia de contaminación o ser transmitidos por la semilla (Chalfoun, *et al.*, 1997). Los géneros presentes con mayor frecuencia son *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp. y *Penicillium* spp. (Santos, 2010). En el presente estudio se aislaron los siguiente posibles géneros fúngicos: *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., *Fusarium* spp., *Cladosporium* spp., *Mucor* spp. y *Rhizopus* spp.

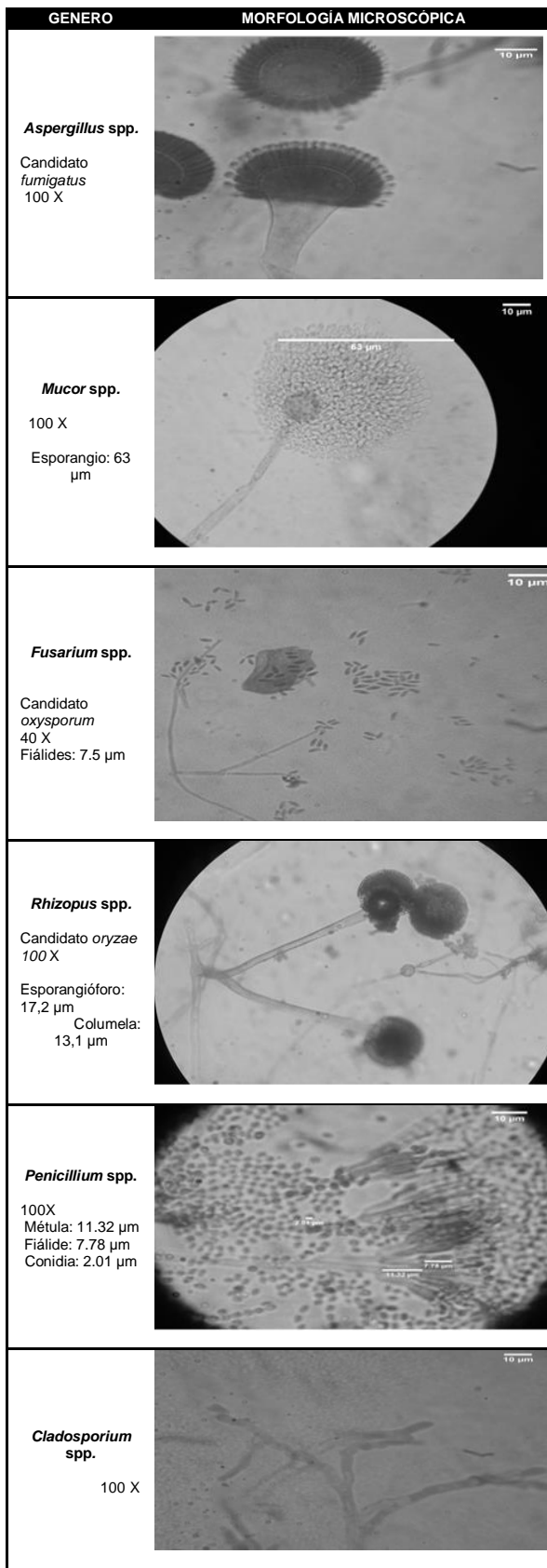
En los aislamientos obtenidos a lo largo de la etapa del café cereza se encontraron géneros que presentaron una alta incidencia, entre ellos están: *Aspergillus* spp. y *Fusarium* spp. En la Tabla 1 se puede apreciar la incidencia de cada posible género por municipio.

Tabla 1. Posibles géneros fúngicos aislados en la etapa de café cereza en algunos municipios cafeteros de Norte de Santander.

MUNICIPIO	GÉNEROS FÚNGICOS
Chinácota	Los hongos de mayor incidencia fueron: <i>Aspergillus</i> spp. y <i>Fusarium</i> spp. en menor incidencia el género <i>Rhizopus</i> spp.
Toledo	El género de mayor incidencia fue <i>Aspergillus</i> spp. y los géneros <i>Fusarium</i> spp. y <i>Penicillium</i> spp., fueron aislados pero en menor frecuencia.
Salazar de la Palmas	Se presentó una elevada incidencia de <i>Aspergillus</i> spp., en segundo lugar se presentó <i>Fusarium</i> spp., en menor proporción se aislaron <i>Mucor</i> spp., <i>Penicillium</i> spp. y <i>Cladosporium</i> spp.
Bochalema	Se presentaron aislamientos del género <i>Aspergillus</i> spp., en su totalidad.
Durania	El género de mayor incidencia fue <i>Aspergillus</i> spp., seguido de <i>Rhizopus</i> spp. y <i>Fusarium</i> spp.
Gramalote	Se presentó una alta incidencia de aislamientos de <i>Aspergillus</i> spp., en segundo lugar se presentó <i>Mucor</i> spp. y en menor incidencia se halló <i>Fusarium</i> spp.
Pamplonita	El género que más predominó fue <i>Mucor</i> spp., y <i>Aspergillus</i> spp., y en menor incidencia se aisló <i>Fusarium</i> spp.

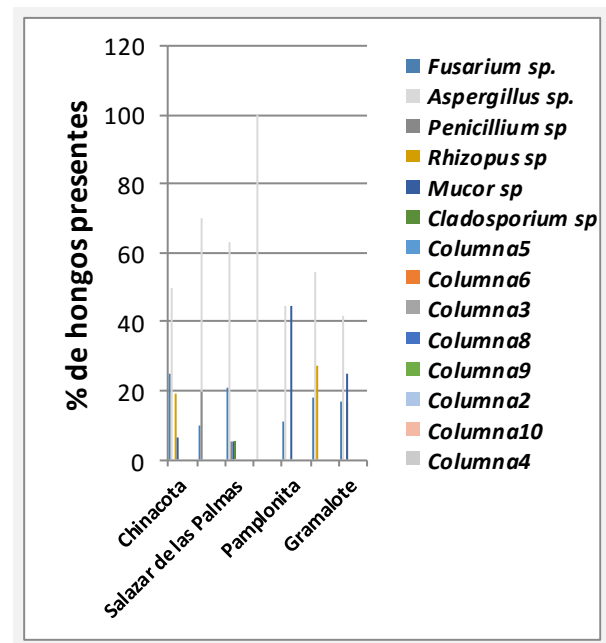
En la Tabla 2 se pueden observar características microscópicas de algunos de estos géneros.

Tabla 2. Características microscópicas de los posibles géneros presentes en la etapa de café cereza.



porcentaje de incidencia de cada agente fúngico aislado en la etapa de café cereza en diferentes zonas de Norte de Santander (ver figura 1).

Figura 1. Presencia de posibles géneros fúngicos aislados en la etapa de café cereza en algunos municipios cafeteros de Norte de Santander.



A continuación se presentan los resultados de algunas variables fisicoquímicas tales como pH, actividad de agua, porcentaje de humedad, obtenidas en la etapa de café cereza proveniente de algunos municipios productores de Norte de Santander (ver Tabla 3).

Tabla 3. Variables fisicoquímicas aplicadas al café cereza

MUNICIPIOS	VARIABLES FISICOQUIMICAS		
	pH	aw	% Humedad
Chinácota	5,03	0,998	38,98 %
Toledo	5,51	0,997	39,42 %
Salazar de las palmas	5,50	0,997	40,20 %
Bochalema	5,34	0,997	40,73 %
Pamplonita	5,45	0,996	39,14 %
Durania	5,52	0,997	40,29 %
Gramalote	5,51	0,998	39,64 %

Entre las variables fisicoquímicas analizadas, se puede afirmar que la actividad de agua y el porcentaje de humedad influyen directamente en el número y tipo de aislamientos fúngicos obtenidos en la etapa de café cereza, el pH presenta una tendencia hacia la acidificación. Cabe resaltar que en general, los hongos tienen un amplio espectro de crecimiento frente al pH, razón por la cual este factor no influye significativamente en el número de aislamientos fúngicos.

CONCLUSIONES

A partir de la etapa del café cereza proveniente de municipios como Toledo, Chinácota, Salazar de las Palmas, Bochalema, Durania y Gramalote se lograron aislar y caracterizar mediante claves taxonómicas diversos agentes fúngicos pertenecientes a los géneros *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., *Rhizopus* spp., *Fusarium* spp., *Mucor* spp., y *Cladosporium* spp. Así mismo, se pudo caracterizar géneros capaces de producir micotoxinas dependiendo de una conjunción de diversos factores medioambientales.

En los aislamientos obtenidos en la etapa del café cereza el género que presentó una

alta incidencia fue *Aspergillus* spp., los hongos *Fusarium* spp. y *Penicillium* spp. productores de Ocratoxina A (OTA), presentaron moderada incidencia. Se aislaron en menor incidencia los géneros *Rhizopus* spp., *Mucor* spp. y *Cladosporium* spp.

Atendiendo a las variables fisicoquímicas y los aislamientos fúngicos de las muestras de café, el porcentaje de humedad, la actividad de agua y la etapa del beneficio del café cereza se encuentran directamente relacionadas con el número y tipo de aislamientos fúngicos ya que en esta etapa (café cereza) se encontró un alto porcentaje

de humedad y actividad de agua, así como un gran número de aislamientos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abarca, M.L. (2000). Taxonomía e identificación de especies implicadas en la aspergilosis nosocomial. Departament de Sanitat i d'Anatomia Animals (Microbiologia). Facultat de Veterinària, Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra (Barcelona), Spain. Revista iberoamericana de micología.

Carrillo, L. (2003). Los hongos de los alimentos y forrajes. Universidad Nacional de Salta, Salta.

Chalfoun De Souza, S.M., Luiz De Carvalho, V. (1997). Efeito de microorganismos na qualidade da bebida de café. Informe Agropecuario 18(187):21-26.

Duran, F. (2004). Cultivo del café. Grupo Latino editores S.A.S.

Gamboa, M.Á. (2012). Presencia de Aspergillus y otros simbiontes fúngicos en granos de café procedentes de Colombia. Acta Biológica Colombiana; 17(1)39-50.

Guevara, M.; Urcia, F.; Casquero, J. (2007). Manual de procedimientos y técnicas de laboratorio para la identificación de los principales hongos oportunistas causantes de micosis humanas. Lima, Perú. Instituto nacional de salud.

Herrera, F. A., Santos, J.B. Perfiles de Pcr-Rflp en Staphylococcus Aureus Meticilina - Resistentes Aislados A Partir De Queso Fresco Artesanal. (2015). @limentech, Ciencia y Tecnología Alimentaria. ISSN 1692-7125. Volumen 13, No. 2, p. 145-153.

Jaramillo, E. (2011). Prevalencia de aflatoxinas en la producción de café tostado. Universidad para la Cooperación Internacional (UCI).

Marín, S.R., Robledo, M.L. (2001). Contaminación natural con micotoxinas en maíz forrajero y granos de café verde en el Estado de Nayarit (México). Revista Iberoamericana de Micología, 18 (3) p. 141 - 144.

Noonim, P.; Mahakarnchanakul, W.; Nielsen, K.F.; Frisvad, J.C.; Samson,

R.A. (2008). Isolation, identification and toxigenic potential of ochratoxin A-producing *Aspergillus* species from coffee beans grown in two regions of Thailand. *International Journal of Food Microbiology*, 128(2) p. 197-202.

Área Ciencias Básicas Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Bucaramanga.

Peraica, M., Radić, B; Lucić, A. Pavlović, M. (1999). Toxic effects of mycotoxins in humans. *Bulletin of the World Health Organization* 77: 754-766.

Quintana, E.A. (2007). Determinación de ocratoxina A en plasma humano y en café de Costa Rica por un método de ELISA. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 57 (2).

Rojas, F.T.I. (1997). *Taxonomía de hongos ambientales y su influencia en el biodeterioro y la salud humana*. La Habana – Cuba. Universidad de la Habana. Facultad de Biología.

Rojas C. Liliana, Cajiao Angela, Cárdenas Roberth, Quevedo, Hussey. Aislamiento de hongos en las diferentes etapas del beneficio de café cultivado y comercializado en Toledo, Norte de Santander. (2015). @limentech, *Ciencia y Tecnología Alimentaria*. ISSN 1692-7125. Volumen 13, No. 2, p. 96-107.

Santos, O.M. (2010). *Importancia y Efectos de la Aflatoxina en los Seres Humanos in*