

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE MEDICINA
ESCUELA DE CIENCIAS DE LA SALUD
LICENCIATURA EN SALUD AMBIENTAL



*Recibido
Activo
10 agosto
2023.*

“PURIFICACIÓN DE CEPAS PROVENIENTES DE MOHOS EXTRAÍDOS DE CAFÉ EN SU ETAPA GRANO ORO (GREEN COFFEE) E IDENTIFICACIÓN DE SU POTENCIAL TOXIGÉNICO”.

PRESENTADO POR:

BR. BRENDA ESTEFANY HERNÁNDEZ RAMOS. HR13044

BR. ENRIQUE STANLEY ARGUMEDO OCHOA. AO13019

PARA OPTAR AL GRADO DE:

LICENCIADO EN SALUD AMBIENTAL

ASESOR:

LICENCIADO OSCAR ALBERTO IRAHETA BLANCO.

Ciudad universitaria” Dr. Fabio Castillo Figueroa”, El Salvador, 14 Julio 2023.

AUTORIDADES DE LA UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR.

Rector

Mcs. Roger Armando Arias.

Vicerrector Académico

PhD. Raúl Ernesto Azcúnaga López.

Vicerrector Administrativo

Ing. Juan Rosa Quintanilla.

Secretario General

Ing. Francisco Antonio Alarcón.

AUTORIDADES DE LA FACULTAD DE MEDICINA

Decana

McS. Josefina Sibrian de Rodriguez

Vicedecano

Dr. Saul Diaz Peña

Secretaria

MsC. Aura Marina Miranda de Arce

Director de Escuela

McS. José Eduardo Zepeda Avelino

Directora de Carrera

MPH. Astrid Violeta Villalobos Velásquez

AGRADECIMIENTOS.

Queridos lectores

En este ansiado momento en el cual culminamos una etapa de nuestra carrera académica y profesional, queremos agradecer:

Primeramente, a Dios por permitirnos concluir de manera satisfactoria dicha etapa, la cual es de suma importancia para nosotros, ya que jamás permitió que perdiéramos la motivación a pesar de las adversidades que se nos presentaron, desde tener que optar por cambio de modalidad, hasta el desarrollo de actividades post pandemia. Por siempre brindarnos salud y colocar personas que sumaron demasiado a nuestro desarrollo personal y profesional.

A nuestros familiares que fueron de vital apoyo durante nuestro proceso de formación y pasantía de investigación, acompañándonos durante las madrugadas, días de cansancio y noches sin dormir, brindándonos motivación y ánimo para siempre hacer más de lo que debemos y así lograr resultados mejores día con día.

Agradecemos al Licdo. Oscar Alberto Iraheta Blanco quien fue nuestro asesor durante la pasantía de investigación, nos acompañó durante todo el proceso para lograr nuestros objetivos brindándonos dirección para relacionar el procesamiento de muestras en el laboratorio y su vinculación a la problemática ambiental por la cual atraviesa nuestro país.

Así mismo agradecemos de manera especial al investigador principal Licdo. Juan Agustín Cuadra Soto, quien nos aceptó para formar parte del proyecto de investigación, nos brindó capacitación técnica durante todo desarrollo de las actividades de pasantía y nos permitió formar parte de más procesos relacionados al Análisis Bromatológico convirtiéndose más que un mentor, un amigo; a fin de incrementar nuestras destrezas y habilidades en el campo de la Química y Microbiología especialmente relacionada al análisis de alimentos y determinación de mohos con potencial toxigénico.

También de manera muy especial a los docentes y personal pertenecientes a la Facultad de Química y Farmacia, quienes siempre nos brindaron su apoyo al desarrollo de nuestras actividades, haciéndonos sentir parte de la comunidad investigativa que conforma su facultad. Por último, también agradecer a nuestros compañeros y amigos pertenecientes a la Facultad de Química y Farmacia con quienes compartimos procesos, aprendizajes y desarrollo de diversas actividades bromatológicas durante el desarrollo de nuestra pasantía de investigación.

DEDICATORIA.

A ti Abuelito Papitoño José Antonio Ramos, que siempre te llevo en mi corazón; aunque no estés aquí a mi lado para celebrar este momento tan importante de mi vida, el cual sabías que lograría cuando me dijiste a mis 11 años “Como te quiero mi Peche, vas a ser una gran profesional y te vas a graduar, lástima que no voy a estar ahí para verte”. Por ello y desde entonces, me sigo esforzando cada día para que estés muy orgulloso de mí y ser esa mujer triunfadora, íntegra, honesta, sencilla que querías que fuera y así logres verlo desde donde te encuentres. Te lo dedico por siempre abuelito.

A mi tía Nubia Beatriz Ramos; quién me enseñó a valorarme y ser fuerte ante cualquier adversidad, viniera de donde viniera; por mostrarme que la fe en Dios es lo más importante en esta vida y que para Él no hay imposibles; y aunque ya no estén en este mundo, sé que ambos estarán esperando en la Eternidad.

A ti Mami Verónica Ramos, dedicarte esto se queda corto, te lo entrego en tus manos, ya que gracias a tu lucha, noches en vela en medio de lágrimas, orando por mí y bendiciendo mi vida. Tus desayunos meticulosamente preparados para asegurarte de que nunca pasara hambre durante mis estudios, además de ser mi mejor amiga y mi paño de lágrimas que siempre ha estado cuando nadie más lo ha hecho... Gracias mami, eres lo mejor que me ha podido pasar en la vida, ya que jamás he encontrado mujer más virtuosa que tú, que das el verdadero ejemplo de ser una hija de Dios.

A ti Papi Rigoberto Hernández, por cada gota de sudor de tu frente derramada al querer darme todo lo que necesitaba. Por nunca desfallecer en las adversidades y los sacrificios que has hecho para llegar a este punto. Gracias por luchar cada día y sentirte orgulloso de tu hija; hoy puedo decirte que cada gota de sudor y cansancio, han valido la pena...

A mi hermanita Celeste, hermano mayor Jonathan y mi familia, por estar a mi lado brindándome su amor y sonrisas, compartiendo juntos esta carrera hasta llegar a la meta final. ¡Lo logramos!

A mi gran amigo y compañero de tesis Enrique Argumedo, por ser la otra ala de este vuelo, el cual hemos piloteado juntos y que cuando uno de los dos ha caído, el otro ha estado ahí para levantarlo, por cientos de experiencias, amistades y conocimientos que adquirimos en este camino juntos, el cual inicia para ambos, del cual estamos despegando.

¡INFINITAS GRACIAS!

Brenda Estefany Hernández Ramos.

DEDICATORIA.

Quiero dedicar de manera especial este trabajo a Antonio Nicolas Argumedo Matamoros ,María Teresa Linos de Argumedo y Francisca Dolores Argumedo Linos quienes a lo largo de su vida se dedicaron a brindarme su guía, hoy en día sé que me acompañan y vivirán siempre en mi corazón, gracias a ellos conocí la caficultura, asimismo a Blanca Estela Viuda de Ochoa quien ha sido una segunda madre y me ha acompañado durante todo mi caminar haciendo incontables sacrificios, siendo luz en mis días más oscuros, y en particular a Miguel Angel Ochoa Viera, quien a lo largo de su vida se dedicó a instruirme y fomentar el hábito del estudio, diciéndome que “el que lee nada lo preocupa y puede afrontar de manera fácil los retos que le sean impuestos”; uno de sus últimos deseos fue ver la culminación de esta etapa de formación y poder celebrar en familia, estoy seguro que se encuentra muy feliz y que siempre estará a mi lado cuidándome desde el cielo.

A mis padres Estela Ochoa y Alex Argumedo, a mi familia hermano, tíos, primos y amigos que poco a poco se han integrado a este querido grupo. Quienes siempre están brindándome su apoyo incondicional, en esas madrugadas frías acompañadas de amaneceres tardíos a causa de las noches de desvelo, brindándome hogar, vestimenta, música, comida, chistes, consejo y sobre todo palabras de ánimo. Todos siempre disponibles en las buenas y malas sin importar horarios, climas, circunstancias y cadencias.

Así también a mis amigos y compañeros en este proceso, Estefany Ramos, Oscar Iraheta y Juan Cuadra, fue mucho el camino recorrido, pero logramos superar todos los retos y finalizar este maravilloso proceso de enseñanza y aprendizaje en el cual descubrimos un nuevo mundo de infinitas posibilidades; mis aliados, pero especialmente amigos que en el proceso siempre fueron apoyo y fuente de inspiración a seguir buscando nuevos retos, Thania Benítez, Gricelda García, Enrique Posada y Vicente Ventura, siempre acompañando en el desarrollo de actividades químicas y bromatológicas.

Por último, a todos los estudiantes que por diferentes motivos no pudieron culminar sus procesos de formación y se vieron obligados a buscar nuevos horizontes, a los que lograron terminar sus procesos aunque les tomara más tiempo del esperado superando las adversidades, a los que descubrieron que el error también es fuente de aprendizaje y que una nota no determina el nivel de conocimiento, para finalizar a todos los profesionales y entusiastas que día por día se dedican a realizar investigación para generar conocimiento científico y de esa manera contribuir a mejorar nuestra sociedad.

Enrique Stanley Argumedo Ochoa

INFORMACIÓN GENERAL

Nombre de la Investigación	"Purificación de cepas provenientes de mohos extraídos de café en su etapa grano oro (Green Coffee) e identificación de su potencial toxigénico".
Ciclo que se realiza	Ciclo I y ciclo II 2022
Requisitos de Inscripción (Artículo 192)	Los egresados que cumplan los requisitos establecidos en los planes y programas de estudio vigentes en cada carrera.
Duración del Programa Art.6 (204)	6 meses.
Intensidad Horaria	Lunes a viernes de 8:00 am a 4:00 pm.
Fecha de Inicio	8 de julio del 2021.
Fecha de finalización	12 de agosto del 2022.
Lugar de pasantía de investigación	Laboratorio de Análisis Bromatológico, Facultad de Química y Farmacia.
Docente Asesor	Licdo. Oscar Alberto Iraheta Blanco.
Investigador Principal	Licdo. Juan Agustín Cuadra Soto.
Institución responsable de la investigación	Universidad de El Salvador.
Datos de contacto Investigador Principal	juan.cuadra@ues.edu.sv

ÍNDICE

I.	JUSTIFICACIÓN.....	1
II.	OBJETIVOS.....	2
III.	DESCRIPCIÓN Y DESARROLLO DE FUNCIONES Y ACTIVIDADES REALIZADAS	3
IV.	METODOLOGÍA EMPLEADA.....	5
	MARCO CONCEPTUAL.....	6
	MARCO TEÓRICO.....	11
	HISTORIA, PANORAMA SOCIOECONÓMICO Y AFECTACIONES DEL CULTIVO DE CAFÉ EN EL SALVADOR.	11
	CAFÉ.....	13
	CONTAMINACIÓN EN EL BENEFICIADO DE CAFÉ	15
	ANTES DE LA COSECHA.....	15
	COSECHA	15
	PROCESAMIENTO POST COSECHA.....	16
	SECADO.....	16
	ALMACENAMIENTO	17
	PROCESAMIENTO SECO Y HÚMEDO.	18
	TOSTADO DEL CAFÉ.....	19
	ALMACENAMIENTO, TRANSPORTE Y COMERCIO LOCAL.....	19
	LA BEBIDA DEL CAFÉ.....	20
	CAMBIO CLIMÁTICO EN EL SALVADOR.....	20
	MOHOS PRODUCTORES DE “OCRATOXINA A”	32
	EFECTOS TÓXICOS DE LA OCRATOXINA A.....	37
	NORMATIVAS Y REGLAMENTOS QUE REGULAN EL CAFÉ EN EL SALVADOR.....	38
	MÉTODOS MICROBIOLÓGICOS PARA EL ESTUDIO DE MOHOS	40
	MOHOS IDENTIFICADOS DE MUESTRAS EN CAFÉ ORO (GREEN COFFEE).....	56
	RESULTADOS PURIFICACION DE CEPAS DE MOHOS PROVENIENTES DE CAFÉ GRANO ORO (GREEN COFFEE) 2022.....	63
V.	CONTRIBUCIONES DEL TRABAJO Y LIMITACIONES.	66
VI.	DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	68
VII.	CONCLUSIONES	70
VIII.	RECOMENDACIONES.....	71
IX.	FUENTES DE INFORMACIÓN.....	72
X.	ANEXOS.....	74

INTRODUCCIÓN

El café es una de las bebidas de producción más importantes en todo el mundo ocupando los primeros lugares de consumo, según Russell & Patterson (1). En El Salvador el 88% de la población bebe café, se estima que un salvadoreño puede llegar a consumir 584 tazas de café al año (2); por lo que siendo una bebida tan popular actualmente cuenta con un parque cafetalero con una extensión que supera las 200 mil manzanas (140 mil hectáreas aproximadamente) superando su producción en el año 2020 de 740,110 quintales de café oro-uva (3), resaltando este producto agrícola, ya que es de los principales pilares económicos y de consumo para el país.

Según la Encuesta de Hogares y Propósitos Múltiples desarrollada durante el año 2019, el 15.4% de la población ocupada a nivel nacional (448,099 personas) manifiestan emplearse en el sector agrícola constituyendo el cultivo de café la base fundamental en la economía de muchos salvadoreños. Además, de ocupar en el año 2020 el segundo “principal producto de agroexportación” siendo Estados Unidos, Alemania, Japón e Italia los mayores compradores (3). Sin embargo, el café se ha visto afectado por distintas crisis; una de las principales ha sido la pérdida de los cultivos causados por el hongo de la Roya (*Hemileia Vastatrix*) desde el año 2012 con una pérdida de producción estimada del 36% para ese año (4); no obstante, se ha logrado identificar otros contaminantes, es el caso de los mohos endofíticos en el café con capacidad de producir toxinas que podrían representar un riesgo a la salud humana y pérdidas económicas debido al rechazo de exportación al no cumplir los estándares de calidad establecidos; entre los que se destacan los principales géneros de mohos como el *Penicillium* y *Aspergillus* que han logrado establecerse en el café por efecto del cambio climático.

En la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador, se ha realizado un estudio relacionado a la identificación de mohos productores de Ocratoxina A (OTA) del género *Aspergillus* en granos de café, obteniendo como resultado un cepario donde se han almacenado los mohos producto de la investigación. Sin embargo, algunas cepas aisladas se encuentran mezcladas con bacterias y otros mohos, dificultando su identificación. Por lo tanto, el propósito de esta pasantía fue realizar la purificación de cepas recolectadas de muestras de café grano oro (*Green Coffee*) e identificación de su potencial toxigénico, detallando los mohos aislados en el cepario, facilitando así, el análisis y discusión de resultados del trabajo de investigación.

I. JUSTIFICACIÓN

El café es una de las bebidas más importantes a nivel mundial, considerado un alimento de producción agrícola de exportación clave para la economía de El Salvador y consumo interno; según estudios realizados se ha visto afectado por diferentes hongos como la Roya (*Hemileia Vastatrix*) desde 2012 (4), y ahora por la Ocratoxina A (OTA) producida por el moho *Aspergillus spp*; se ha retomado la pasantía de investigación como apoyo a la investigación realizada en la Facultad de Química y Farmacia, del laboratorio de Análisis Bromatológico “Incidencia de hongos del género *Aspergillus* y determinación de Ocratoxina A (OTA) en granos de café oro (*Coffea Arabica*) beneficiados en El Salvador” retomando el objetivo “Determinar los niveles de contaminación fúngica en muestras de café verde procedentes de cerezo seco y de pergamino obtenidos de los beneficios visitados, e identificar la presencia de posibles hongos productores de Ocratoxina por el método microbiológico y confirmar por el método inmunológico ELISA”, con el fin de encontrar información relevante para el desarrollo de dicha investigación y así poder aportar a futuras investigaciones sobre el crecimiento y presencia de estos mohos debido al efecto del cambio climático en El Salvador y la manera que este está afectando a la industria cafetalera, la cual es fuente de empleos para un 15.4% de la población en general del país (3); así como un posible factor del apareamiento de enfermedades y en el caso de la OTA, un cancerígeno para el consumidor tanto local como extranjero si no se regulan las medidas de prevención de la toxina producida por el moho.

II. OBJETIVOS

General:

- Purificar las cepas provenientes de mohos extraídos de café en su etapa grano oro (Green Coffee) e identificar su potencial toxigénico y su relación con el cambio climático.

Específico:

- Identificar la morfología macroscópica y microscópica de los principales géneros de mohos obtenidos de muestras de café grano oro (Green Coffee).
- Describir las cepas mediante el uso de clave dicotómica.
- Visualizar mediante luz ultravioleta onda larga, la fluorescencia que emite las placas que contengan mohos para identificar si presentan potencial toxigénico.
- Explicar la relación de las cepas identificadas y el cambio climático.

III. DESCRIPCIÓN Y DESARROLLO DE FUNCIONES Y ACTIVIDADES REALIZADAS

La participación estudiantil en el proceso de pasantía de investigación se basó en contribuir al desarrollo del objetivo específico “Determinar los niveles de contaminación fúngica en muestras de café verde procedentes de cerezo seco y de pergamino obtenido de los beneficios visitados, e identificar la presencia de posibles hongos productores de Ocratoxina por el método microbiológico y confirmar por el método inmunológico ELISA”. Correspondiente a la investigación “Incidencia de hongos del género *Aspergillus* y determinación de Ocratoxina A (OTA) en granos de café oro (*Coffee Arabica*) beneficiados en El Salvador.” para tal fin se procedió a realizar la identificación de géneros fúngicos, descripción morfológica y determinación del potencial toxigénico mediante la observación de fluorescencia, para verificar los efectos del cambio climático. Para ello, se estudiaron mohos aislados del café grano oro (Green Coffee) almacenados en un cepario; posteriormente se procedió a la elaboración de diferentes medios de cultivo como lo son Papa Dextrosa (PDA), Sabouraud (SBR), Diclorán Rosa de Bengala (DRB) y Czapek (CZ), que sirvieron para realizar inoculaciones de mohos por la técnica de punción; donde se hizo identificación morfológica de las cepas mediante el uso de técnicas de observación utilizando claves dicotómicas que consistieron en evaluaciones macroscópicas como microscópicas de los mohos aislados. En casos que se evidencio por criovial más de dos entes microbiológicos, estos se purificaron y re inocularon en agar selectivo para su respectiva identificación.

Para evaluar el potencial toxigénico se utilizó medio de cultivo agar crema de coco (ACC); así cuando la cepa de moho inoculado se desarrolló totalmente en el medio, se visualizó en cámara de luz ultravioleta (366 nm), observando si existía presencia o ausencia de fluorescencia.

ACTIVIDADES:

- Planificación de procesos para el desarrollo de actividades bromatológicas.
- Adecuación de condiciones de laboratorio para la ejecución de análisis.
- Esterilización de material utilizado para análisis bromatológico.
- Preparación de medios de cultivo (cálculo de cantidades, esterilización, plaqueo).
- Preparación de reactivos para higienización de áreas de trabajo.
- Inoculación de muestras de mohos aisladas en crioviales.
- Purificación de cepas procedentes de muestras de café.
- Identificación de mohos a través de claves dicotómicas.
- Determinación de potencial toxigénico de mohos, a través de la observación en luz U.V.
- Lavado de cristalería y equipos de laboratorio utilizados en los procedimientos de aislamiento y clasificación.
- Destrucción de muestras a través de la técnica de esterilización húmeda por autoclave.
- Participación en el desarrollo de actividades bromatológicas afines al proceso de enseñanza estudiantil.
- Participación en proceso de caracterización microbiológica de Atol Shuco en conjunto con Universidad de Illinois.
- Elaboración de bitácora técnica de actividades realizadas en la Pasantía de Investigación realizada en el Laboratorio de Bromatología.

IV. METODOLOGÍA EMPLEADA

La pasantía de investigación fue basada en un enfoque analítico, descriptivo y experimental partiendo de la purificación de cepas resguardadas en crioviales obtenidas a partir de muestras de café en su etapa de procesamiento grano oro (Green Coffee) provenientes de beneficios productores de café de altura de El Salvador, haciendo un total de 52 cepas; estas colectadas mediante un muestreo aleatorio simple estratificado.

Para fines de pasantía se tomaron como muestra el 36.53% (19 cepas) del total de cepas y para su purificación se utilizaron técnicas microbiológicas e identificación con clave dicotómica.

MARCO CONCEPTUAL.

TÉRMINOS GENERALES.

ACC (Agar Crema de Coco): Medio de cultivo preparado a base de crema de coco, utilizado para la visualización de Florencia de sepas con potencial toxigénico (5) (6)

Beneficiado de Café: Proceso que consiste en eliminar del fruto de café todas las partes que cubren el grano o semilla. Dicho proceso se puede realizar mediante vía húmeda o vía seca. (7)

Cepas: Población de una especie que desciende de una sola célula. (8)

Café en Oro: Equivalente a "Green Coffee". Es el grano o semilla del café al cual se le han quitado las diversas capas que lo cubren. En este estado ya está listo para su torrefacción. (7)

Claves dicotómicas: Herramienta que permite realizar descripción morfología de un ente microbiológico en estudio (9)

Cambio climático: Variación del clima que se presenta durante los espacios de tiempo geológico y que afecta a grandes regiones. (10)

Crioviales: Tubo fabricado en polipropileno, diseñados para almacenar material biológico. (11)

Fluorescencia: Emisión de luz de una longitud de onda más larga que la de la luz absorbida. (8)

Morfología: Estudio de la estructura y forma de los seres vivos. (8)

Medios de selectivo: Medio que favorece el crecimiento de unos organismos mientras que inhibe el de otros. (8)

Mohos: Hongo caracterizado por su estructura filamentosa. (8)

OTA: Metabolito fúngico tóxico clasificado por el Centro Internacional de Investigaciones sobre el Cáncer como posible carcinógeno humano (1)

Purificación: Es la separación de un determinado microorganismo del resto de microorganismos que le acompañan. (12)

Potencial: Que puede suceder o existir, en contraposición de lo que existe. (13)

Toxigénico: Que produce toxinas (14)

TÉRMINOS MICROBIOLÓGICOS.

Aspergillus: Hongo filamentoso hialino, saprofita, perteneciente al filo Ascomycota (15)

Anelidos: Como fiálides, son células que producen conidios en sus puntas en cadenas no ramificadas (como en el género *Scopulariopsis*) o en masas húmedas (como en el género *Scedosporium*). A diferencia de los fiálides, los anelidos aumentan de longitud cada vez que se produce una nueva espora. Un anelido viejo que ha producido muchas esporas tendrá una serie de cicatrices apicales o anillas en su punta. Estas cicatrices, que quedan a medida que se desprenden las esporas sucesivas, a menudo son difíciles de ver con el microscopio óptico.

Anellido: Célula conidiógena especializada a partir de la cual se producen esporas enteroblásticas y que tiene una columna de cicatrices apicales (annellaciones) en su punta.

Artrospora: Conidio tálico producido como resultado de la fragmentación de una hifa existente en células separadas.

Artroconidios: Conidios de origen tálico que surgen de la transformación de una serie de células a lo largo de una hifa. Pueden ser contiguos (simples) o intercalados con celdas de separación (alternas). En la madurez, las artroconidias simples se liberan después de la formación de paredes dobles seguido de un proceso de fisión, mientras que las artroconidias alternas se liberan después de la lisis de las células que se separan. En el último caso, se pueden observar volantes anulares de material de pared remanente en los extremos de los conidios desprendidos.

Ascospora: Espora haploide producida dentro de un asca después de la meiosis.

Aseptado: Sin paredes transversales ni septos.

Blástica: Una de las dos formas básicas de conidiogénesis, en la que el agrandamiento de la célula conidiógena ocurre antes de que se establezca un tabique delimitador.

Conidiogénesis tálica: En la conidiogénesis tálica, el conidio se produce a partir de una célula hifal existente. Esto ocurre cuando una hifa se divide en secciones para formar células individuales o artrosporas, o cuando una célula desarrolla una pared gruesa para formar una espora o clamidospora en reposo.

Conidiogénesis blástica: Muchos hongos desarrollaron alguna forma de gemación repetida que les permite producir grandes cantidades de esporas asexuales a partir de una sola célula conidiógena. Ahora se reconocen dos formas de conidiogénesis blástica: desarrollo holoblástico

en el que tanto la pared interna como la externa de la célula conidiógena se hinchan para formar el conidio, y el desarrollo enteroblástico, en el que el conidio se produce desde el interior de la célula conidiógena, la capa externa de la pared de la hifa se rompe y una capa interna se extiende hasta convertirse en la nueva pared de esporas.

Clamidospora: Conidio en reposo de paredes gruesas, que se forma como resultado del agrandamiento de una célula de hifa existente y que generalmente no se libera de la hifa.

Cleistotecio (pl. cleistotecia): Ascocarpio cerrado sin apertura predefinida, que se abre para liberar las ascosporas.

Collarete: Estructura en forma de copa en la punta de una célula conidiógena.

Conidios: En Ascomycota y Basidiomycota, las esporas asexuales se denominan conidios y se producen a partir de una célula conidiógena. En algunas especies, la célula conidiógena no es diferente del resto del micelio. En otros, la célula conidiógena está contenida en una estructura hifal especializada o conidióforo. Hay dos métodos básicos de producción de esporas asexuales: el tático en el que una célula de hifa existente se convierte en un conidio; y blástica, en la que el conidio se produce como resultado de algún tipo de proceso de gemación.

Conidiogénesis: Proceso de formación de conidios.

Célula conidiógena: Cualquier célula que produce o se convierte en conidio.

Conidióforo: Hifa o célula especializada en la que, o como parte de la cual, se producen los conidios.

Dematiáceo: Pigmentado oscuro.

Dentículo: Pequeña proyección sobre la que nace una espora.

Dimorfo: Que tiene dos formas de crecimiento.

Fascículo: Haz de hifas.

Glabra: Textura similar a la cera (una descripción de las colonias).

Gymnothecium (pl. gymnothecia): un ascocarpio en el que los ascos se distribuyen dentro de una red suelta de hifas.

Heterotálico: Hongo autoestéril; la reproducción sexual no puede tener lugar a menos que estén presentes dos cepas de apareamiento compatibles.

Hilum (pl. hila): Cicatriz en la base de un conidio.

Holoblástico: Forma de conidiogénesis en la que las paredes internas y externas de la célula conidiógena se hinchan para formar el conidio.

Homotálico: Hongo autocompatible; la reproducción sexual puede tener lugar dentro de una variedad individual.

Hialino: Incoloro, transparente o translúcido.

Hifa (pl. hifas): Filamentos individuales que forman el micelio de un hongo.

Inoculación: Introducción de un microbio (8)

Levaduras: Las levaduras no son un grupo taxonómico natural ni formal, pero son una forma de crecimiento que se encuentra en una amplia gama de hongos ascomicetos y basidiomicetos no relacionados. Su identificación, a diferencia de la de los mohos, se basa en una combinación de características morfológicas, fisiológicas y bioquímicas.

Macroconidio (pl. macroconidia): El mayor de dos tamaños diferentes de conidios producidos por un hongo de la misma manera; suele ser multicelular.

Métula (pl. metulae): Rama de un conidióforo en la que nacen fiálides (células conidiógenas); característico de *Aspergillus* y *Penicillium spp.*

Microconidio (pl. microconidios): El más pequeño de dos tamaños diferentes de conidios producidos por un hongo de la misma manera.

Moho: Hongo filamentoso.

Micelio: Masa de filamentos ramificados que constituye el crecimiento vegetativo de un hongo.

Ostiolo: Abertura a través de la cual se liberan las esporas de un ascocarpio o picnidio.

Reproducción asexual: Los hongos pueden producir esporas asexuales por división nuclear haploide simple. Nuevamente, los propágulos de vida corta se producen en cantidades enormes para asegurar la propagación a nuevos hábitats. En muchos hongos esta etapa asexual (anamorfo o imperfecta) ha resultado tan exitosa que la etapa sexual (teleomorfa o perfecta) ha disminuido o incluso ha desaparecido.

Fiálide: Célula conidiógena especializada a partir de la cual se producen esporas enteroblásticas en sucesión basípeta.

Pseudohifa (pl. pseudohyphae): Cadena de células de levadura que han surgido como resultado de la gemación y se han alargado sin desprenderse unas de otras, formando un filamento similar a una hifa.

Penicillium: Hongo filamentoso hialino, saprófito perteneciente al filo Ascomycota (16).

Pseudomicelio: Masa de pseudohifas.

Picnidio (pl. picnidios): Estructura cerrada con una abertura apical (ostiolo) en cuyo interior se forman los conidios.

Piriforme: Forma de pera.

Rizoide: Hifa corta y ramificada que se asemeja a una raíz.

Septados: Que tienen paredes transversales o septos.

Esporangio (pl. esporangios): Estructura cerrada en forma de saco que contiene esporas asexuales; características de los mucorales.

Espora: Propágulo de una o más células fúngicas modificadas para dispersarse o resistir condiciones adversas.

Simpodial: Desarrollo de un solo conidio en sitios sucesivos a lo largo de una célula conidiógena que se alarga.

Tálico: Una de las dos formas básicas de conidiogénesis, en la que el agrandamiento de la inicial conidial se produce después de la colocación de un tabique delimitador.

Talo: Crecimiento vegetativo de un hongo.

Tuberculado: Que tiene pequeñas proyecciones parecidas a verrugas.

Vesícula: La punta hinchada del conidióforo en *Aspergillus spp.*, o la parte hinchada de una célula esporógena en otros hongos.

Zoospora: Espora asexual móvil.

Zigospora: Espora sexual de paredes gruesas producida en Mucoromycotina y Entomophthoromycotina (17)

MARCO TEÓRICO

HISTORIA, PANORAMA SOCIOECONÓMICO Y AFECTACIONES DEL CULTIVO DE CAFÉ EN EL SALVADOR.

Los inicios del cultivo de café se dieron cerca del año 1740, cuando predominaba la exportación de añil hasta el siglo XIX, posteriormente la caída de los precios del cultivo del añil y los estragos de las guerras desencadenaron crisis económica, estos sucesos causaron cambios que llevaron a la expansión del cultivo de café con el apoyo de los gobernantes en el año 1860.

Durante la presidencia del Capitán General Gerardo Barrios se fomentó e implementó la expansión de la caficultura en todo El Salvador, lo que llevó a ser el pilar de la economía del país, convirtiéndose así en la fuente principal generadora de divisas en el mercado internacional, superando en el año 1879 al añil en exportaciones del comercio en el océano Pacífico; que condujo como consecuencia, ser el tercer país productor de café a nivel mundial después de Brasil y Colombia.

En 1980 se dio un descenso de la actividad del café debido a la guerra civil, donde con las nuevas reformas se generaron pérdidas económicas en el cultivo; orientándose a exportaciones no tradicionales; aún con el fin del conflicto armado, pasó de generarse de 4.5 millones a 4.31 millones de quintales oro-uva, manteniendo aún la generación de empleos hasta 2001, donde los precios internacionales tocaron fondo y se vio mayor afectación de la producción de café hasta ese momento.

En el año 2012 el café sufriría una reducción importante debido al envejecimiento de las plantaciones, el mal cuidado de estas y el clima adverso que provocaron la afectación del moho conocido como Roya (*Hemileia Vastatrix*) causante de la caída del grano de café (3).

A partir del año 2014 hubo una mayor reducción de ingresos anuales por el sector cafetalero pasando de \$251.60 millones a \$112.77 millones anuales promedio debido a dos factores principales como lo son el hongo de la roya y la caída del precio internacional del café.

Según estudios preliminares por el Consejo Salvadoreño del Café la ocupación de la actividad cafetalera indirecta puede ser de incluso 100,000 empleos o más, sin incluir empresas intermediarias, exportadoras, comercializadoras, agroturismo, entre otras; lo que hace que haya un porcentaje mayor al 7.7% de la población ocupada en la agricultura.

Lo que calcula que para el 2019 la producción alcanzó los \$89.3 millones, donde el valor agregado en ese año fue del 4.2% del Producto Interno Bruto Agrícola (PIBA) siendo \$57.13 millones en términos generales.

Según datos preliminares de 2020 del banco central de reserva, el café tuvo una participación del 28.2% en la generación de valor agregado del sector agrícola en El Salvador, siendo el segundo principal producto de agroexportación.

La Roya (*Hemileia Vastatrix*) tuvo consecuencias fuertes en el aspecto social y económico la cual se mantuvo desde entonces a las posteriores cosechas afectando la variedad de café Borbón y Pacas comercializados mundialmente y así mismo descendiendo su precio en el mercado internacional.

Aun así, el café tiene la ventaja de adaptarse a condiciones externas por sus cualidades, y su camino recorrido ya que antes se exportaba en enormes cantidades, pero sin verificar su calidad; a comparación de hoy en día debido a las nuevas tendencias de especificaciones ha despertado micro y pequeños tostadores para producir café de alta calidad lo que ha desarrollado una nueva forma de comercializar el café y diferenciarlo de los precios internacionales de referencia (3).

CAFÉ

Es considerada una de las bebidas más consumidas en todo el mundo, para el caso de El Salvador el 88% de la población beben café, se estima que un salvadoreño puede llegar a consumir 584 tazas de este producto al año siendo este un elemento importante en su dieta (2), no requiere de hora o un punto de venta específico ya que suele encontrarse fácilmente para su compra desde vendedores ambulantes, tiendas comunales, supermercados y restaurantes, los principales factores que los salvadoreños toman en cuenta a la hora de su adquisición son el aroma, sabor y precio (2).

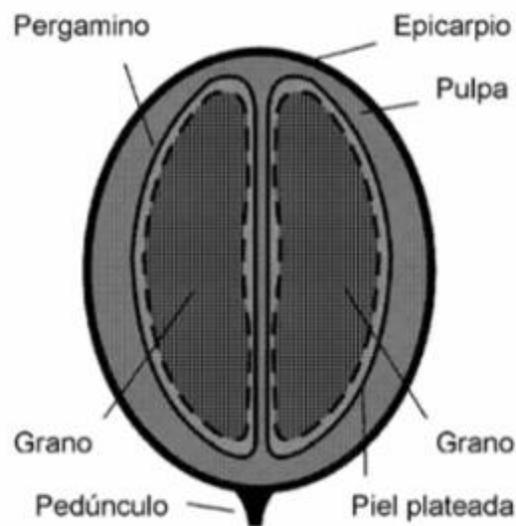
El género *coffea*, que pertenece a la familia *Rubiaceae*, abarca dos de las especies más importantes comercio internacional del café: *Coffea arabica* L. y *Coffea canephora* Pierre, ampliamente conocidas como arábica y robusta (18). el cultivo de café en el país cuenta con un parque cafetalero que supera las 200 mil manzanas (140 mil hectáreas aproximadamente) y existen 7 variedades diferentes las cuales son *Tekisic*, *Pacas*, *Pacamara*, *Catuai Rojo*, *Catisic*, *Cuscatleco*, *Hibrido F-1* y *Icatu* así también existen 6 denominaciones de origen propias de El Salvador, estas tienen como finalidad proteger la denominación de un país, de una región o de una localidad, designándole el origen de un producto cuya calidad o características se deben exclusiva o esencialmente al medio geográfico, incluyendo los factores naturales y factores humanos (3) :

- Café Apaneca-Illamatepec.
- Café Cacahuatique.
- Café Alotepec.
- Café Bálsamo Quesaltepec.
- Café Tecapa Chinameca.
- Café Chinchontepec.

El fruto tiene cinco capas de material protector que es necesario retirar para revelar los granos de café al interior, desde el exterior al interior está compuesto por:

- La piel (epicarpio o exocarpo).
- Pulpa (mesocarpo).
- El pergamino (endocarpo).
- Piel plateada.
- Dos semillas.

Figura 5: Referencia / Código de prácticas, Prevención y reducción de la contaminación del café por la Ocratoxina A / Organización Internacional del Café (22).



La piel es una capa molecular que cubre al fruto en su superficie, cuando está maduro puede ser de color rojo, amarillo o rosado dependiendo de la variedad del café, bajo esta se encuentra la pulpa que es una capa pectínea viscosa conformada por mucilago, luego se continua con el pergamino capa compuesta principalmente de polisacáridos, también se encuentra el tegumento delgado que recubre las semillas esta capa es llamada piel plateada y finalmente en el centro del fruto pueden encontrarse dos granos que luego de procesados se convertirán en café oro con los cuales podrán prepararse diferentes clases bebidas (18).

CONTAMINACIÓN EN EL BENEFICIADO DE CAFÉ

ANTES DE LA COSECHA

Es probable que los hongos productores de OTA puedan infectar los frutos del antes o después de la cosecha. Esto puede involucrar dos rutas de contaminación diferentes, la primera de ellas sería a través de las flores, sin señales visibles y la segunda por barrenadores del café (broca) (*Hypothenemus hampei*), que puede llevar esporas a los frutos y hacer agujeros en las cerezas y granos de café. Los frutos se desprenden naturalmente de la planta o a través de actividades agrícolas, los frutos que permanecen en el suelo tienen más probabilidades de estar contaminados con hongos (1).

COSECHA

El método de cosecha seleccionado por la finca conjuga las necesidades del método de elaboración, consideraciones económicas y disponibilidad de mano de obra. Se conocen cuatro sistemas básicos de cosecha: recogida en una pasada, en la que se cosechan todas las ramas con fruta de una vez; recogida en varias pasadas, en la que sólo se cosechan las ramas que tienen sobre todo bayas maduras; recogida selectiva en varias pasadas (por fruto) en la que sólo se cosechan las bayas maduras, y cosecha mecánica, en la que se utilizan distintos tipos de máquinas para recoger toda la fruta a la vez.

Además de estos sistemas básicos principales de cosecha se pueden utilizar otros procedimientos adicionales, como la "cosecha pronta" para recoger la fruta prematuramente madura, o la recolección (recogida o barrida) de las bayas caídas al suelo o que quedan en las plantas durante la cosecha. En general, las bayas que caen al suelo no se deberán recoger, en particular en condiciones húmedas, porque pueden formarse hongos y producirse contaminación por OTA. Sin embargo, un contacto breve con el suelo no es problemático, pero puede llegar a serlo si se prolonga su duración.

En climas mojados o húmedos sólo será aceptable la recolección del suelo el mismo día. Si es necesario cosechar granos que han caído al suelo, deberán almacenarse aparte hasta que se elaboren, para evitar el riesgo de que contaminen el resto de la cosecha.

Es necesario asegurar que todas las bayas caídas que se recojan se sometan rápidamente a las etapas de elaboración y secado, ya que estos productos pueden presentar una probabilidad mayor de crecimiento fúngico (19).

PROCESAMIENTO POST COSECHA

El procesamiento postcosecha tiene como objeto separar el grano de las partes restantes del café y garantizar una buena conservación de producto final.

Las oportunidades para la acumulación de OTA pueden aumentar tras la cosecha si se emplean procedimientos deficientes como el secado lento. Igualmente, si se emplean condiciones de almacenamiento inadecuadas.

Los problemas posteriores a la cosecha se relacionan con climas desfavorables para el secado, práctica de secado, control de calidad y condiciones de almacenamiento. Las cerezas contienen suficiente agua para favorecer el crecimiento de moho y la formación de OTA en el exterior durante los primeros 3-5 días de secado.

Los granos de café obtenidos al dejarlos en el suelo son de baja calidad y presentan más defectos debido a una mayor proliferación de hongos y al riesgo asociado de OTA (1).

SECADO

El procedimiento de secado se puede dividir en tres etapas. En cada una, los hongos productores de OTA tendrán diversas oportunidades para desarrollarse.

En la primera etapa hay una ligera disminución del contenido de humedad, que toma un intervalo de uno a tres días para el café en baya, y un día o menos para el café en pergamino.

La segunda etapa es la de pérdida máxima del contenido de humedad, tanto para el café en baya o en pergamino, en condiciones análogas en el mismo período de tiempo. Esto depende sobre todo de las condiciones de secado y de la tecnología del patio de secado. En esta etapa hay condiciones favorables para el desarrollo de hongos productores de OTA.

En la tercera etapa, tanto el café en baya como en pergamino están mucho más secos que en las dos etapas anteriores. Se produce una disminución ligera y más lenta del contenido restante de

humedad. En esta etapa, las condiciones no favorecen el desarrollo de hongos productores de OTA.

Los hongos productores de OTA requieren condiciones favorables durante cierto período de tiempo para crecer y producir la toxina. La cantidad de agua disponible es el factor más importante que se debe tener en cuenta (19).

Los cafetales con piso de asfalto para secar café presentan un riesgo menor que los pisos de tierra. Sin embargo, los niveles altos a moderados de contaminación por OTA fueron independientes del patio empleado. Las especies de hongos productores de OTA se vuelven frecuentes en las partes finales del secado de 22 (1) .

ALMACENAMIENTO

Las condiciones de almacenamiento para mantener bajos niveles de OTA en los trópicos se relacionan especialmente con la actividad del agua y la temperatura.

El almacenamiento es necesario utilizar café verde de buena calidad. El deterioro se minimiza cuando la temperatura se mantiene por debajo de 26 ° C y la humedad relativa de la atmósfera de almacenamiento varía entre 50 y 70%.

El número de hongos en los granos de café aumenta durante el almacenamiento, *A. Níger* y *A. Flavus* se mencionan entre las especies principales. El número de especies aisladas de los sacos de yute fue mayor que el de las bolsas de poliestireno que son menos permeables y la reabsorción de agua ocurre en menor medida que en los sacos de yute. Además, las cámaras de almacenamiento en frío a 3°C están a una temperatura mucho más baja que la temperatura citada para el crecimiento y la producción de toxinas y deberían ser seguras (1).

PROCESAMIENTO SECO Y HÚMEDO.

Dependiendo de las posibilidades y condiciones locales suele procesarse principalmente de dos maneras:

Procesamiento en seco: para este método las cerezas se secan y luego se descascarán mecánicamente. En esta técnica no se suelen separar los granos excesivamente maduros e inmaduros de los perfectamente maduros y por lo tanto todos compondrán el lote final.

Este proceso puede ser realizado al sol en patios o secadores mecánicos, lo último se recomienda en regiones de abundante lluvia o para terminar el secado en patio, durante este proceso los granos se desprenden del pergamino y luego de 3 a 4 semanas dependiendo del secado, los frutos estarán listos para descascarillados. Durante este proceso se retira la piel, pulpa y pergamino de los granos de café.

Procesamiento húmedo: es un procesamiento más sofisticado en comparación del anterior. Se basa en el despulpado de los frutos, seguido de fermentación. Para ser procesados vía humedad, los frutos deben estar en perfecto estado de maduración, por lo tanto se necesita especial selección de las cerezas, en este caso los tanques de selección y lavado en los cuales se procesara están dispuestos de manera desigual lo cual permita que pueda hacer una separación mediante gravedad, los granos bien maduros presentan una densidad ligeramente mayor que el agua y tienden a depositarse, los frutos más verdes suelen flotar por lo tanto es posible separarlos para el siguiente paso: la fase de despulpado. Esta operación pretende eliminar el epicarpio y el mesocarpio del fruto. Al final del despulpado, la semilla aún está involucrada con el mucilago que recubre el endocarpio.

El mucilago compuesto principalmente por pectinas puede eliminarse mediante la fermentación que suele ocurrir en un tiempo de 24 a 72 horas.

También existe un tercer proceso que suele llamarse semiseco, en este se combinan métodos del procesamiento seco y húmedo, este método consiste en lavar y seleccionar los frutos en tanques de flotación, seguido de despulpado, pero excluyendo el paso de fermentación, luego el café despulpado que contiene los restos de mucilago se puede secar directamente, para terminar de retirar las capas de la semilla puede emplearse métodos de separación mecánica (18).

TOSTADO DEL CAFÉ.

El tostado de los granos crudos se suele realizar en los países consumidores debido a las características de friabilidad y sabor de los granos tostados.

Se pueden emplear diferentes tipos de tueste, las tecnologías modernas presentan como principio básico el paso de un flujo forzado de gases calientes a través de un lecho en movimiento de granos de café. El movimiento puede ser creado por rotación o flujo de gases.

En esta etapa la piel plateada se desprende y se separa del producto final, mediante un flujo de aire (18).

El tostado del café implica someter al café crudo a temperaturas de 180 – 250 °C durante 5 a 15 minutos, este proceso produce cambios químicos que afecta aroma y sabor del producto pudiendo afectar la calidad de la bebida, sin embargo, la cantidad de OTA prevalece aun en el café estando presente en la preparación de la bebida y representando porcentajes considerables de contaminación casi iguales a los contados en el grano sin procesamiento (1).

ALMACENAMIENTO, TRANSPORTE Y COMERCIO LOCAL

Durante todo el proceso el café también se debe proteger de la humedad, la descomposición y la contaminación cruzada. En condiciones de almacenamiento prolongado debe mantenerse un estricto control de la humedad.

En condiciones de humedad relativa inferior al 60% el café seguirá secándose, pero si la humedad relativa es superior al 80% el café comenzará a absorber agua. En el lugar de almacenamiento la humedad puede originarse por humedad del suelo o de las paredes, la lluvia (impulsada por el viento o por filtraciones), falta de circulación del aire y por mezcla de café seco con café húmedo. Unas instalaciones de almacenamiento adecuadas, el uso de buenas prácticas de almacenamiento y una vigilancia constante pueden prevenir o reducir los problemas.

En café de clases inferiores se observó que frutos con defectos negros o amargos contenían las mayores concentraciones de OTA. Debe haber poca tolerancia a la presencia de estos defectos en los granos verdes seleccionados y los granos defectuosos que se retiren no deberán mezclarse de nuevo con el café limpio ni venderse directamente a la torrefacción, a menos que un plan representativo de muestreo y un análisis directo de la OTA hayan demostrado que son aceptables.

El café se puede transportar por distintos medios desde las zonas de producción hasta los puntos de venta. Lo principal es evitar que el café se humedezca de nuevo, debido a posibles cambios del clima entre las distintas regiones y tomando las medidas de control necesarias.

En la cadena de producción, el mercado local es la parte más delicada donde se pueden administrar mejores prácticas. Aquí, las autoridades, los mecanismos de reglamentación y no reglamentarios pueden aplicar e influir en las prácticas a fin de garantizar que los productores procedan en forma fiable para garantizar la inocuidad del producto (19).

LA BEBIDA DEL CAFÉ.

Una vez concluido el beneficiado puede prepararse la bebida en distintas formas la primera es la que utiliza métodos de cocción (café hervido, café turco, café de percolador), infusión (café filtrados y napolitano) y presión (olla de presión, moka y café expreso). La composición de la bebida final dependerá no solo del método de preparación (grado de molienda, relación polvo/agua, temperatura del agua y tiempo de extracción), sino también de las especies de café utilizados para preparar la mezcla comercial (18).

CAMBIO CLIMÁTICO EN EL SALVADOR.

El cambio climático en el mundo se debe a diversos factores, de los cuales los más predominantes son el aumento de las concentraciones atmosféricas de los gases de efecto invernadero y según pruebas del Grupo Intergubernamental de Expertos sobre Cambio Climático IPCC, indican que el incremento de la temperatura coincide con el incremento de emisiones de gases, producto del inicio de la industrialización, datos obtenidos en el mes de Julio durante el año 2006.

En sus investigaciones mencionan que el aumento de la temperatura de la superficie terrestre fue de aproximadamente 0.6°C en el siglo XXI y que los modelos de simulación pronostican un aumento entre 1.5 a 4.5°C para los próximos 100 años.

En El Salvador, se llevó a cabo un estudio de Escenarios Climáticos para los años de 1961 a 1990 donde la temperatura superficial del aire del país presentó una tendencia de incremento de sus magnitudes anuales cerca de 1.2°C; y en sus años más cálidos presentó anomalías de 1.1°C, 0.8°C y 0.7°C.

Para hacer un análisis de los datos obtenidos en el país, se trabajó con 10 estaciones de registro de temperatura.

Se hizo una tabulación respecto a las variaciones de temperatura media anual de las estaciones analizadas.

Tabla 1: Resultados de Incremento de Temperatura media anual en las estaciones analizadas por el Servicio Nacional de Estudios Territoriales (SNET), 2006, El Salvador (20).

Nombre de Estación	Código de Estación	Departamento	Altitud msnm	Periodo de registro	Número de años	Variación de Temperatura °C
Santa Ana El Palmar	A12	Santa Ana	725	1959-2002	43	+2.2
Guija	A15	Santa Ana	485	1964-2005	41	+1.4
Finca Los Andes	A18	Santa Ana	1770	1963-2005	42	+0.7
Chorrera El Guayabo	B1	Cabañas	190	1956-2005	49	+1.0
La Palma	G4	Chalatenango	1000	1964-2005	41	+1.3
San Andrés	L4	La Libertad	460	1949-2005	56	+0.4
Beneficio El Papalón	M6	San Miguel	80	1950-2002	52	+1.7
Aeropuerto Ilopango	S10	San Salvador	615	1957-2005	48	+1.1
Acajutla Puerto Nuevo	T6	Sonsonate	15	1954-2005	51	+1.3
Santiago de Maria	U6	Usulután	920	1958-2005	47	+0.6

De acuerdo con los datos analizados, se observó un aumento general en la temperatura media anual entre 0.4°C hasta los 2.2°C, lo que determina un promedio de 0.03°C por año; la altitud varía entre 15 y 1,770 msnm presentando todas, un incremento en la temperatura, por lo que se consideró un evidente cambio a partir de mediados de los años 70, el cual se ha ido incrementando debido a la variable de temperatura (21).

RESUMEN CLIMATOLÓGICO ANUAL 2021 (DATOS PRELIMINARES) / MARN.

TEMPERATURAS

En los gráficos 1 y 2 se observa el comportamiento de las temperaturas máximas y mínima con el promedio mensual a nivel nacional respectivamente.

Se observa que en términos de la temperatura máxima promedio mensual, la temperatura de los primeros 3 meses tuvo una tendencia creciente alcanzando con un máximo de 33.0°C en el mes de marzo. La mayor temperatura máxima promedio registrada en el año, posteriormente entre los meses de marzo a junio la tendencia fue decreciente, subiendo nuevamente en el mes de julio, esto debido a la disminución natural de las lluvias (la canícula), que tiene lugar en dicha época; posteriormente manteniendo un comportamiento con poca variación y sin tendencia definida. La temperatura máxima promedio registrada en el año fue de 30°C en los meses de julio y noviembre.

Gráfico 1: Comparación de la temperatura máxima nacional en 2021



Gráfico 1. Comportamiento de temperatura máxima promedio mensual durante 2021

La temperatura mínima en promedio mensual a lo largo del año se comportó ligeramente arriba de los rangos de la norma observando las mayores variaciones en el mes de enero y octubre donde el valor de la normal fue superado en 1°C, se tiene una tendencia clara de disminución entre los meses de octubre y diciembre y de aumento en los meses de febrero a mayo.

La temperatura mínima promedio mensual más baja durante 2021 se registró en el mes de diciembre con 17.7°C.

Gráfico 2: Comparación de la temperatura mínima nacional en 2021

Resumen climatológico anual 2021

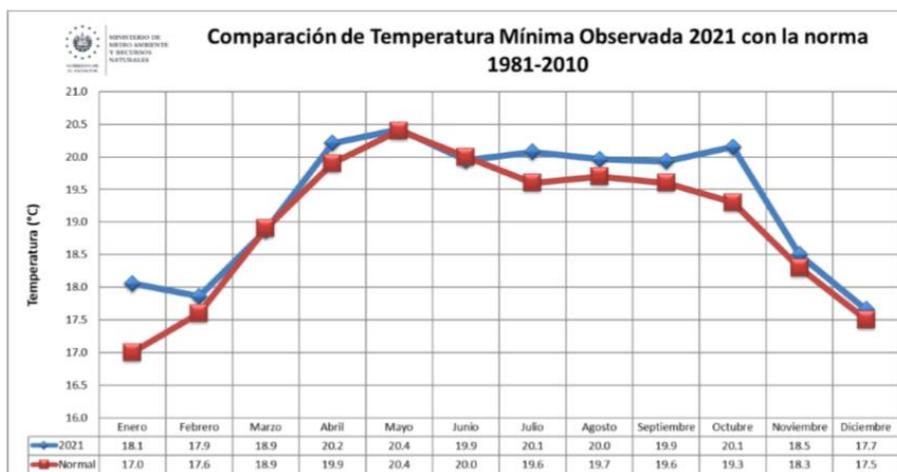


Gráfico 2. Comportamiento de temperatura mínima promedio mensual durante 2021

Tabla 2: Anomalías de temperaturas extremas 2021.

Mes	Anomalía Temperatura Máxima	Anomalía Temperatura Mínima
Enero	0.4	1.1
Febrero	0.2	0.3
Marzo	0.3	0.0
Abril	-0.4	0.3
Mayo	0.3	0.0
Junio	-0.1	-0.1
Julio	0.6	0.5
Agosto	-0.1	0.3
Septiembre	0.7	0.3
Octubre	1.1	0.8
Noviembre	0.5	0.2
Diciembre	1.1	0.2

En la tabla se observan los valores de las anomalías de la temperatura máxima y mínima registradas en 2021; se observa que con respecto a la temperatura máxima hubo anomalías positivas (temperatura observada más alta de lo normal), durante todo el año a excepción de los

meses de abril (-0.4), junio (-0.1) y agosto (-0.1) donde la anomalía tubo registro negativo (temperatura observada más baja de lo normal)

Con respecto a las anomalías de la temperatura mínima se tuvo predominancia de anomalías positivas en todo el año a excepción del mes de junio donde la variación fue de -0.1°C respecto de la norma.

Temperatura máxima

El mapa 1, muestra la temperatura máxima anual de El Salvador durante 2021, las zonas más cálidas del territorio se observan a lo largo de la costa, en valles interiores con temperaturas que superan los 34°C, mientras que, en las zonas de montaña en el nor-occidental, cordillera volcánica y en el nor-riente se observan temperaturas que en promedio anual se tienen valores entre los 16 y 22°C que son los puntos con valor de máximas más bajas.

Respecto de las anomalías de la temperatura máxima promedio mapa 2 muestra que a pesar de que las temperaturas más altas se tuvieron en el oriente del país y sobre a costa de Ahuachapán, son estos sectores los que pertenecieron a anomalías negativas con valores entre -0.1 y -0.5°C. También llama la atención que las zonas montañosas donde a pesar de tener la temperatura más baja, al acompañarlas con la norma (serie 1981-2010), las temperaturas promedio registradas arrojan un promedio anual con anomalías positivas en rangos de 0.1 y 1.4°C.

Figura 1: Temperatura máxima promedio anual 2021

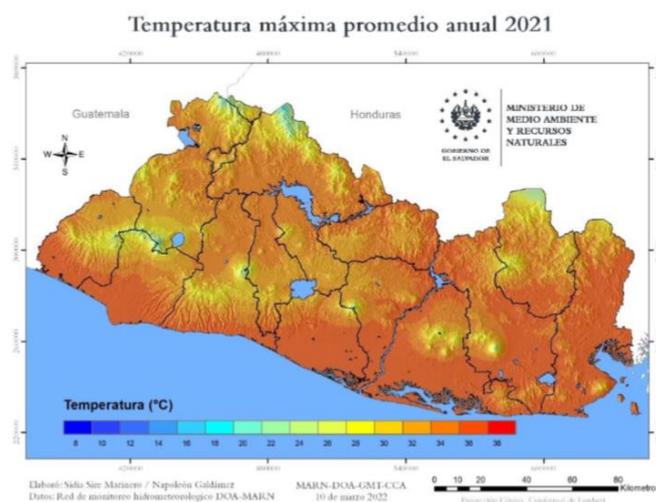
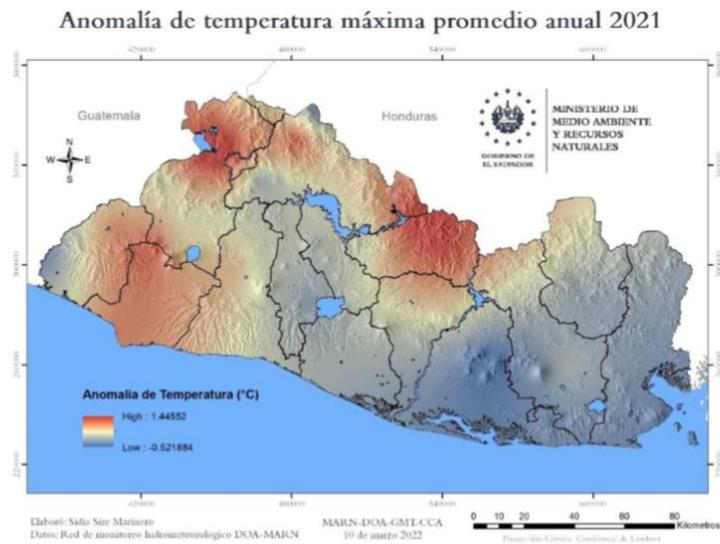


Figura 2: Anomalía de temperatura máxima promedio anual 2021



A nivel de estaciones como se observa en la tabla 2 se tiene que 6 de las 25 estaciones climatológicas tuvieron una temperatura máxima anual más baja que la normal (series 1981-2010) Es decir, presentando anomalías negativas, en el rango de -2.0 y -0.5 °C, dichas estaciones son: Las pilas, La Hachadura, La Unión, Aeropuerto de Ilopango, Santiago de María y San Francisco Gotera, el resto de las estaciones presenta anomalías positivas en la temperatura máxima anual entre 0 y 1.4 °C, la mayor registrada en la estación de Guija.

Tabla 3: Temperatura máxima promedio anual 2021 por estación.

Estación – Dia		ANUAL		
		2021	Normal	Anomalía
A-15	Guija	35.3	33.8	1.5
A - 18	Finca los Andes	21.9	21.4	0.5
A - 27	Candelaria la Frontera	31.9	36.1	0.3
A – 31	Planes de Montecristo	21.9	21.4	0.5
A – 37	Santa Ana -UNICAES	31.7	31.4	0.3
B – 01	Chorrera el Guayabo	35.2	34.1	1.1
B - 06	Sensuntepeque	32.3	31.2	1.1
B – 10	Cerrón Grande	35.4	35.1	0.3
C -09	Cojutepeque	30.4	30.1	0.3
G – 03	Nueva Concepción	34.2	34.2	0.0
G – 04	La Palma	28.3	27.4	0.9
G – 13	Las Pilas	22.2	22.4	-0.2
H – 08	Ahuachapán SM	31.4	30.7	0.7
H – 14	La Hachadura	34.5	34.8	-0.3
L – 04	San Andrés	33.1	32.5	0.5
L – 27	Chintuipan	30.9	30.4	0.5
M – 24	San Miguel UES	35.8	35.7	0.1
N – 02	La Unión / CPI	34.2	34.5	-0.3
S – 10	Aeropuerto Ilopango	30.7	30.8	-0.1
T – 06	Acajutla, Puerto Nuevo	33.5	32.7	0.8
T – 24	Los Naranjos	25.5	24.5	1.0
U – 06	Santiago de María	28.0	28.5	-0.5
V – 09	Puente Cuscatlán	35.9	35.7	0.2
Z – 02	San Francisco Gotera	34.2	34.3	-0.1
Z - 03	Perquin	28.2	27.8	0.4
	PROM	31.1	30.7	0.4

Con el registro máximo diario a lo largo del año 2021 se tienen los siguientes hallazgos:

3 récords nuevos de temperatura máxima mensual a lo largo del año, 2 de ellos tuvieron lugar en el mes de marzo y 1 en el mes de julio, a continuación el detalle de estos hallazgos

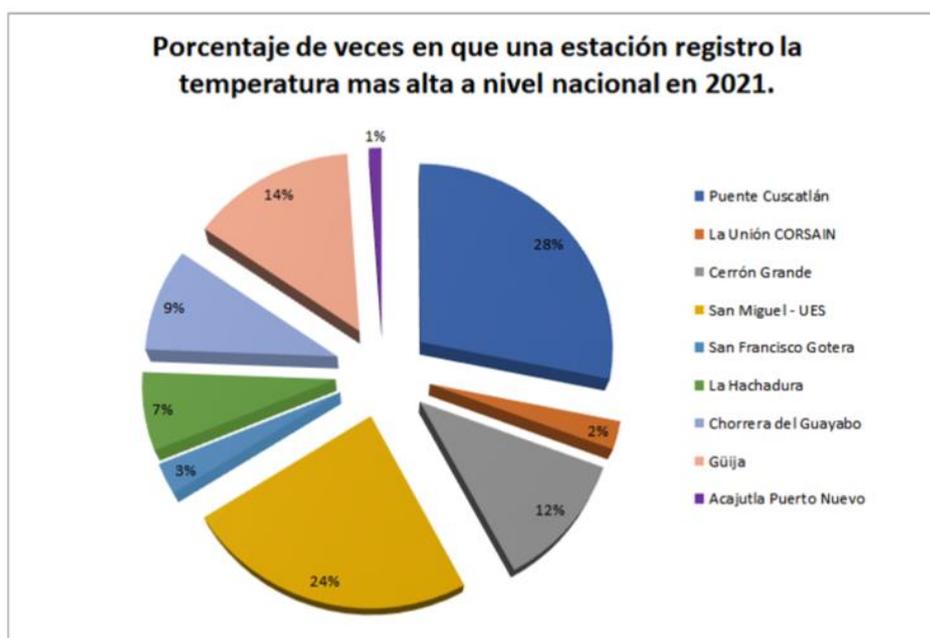
- En la estación Chorrera el Guayabo registró el 31 de marzo una máxima de 41.2°C superando el récord histórico de 41°C que data de 2004.
- En la estación de Ahuachapán, el 31 de marzo se registró una máxima de 38°C de tal manera que superó el récord de 2010 de 37.2°C.
- En el mes de julio la estación de Los Naranjos superó en 2 ocasiones el récord histórico de 28°C (1997). Siendo el nuevo récord de 28.4 registrado el 20 de julio.

La temperatura máxima absoluta registrada en el año fue de 41.7°C registrada en la estación San Miguel el 30 de marzo.

La temperatura máxima promedio diaria más alta a nivel nacional fue de 35.7°C que se registró el 31 de marzo; por lo que se puede decir que fue el día más cálido del año 2021.

La estación Puente Cuscatlán a lo largo del año fue donde se tuvo registro de temperatura máxima más alto a nivel nacional en más ocasiones (103 veces – 28.1% de los días del año), por lo que se puede considerar el punto más cálido del territorio en 2021. Estación en la cual se tiene una temperatura promedio anual de 35.9°C en 2021.

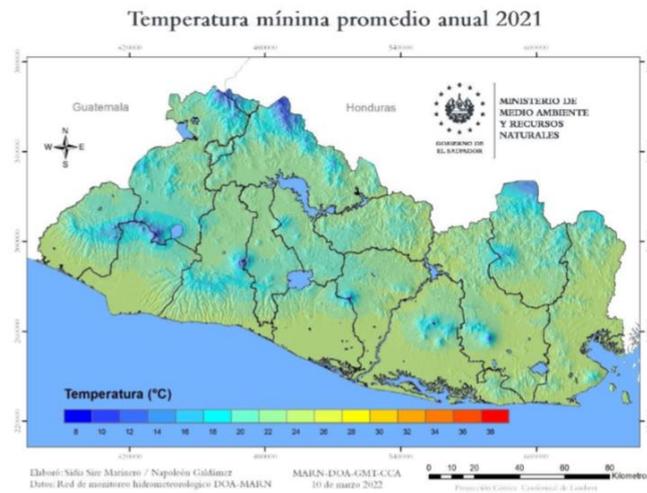
Gráfico 3: Porcentaje de registro de temperatura diaria más alta en 2021



Temperatura mínima

El mapa muestra la temperatura mínima promedio anual en El Salvador durante 2021, donde se observa que el rango de temperaturas mínimas es entre 8 y 10°C, son los valores más bajos y se concentran en zonas de mayor altitud del país, en las cordilleras Apaneca-Illamatepec y la cordillera Alotepeque- Metapán. En el resto del territorio las temperaturas rondan entre 20 y 22°C.

Figura 3: Temperatura mínima promedio anual 2021



Las anomalías de temperatura mínima promedio muestran un predominio de anomalías positivas en la zona costera y el occidente del territorio con máximos cercanos a los -1.5 °C, zonas puntuales en el centro – occidente del territorio y zona norte con máximos en anomalía negativa entre -0.1 y -1.7°C

Figura 4: Anomalía de temperatura mínima promedio anual 2021

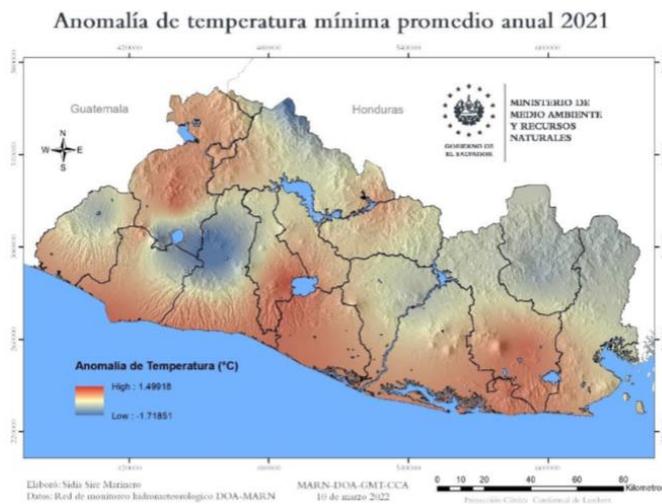
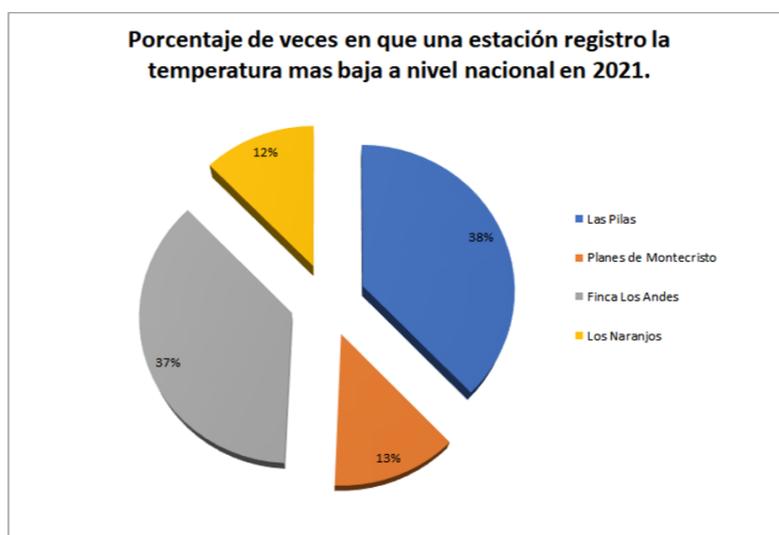


Tabla 4: Temperatura mínima promedio anual 2021 por estación.

Estación – Día		ANUAL		
		2021	Normal	Anomalía
A-15	Guija	20.9	20.1	0.8
A - 18	Finca los Andes	12.8	13.4	-0.6
A - 27	Candelaria la Frontera	20.2	19.5	0.7
A – 31	Planes de Montecristo	13.0	12.3	0.7
A – 37	Santa Ana -UNICAES	19.6	18.4	1.2
B – 01	Chorrera el Guayabo	22.4	21.5	0.9
B - 06	Sensuntepeque	18.6	18.3	0.3
B – 10	Cerrón Grande	20.9	20.7	0.2
C -09	Cojutepeque	19.4	16.7	0.5
G – 03	Nueva Concepción	21.3	13.7	0.6
G – 04	La Palma	16.9	18.9	0.2
G – 13	Las Pilas	12.5	23.5	-1.3
H – 08	Ahuachapán SM	18.5	18.9	-0.4
H – 14	La Hachadura	24.5	23.5	0.6
L – 04	San Andrés	17.0	18.7	-1.7
L – 27	Chintuipan	21.2	20.4	0.8
M – 24	San Miguel UES	22.4	21.2	1.2
N – 02	La Unión / CPI	23.4	23.2	0.2
S – 10	Aeropuerto Ilopango	20.3	18.9	1.4
T – 06	Acajutla, Puerto Nuevo	24.6	23.4	1.2
T – 24	Los Naranjos	13.9	13.1	0.8
U – 06	Santiago de María	19.0	18.5	0.4
V – 09	Puente Cuscatlán	21.1	21.3	-0.2
Z – 02	San Francisco Gotera	21.4	21.8	-0.4
Z - 03	Perquin	17.5	17.5	0.0
	PROM	19.3	19.0	0.3

A nivel de estaciones como se observa en la tabla se tiene que 6 de las 25 estaciones climatológicas tuvieron una temperatura mínima anual más baja de lo normal (serie 1981-2010), es decir con anomalía negativa anual en temperatura mínima, en el rango de 0.2 a 1.7 las cuales son: Finca Los Andes, Las Pilas, Ahuachapán, San Andrés, Puente Cuscatlán y San Francisco Gotera, el resto de las estaciones presentan anomalías positivas en la temperatura mínima anual entre 0 y 1.4°C.

Gráfico 4: Registro de temperatura mínima diaria más baja de 2021



Con el registro de temperatura mínima a lo largo del año 2021 se tienen los siguientes hallazgos:

- No se registraron récords de temperatura mínima.
- La temperatura mínima absoluta registrada en el año fue de 4°C en la estación Los Naranjos el 15 de febrero
- La temperatura mínima promedio diaria más baja a nivel nacional fue de 14.2°C, que se registró el 4 de febrero, por lo que se puede decir que fue la noche más fresca del año 2021.
- La estación Las Pilas a lo largo del año fue donde se tubo registro de temperatura mínima más bajo a nivel nacional en más ocasiones (138 veces – 37.7% de los días del año); por lo que se puede considerar uno de los puntos más frescos del territorio en 2021, estación en la cual se tiene una temperatura promedio anual de 12.5°C en 2021. (22)

MITIGACIÓN DE LOS EFECTOS DEL CAMBIO CLIMÁTICO

El territorio salvadoreño se encuentra ocupado por un 7% de cultivo de café según datos de 2020. En El Salvador se busca mantener el cultivo de una forma tradicional para no afectar al medio ambiente evitando la deforestación. Los cafetales sirven como área de mitigación para los bosques primarios, porque si desaparecieran los cafetales, los bosques corren peligro de desaparecer uno de los servicios más importantes que ofrecen es proteger el suelo de la erosión y así estar preservando las vertientes principales de las cuencas de agua.

Según los informes de la Fundación Salvadoreña para Investigaciones del Café (PROCAFE), los mantos acuíferos son enriquecidos con 715 m³ de agua, conservándose el 70%, esto significa que cada hora, el bosque cafetalero aporta 500.5 m³ de agua.

Por lo tanto, debido a la importancia en la escasez de agua que se ha venido pronunciando en las últimas décadas, la conservación de estos bosques es de vital importancia para la calidad de vida de los salvadoreños.

Fuente de energía e ingresos.

La cosecha de café tiene otros beneficios económicos entre los productores y las personas empleadas en el área, tales como recurso energético para la combustión por medio de las cascarillas del café pergamino, la poda de los árboles y diversificación de otros cultivos, frutas, vegetales, y árboles maderables, lo que ayuda proteger a productores contra fluctuaciones en el mercado.

Captura de carbono.

En El Salvador, los cafetales mantienen una reserva de 32.2 millones de toneladas de carbono. Lo que hace una fijación de 13,178 toneladas de bióxido de carbono por día (3).

MOHOS PRODUCTORES DE “OCRATOXINA A”

ASPERGILLUS

Aspergillus spp. es un hongo filamentoso saprófito, perteneciente al filo *Ascomycota* y puede tener reproducción sexual y asexual.

Existen aproximadamente 180 especies de *Aspergillus*, pero solamente unas 40 causan infección en humanos y animales. El *Aspergillus fumigatus* es la causa más frecuente de infección por *Aspergillus* en humanos.

Las especies se diferencian en tamaño, tiempo de crecimiento, textura y color de la colonia a nivel macro; a nivel microscópico se diferencian por sus estructuras y tipo de reproducción.

Aspergillus es de los principales mohos productores de micotoxinas, estas son metabolitos secundarios producidos y liberados por el moho durante el proceso de degradación de la materia orgánica, como un mecanismo de defensa ante a otros microorganismos.

El *Aspergillus* se considera un microorganismo ubicuo, el cual puede encontrarse en cualquier ecosistema presente, como materia orgánica en descomposición, alimentos como los granos, cereales y frutos; pero sus hospederos son humanos, bovinos, equinos, aves y cetáceos.

La manera en que el aspergillus se mueve en el ambiente es por medio de sus conidios (esporas) que se dispersan con el aire en forma de bioaerosoles, pudiendo resistir temperaturas altas de 70°C ya que son termotolerantes, pudiendo vivir entre los 12 a 57°C.

Se transmite principalmente por medio de los conidios que se encuentran presentes en el ambiente de trabajo entrando al organismo por vía respiratoria. También ocurre por medio de heridas o mucosas, donde algunos producen efectos tóxicos por ingerir alimentos con la presencia de estos mohos.

Efectos sobre la salud

Causa infecciones locales y superficiales como las micosis (otomicosis, onicomycosis, queratitis) y el aspergiloma o bola fúngica que se desarrolla en una cavidad como en una lesión pulmonar, producida por una enfermedad pulmonar previa o en un seno nasal y aspergilosis pulmonar crónica.

En individuos con el sistema inmune comprometido, pueden causar infecciones invasivas, como la aspergilosis invasiva diseminada, afectando al pulmón y pudiéndose expandir a otros órganos.

Efectos tóxicos

Los efectos tóxicos se relacionan con intoxicaciones alimentarias, como consecuencia de ingerir alimentos contaminados con micotoxinas y metabolitos extracelulares como las aflatoxinas producidas por *A. flavus* y *A. parasiticus* se han relacionado con efectos hepatotóxicos e inmunotóxicos y la ocratoxina producida por *A. ochraceus* y *A. niger* están relacionadas con efectos nefrotóxicos.

Los efectos cancerígenos según International Agency for Research On Cancer – IARC mencionan que *A. flavus* produce las aflatoxinas B1, B2, G1 y G2 que están clasificadas en el grupo 1 de cancerígenos del IARC (carcinógeno para el ser humano), pudiendo causar cáncer hepático en humanos. También la aflatoxina M1 que está clasificada en el grupo 2B de cancerígenos del IARC (posiblemente carcinógeno para el ser humano).

Los efectos cancerígenos son principalmente por vía digestiva debido a la ingesta de micotoxinas, ya que no están suficientemente demostrados por vía respiratoria o dérmica por eso el principal riesgo es la inhalación de bioaerosoles.

Las formas más peligrosas de contagio son de origen biológico como: esputo, tejidos procedentes de biopsias, aspirados traqueales o procedentes de broncoscopías y sangre. También muestras procedentes de suelo o productos contaminados como: cereales, frutos secos, heno, cultivos del hongo, etc.

Tabla 5: Efectos a la salud del *Aspergillus spp.*

AGENTE BIOLÓGICO	SUSTANCIA CARCINOGENA	CLASIFICACION IARC	CARCINOGENICIDAD
<i>A. Flavus.</i>	Aflatoxinas B1, B2, G1 Y G2.	Grupo 1	Cancerígeno para el ser humano.
	Aflatoxinas M1	Grupo 2B	Posible cancerígeno para el ser humano.

Tabla 6: Efectos a la salud del *Aspergillus spp.*

AGENTE BIOLÓGICO	SUSTANCIA TOXICA	EFEECTO TOXICO
<i>A. Clavatus</i>	Patulina	Trastornos gastrointestinales.
<i>A. Flavus</i> , <i>A. Paraciticus</i>	Aflatoxina	Hepatotóxico, Inmunotóxico.
<i>A. Ochraceus</i> , <i>A. Niger</i>	Ocratoxina A	Nefrotóxico
<i>A. Terreus.</i>	Citrinina	Nefrotóxico
<i>A. Vesicolor.</i>	Esterigmatocistina	Hepatotóxico

PENICILLIUM.

Penicillium es un hongo filamentoso hialino, saprófito perteneciente al filo *Ascomycota*.

Macroscópicamente las colonias son normalmente de crecimiento rápido; al principio de color blanco y con el tiempo adquieren color azul, azul verdoso, verde, gris oliva o tonos rosados, con reverso amarillo cremoso. La textura puede ser plana, filamentosa, aterciopelada o algodonosa dependiendo de la especie; además puede presentar gotas de exudado.

Microscópicamente presenta hifas hialinas septadas. Los conidióforos tienen ramas secundarias, denominadas métulas. Estas son de forma cilíndrica, con paredes lisas y portan de 3 a 6 fiálides en forma de matraz; de las cuales surgen largas cadenas sin ramificar de esporas o conidios formando el penacho o pincel característico del género.

Reservorio

Suelo, vegetales (madera, paja), compost, alimentos (fruta, zumos, cereales, frutos secos, hortalizas, carne, leche, quesos, embutidos) y fómites (papel, pintura, paneles de yeso, gomas, fibra de vidrio e incluso gasoil).

Supervivencia ambiental

Ubiquista, se encuentra en el ambiente colonizando distintos sustratos.

Su temperatura óptima de crecimiento es de 20-30°C, aunque dependiendo de la especie puede crecer en el intervalo de 5-37 °C, produciendo la alteración de alimentos en refrigeración; también

tolera grandes variaciones de pH entre 3.5-10, aunque crece mejor y más rápido a pH cercano a 4.

Sus esporas se encuentran en forma de bioaerosol en el aire, con una concentración ambiental más o menos estable a lo largo del año, aunque se dan concentraciones pico en invierno y primavera.

Es un contaminante habitual en los edificios formando parte del polvo; principalmente en los edificios húmedos y mohosos donde deteriora diferentes materiales de construcción o decoración (aglomerados de madera, papel de decoración, gomas o sellos aislantes de puertas y ventanas, material de aislamiento del sistema de ventilación y climatización, etc.). Además, es uno de los principales productores de micotoxinas y de compuestos orgánicos volátiles de origen microbiano (COVM), como alcoholes, cetonas, hidrocarburos, etc.

Mecanismo de propagación y transmisión

La transmisión se produce por la inhalación de bioaerosoles que contienen las esporas y por la contaminación de heridas o la inoculación accidental, mediante el contacto y cortes o pinchazos con herramientas o elementos contaminados (ramas, pajas).

La inhalación de las esporas y de los COVM presentes en los ambientes laborales y en los edificios produce, principalmente, procesos de irritación, sensibilización y alergia.

La ingesta de alimentos contaminados puede provocar intoxicaciones.

Efectos a la salud

Infección

Patógeno oportunista que causa infecciones respiratorias e infecciones locales o superficiales como neumonías, queratitis, endoftalmitis, otomicosis, endocarditis, esofagitis e infecciones cutáneas y de heridas quirúrgicas.

Efectos tóxicos

Los efectos tóxicos están relacionados, principalmente, con intoxicaciones alimentarias, como consecuencia de la ingesta de alimentos contaminados con micotoxinas. La relación entre la aparición de estos efectos y la exposición por vía respiratoria o dérmica no está bien estudiada en la actualidad; aunque la exposición por vía respiratoria a elevadas cantidades de polvo orgánico,

en el que puede haber diferentes hongos, entre ellos *Penicillium*, se ha relacionado con el síndrome tóxico por polvo orgánico.

Tabla 7: Efecto tóxico de micotoxinas.

AGENTE BIOLÓGICO	SUSTANCIA TÓXICA	EFFECTO TÓXICO
<i>P. griseofulvum, P. expansum.</i>	Patulina	Neurotóxico
<i>P. citrinum, P. expansum, P. verrucosum</i>	Citrinina	Nefrotóxico
<i>P. verrucosum</i>	Ocratoxina A	Nefrotóxico
<i>P. citreonigum, P. citreoviride</i>	Citreoviridina	Enfermedad del arroz amarillo (beri, beri cardiaco agudo)
<i>P. frequentans</i>	Citromicetina	Hepatotóxico
<i>P. crustosum, P. griseofulvum, P. roqueforti, P. puberrelum, P. chrysogemum.</i>	Toxinas tremorgénicas	Neurotóxico

Tabla 8: Efectos cancerígenos (International Agency for Research On Cancer - IARC)

AGENTE BIOLÓGICO	SUSTANCIA CARCINOGENA	CLASIFICACION IARC	CARCINOGENICIDAD
<i>P. griseofulvum, P. expansum.</i>	Patulina	Grupo 3	No puede ser clasificada respecto a su carcinogenicidad para el ser humano.
<i>P. citrinum, P. expansum, P. verrucosum.</i>	Citrinina	Grupo 3	No puede ser clasificada respecto a su carcinogenicidad para el ser humano.
<i>P. verrucosum.</i>	Ocratoxina A	Grupo 2B	Posiblemente carcinogénico para el ser humano.
<i>P. griseofulvum.</i>	Griseofulvina	Grupo 2B	Posiblemente carcinogénico para el ser humano.

Los efectos cancerígenos ocurren principalmente por vía digestiva, ya que no están suficientemente demostrados por vía respiratoria o dérmica (15).

OCRATOXINA A

La ocratoxina A (OTA) es un metabolito fúngico tóxico clasificado por el Centro Internacional de Investigaciones sobre el Cáncer (CIIC) como posible carcinógeno humano (grupo 2B). El JECFA estableció una ISTP de 100 ug/kg de peso corporal para OTA.

Unas cuantas especies de hongos de los géneros *Aspergillus* y *Penicillium* producen OTA. En el café sólo la producen algunas especies de *Aspergillus*, específicamente *A. ochraceus* y especies afines (*A. westerdijkiae* y *A. steynii*), *A. niger* y especies afines, y *A. carbonarius*.

La OTA se produce cuando están presentes las condiciones de actividad del agua, nutrición y temperatura necesarias para el crecimiento y la biosíntesis.

EFFECTOS TÓXICOS DE LA OCRATOXINA A

Los mohos producen metabolitos secundarios a partir de diversos parámetros. El desarrollo, está influenciado por elementos nutricionales y ambientales principalmente.

Una sola especie puede generar una gran variedad de metabolitos secundarios bajo condiciones de estrés. De los principales factores influyentes puede considerarse la temperatura, que influye grandemente en el crecimiento y actividad de distintas cepas; como en el *Fusarium* que abunda más en climas fríos; el *Aspergillus* en los trópicos y el *Penicillium* en zonas templadas.

El riesgo de las micotoxinas asociadas a los alimentos es que afectan a los consumidores generando deterioro a largo plazo de su salud. Las entidades u organizaciones encargadas de la seguridad alimentaria, preparan planes para minimizar los daños o riesgos presentes en alimentos más susceptibles para las toxinas, como cereales y frutos secos.

La baja *aw* favorece la conservación de la toxina cuando las condiciones del cultivo no son las idóneas; pues, los mohos sintetizan las toxinas que al ser ingeridas por el consumidor, producen micotoxicosis.

La cantidad de toxina ingerida, así como las condiciones de salud de cada individuo, determinan los problemas que pueda presentar al consumir estos alimentos contaminados, que tienen propiedades nefrotóxicas, cancerígenas, entre otros (23).

NORMATIVAS Y REGLAMENTOS QUE REGULAN EL CAFÉ EN EL SALVADOR

Actualmente en El Salvador los normativos y reglamentos no definen límites máximos permisibles de Ocratoxina A, tanto para café tostado, café molido y café soluble, tal como se detalla en la tabla n° 9.

Tabla 9: Normativas y Reglamentos Nacionales e Internacionales que regulan el café en El Salvador.

Normativos que regulan el café y su contenido de OTA.		
Nombre	Identificación	Información Relacionada.
Estándares de calidad para el café de comercialización nacional e internacional.	NSO 67.31.01:03.	-----
Estándares de calidad café tostado en grano y café tostado y molido	NSO 67.31.02:04	Mohos y levaduras.
Estándares de calidad café soluble instantáneo.	NSO 67.31.03:04	Mohos y levaduras. OTA / AOAC
Café. Café Verde (café oro). Requisitos de calidad.	RTS 67.08.01:18	Hongos
Norma general para los contaminantes y las toxinas presentes en los alimentos y piensos.	Codex Alimentarius FAO / OMS	Refiere a código de prácticas.
Código de prácticas / Prevención y reducción de la contaminación del café por la Ocratoxina A.	Código de prácticas. Organización Internacional de café.	Información OTA.

NOTA: De acuerdo a la revisión realizada a la normativa salvadoreña sobre el café, no se encontraron artículos relacionados que establezcan parámetros o límites de trazas de OTA en granos de café oro (Green Coffee).

Existen algunos beneficios de café en El Salvador que aplican normativos internacionales como los señalados en la tabla 9, que sugieren a nivel mundial los límites máximos permisibles de OTA, en granos de café grano oro (Green Coffee).

Normativos y Reglamentos Internacionales aplicados al café en El Salvador.

Tabla 10: REGLAMENTO (CE) No 1881/2006 DE LA COMISIÓN de 19 de diciembre de 2006 por el que se fija el contenido máximo de determinados contaminantes en los productos alimenticios.

Ocratoxina A	
Producto Alimenticio	Contenido máximo (µg/kg)
Café tostado en grano y café tostado molido, excluido el café soluble	5.0
Café soluble (café instantáneo)	10.0
Café Verde	-----

MÉTODOS MICROBIOLÓGICOS PARA EL ESTUDIO DE MOHOS

Para realizar de forma adecuada la purificación e identificación de muestras de mohos provenientes de café grano oro (Green Coffee) se han utilizado a lo largo de la pasantía de investigación diversos métodos y técnicas con la finalidad del resguardo, desarrollo, identificación y purificación de las muestras estudiadas.

Dentro de las principales técnicas utilizadas se resaltan la elaboración de medios de cultivo los cuales brindan un desarrollo óptimo de las cepas analizadas, gracias al contenido los nutrientes necesarios para que las muestras puedan desarrollarse sin problema y poder realizar descripciones de tipo macro y microscópicas. Así mismo para determinar si existe producción de toxinas el ACC es de gran utilidad ya que para permite observar la presencia de fluorescencia en distintos colores dependiendo del tipo de toxinas evaluadas al exponerse en una cámara de luz ultravioleta.

El desarrollo de las técnicas durante la pasantía de investigación fue de gran utilidad para lograr corroborar datos obtenidos de cada muestra, pudiendo acreditar la veracidad de los análisis obtenidos, con el fin de llegar a un resultado que permita identificar especies de mohos productores de toxinas basado en su identificación morfológica mediante el uso de claves dicotómicas, con el fin de explorar si las cepas resultantes están relacionadas a los efectos del cambio climático.

MARCHA ANALITICA PARA LA ELABORACION DE CRIOVIALES.

Preparación de Materiales:

El primer paso para la elaboración de crioviales es preparar los materiales que se utilizarán en el proceso, para comenzar se preparará el papel filtro cortando rectángulos de tamaño adecuado para ser depositados dentro de los tubos eppendorf.

Esterilización:

Para lograr una correcta esterilización los materiales deben ser depositados dentro de recipientes adecuados, cubrir con papel de aluminio y colocar cinta indicadora de esterilidad.

El proceso deberá realizarse mediante esterilización húmeda.

Inoculación:

Una vez se tenga la seguridad de que los materiales se esterilizaron adecuadamente, usando las pinzas colocar sobre la placa con medio una tira de papel posteriormente tomar la muestra y realizar el procedimiento de inoculación.

- Para tener certeza que el procedimiento se realizó correctamente colocar un control ambiental a la hora de inocular.

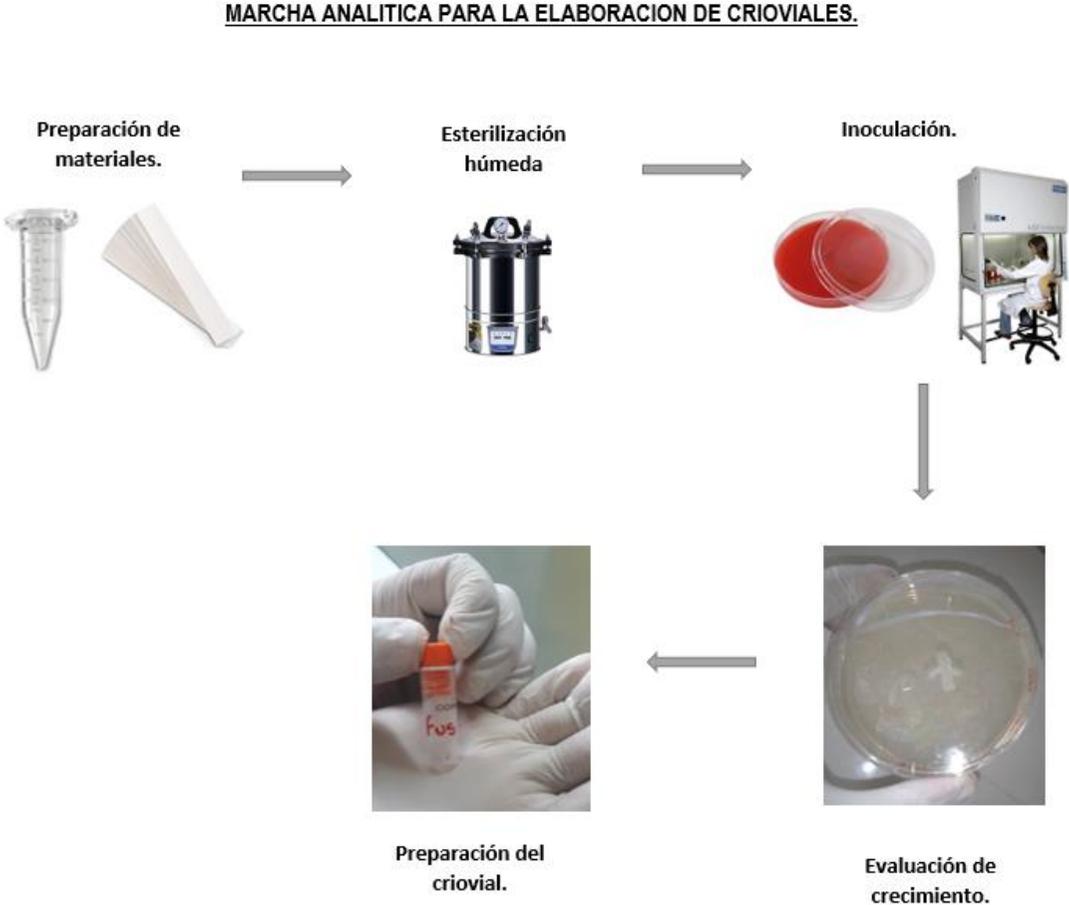
Evaluación de Crecimiento:

Luego de esperar un aproximado de 5 días evaluar el desarrollo de la colonia inoculada, de ser óptimo se procederá a la preparación del criovial utilizando los tubos eppendorf.

Preparación de Crioviales:

Por último, utilizando cámara de flujo laminar podrá realizarse el montaje del criovial, utilizando pinza, retirar la tira de papel filtro cubierta con la muestra y colocarla dentro del tubo eppendorf, colocar solución estéril, rotular crioviales y resguardarlo en cepario.

Diagrama 1: Marcha analítica para la elaboración de Crioviales



TÉCNICAS DE ELABORACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO

Procedimiento:

- Descripción general para la elaboración de medios de cultivo.

Cálculo de materiales:

Según las especificaciones de cada medio de cultivo, se realiza el cálculo matemático (Factoreo) para la cantidad de placas requeridas, para determinar la cantidad de producto a utilizar es necesario conocer el número de placas a realizar y la capacidad de estas.

- **Para ACC:** El medio crema de coco no suele encontrarse disponible en presentación comercial, para la realización de este medio deberá de trabajarse el cálculo para materiales por separado crema de coco, Agar-Agar y agua destilada, se recomienda usar crema de coco en una concentración del 50% (5) (6).

Pesaje:

Después de realizar el cálculo de materiales se procederá al pesaje de estos, para tal fin se utilizará balanza analítica y recipiente adecuado de capacidad óptima para realizar la medición completa en un solo pesaje.

- **Para ACC:** Para fines de pesaje se procederá a realizarse por separado tanto para Crema de Coco y Agar-Agar.

Incorporación de agua destilada:

Utilizando un frasco para dilución se procederá a depositar en su interior la cantidad de medio de cultivo pesado para posteriormente incorporarle la cantidad de agua destilada requerida, antes de incorporar el agua deberá tenerse el cuidado de verificar que esta posea las características de calidad necesarias para este fin.

- **Para ACC:** La Crema de Coco al poseer estado viscoso puede crear problemas para calcular la cantidad de agua destilada requerida, por esto después de agregar Crema de Coco y Agar-Agar se deberá de complementar con agua destilada hasta conseguir la cantidad suficiente para la incorporación completa de soluto en el solvente, posteriormente homogenizar y calentar.

Calentamiento:

Utilizando un hotplate se procede a calentar el medio hasta llegar a ebullición, teniendo especial cuidado que el medio no reaccione de forma violenta y se derrame.

Esterilización:

Para este fin se realizará mediante el uso de autoclave para esterilización húmeda, antes de introducir el recipiente que contiene el medio de cultivo habrá que colocarse un indicador para esterilidad.

Climatización y calentamiento, segundo calentamiento:

Luego de comprobar que la esterilización del medio fue exitosa, se procederá a esperar que el medio baje su temperatura

Si después de realizada la esterilización las circunstancias no permiten realizar el plaqueo, se podrá dejar el medio de cultivo hasta el día siguiente dentro de autoclave sin manipular este.

Cultivo (Plaqueo):

Al tener el medio de cultivo preparado y estando a temperatura adecuada, puede procederse a realizar el cultivo, para la realización de esta técnica se deberá de realizar dentro de una cámara de flujo laminar previamente preparada para este fin, al comenzar el cultivo se deberá colocar control ambiental, el cultivo puede realizarse para un cálculo exacto mediante pipetas, así también utilizar placas Petri en estado estéril.

Refrigeración:

Al terminar el plaqueo se hace la identificación de las placas procesadas, para este fin puede guardarse las placas procesadas en bolsas plásticas agrupadas en paquetes de 10 placas por bolsa, luego de empacadas se debe sellar con cinta adhesiva y sobre esta colocar la fecha de procesamiento y el nombre del medio de cultivo perteneciente, por último, se resguardan los paquetes de placas en una cámara refrigerante (refrigerador).

Diagrama 2: Marcha analítica para la elaboración de medios de cultivo.

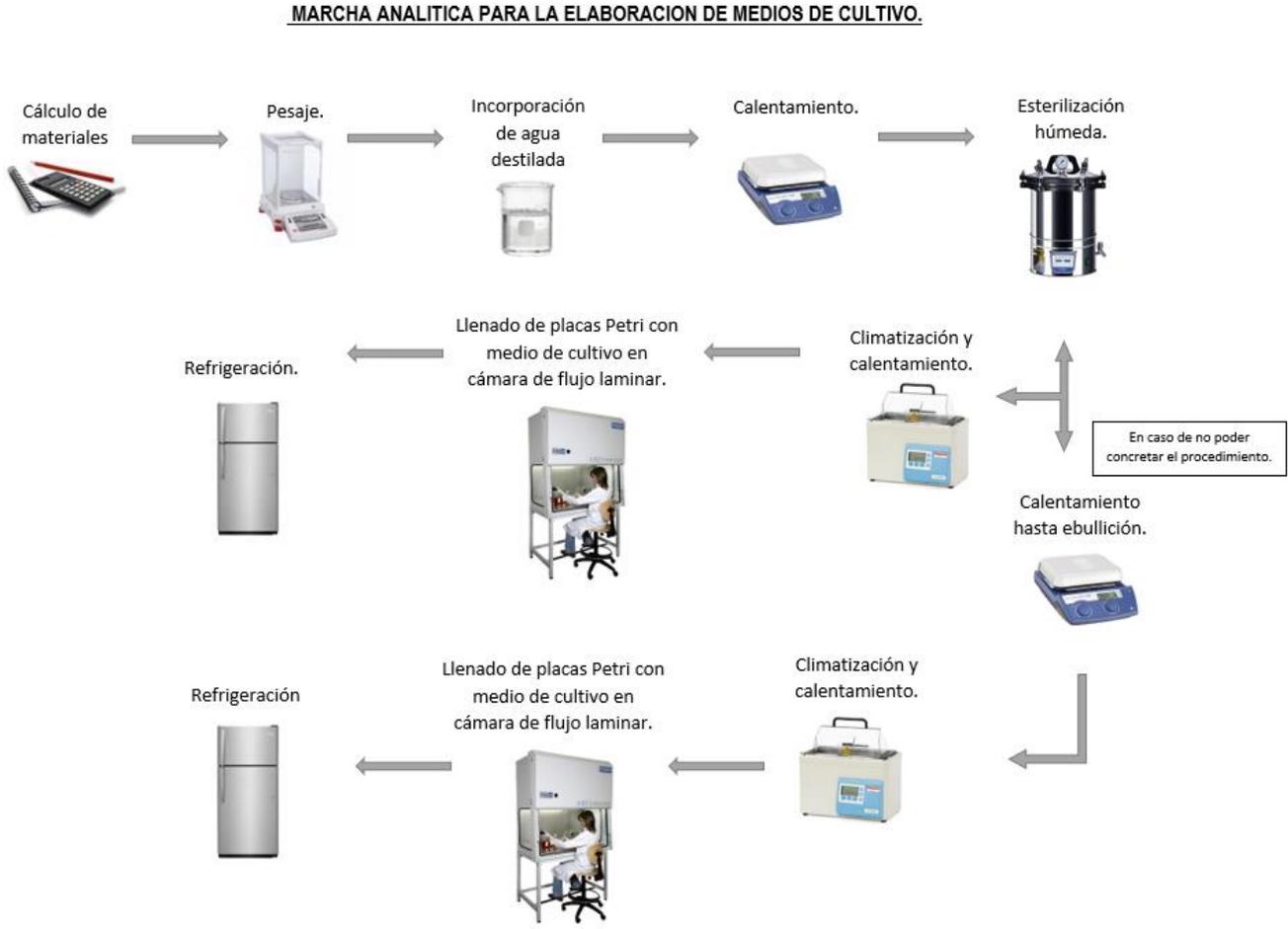
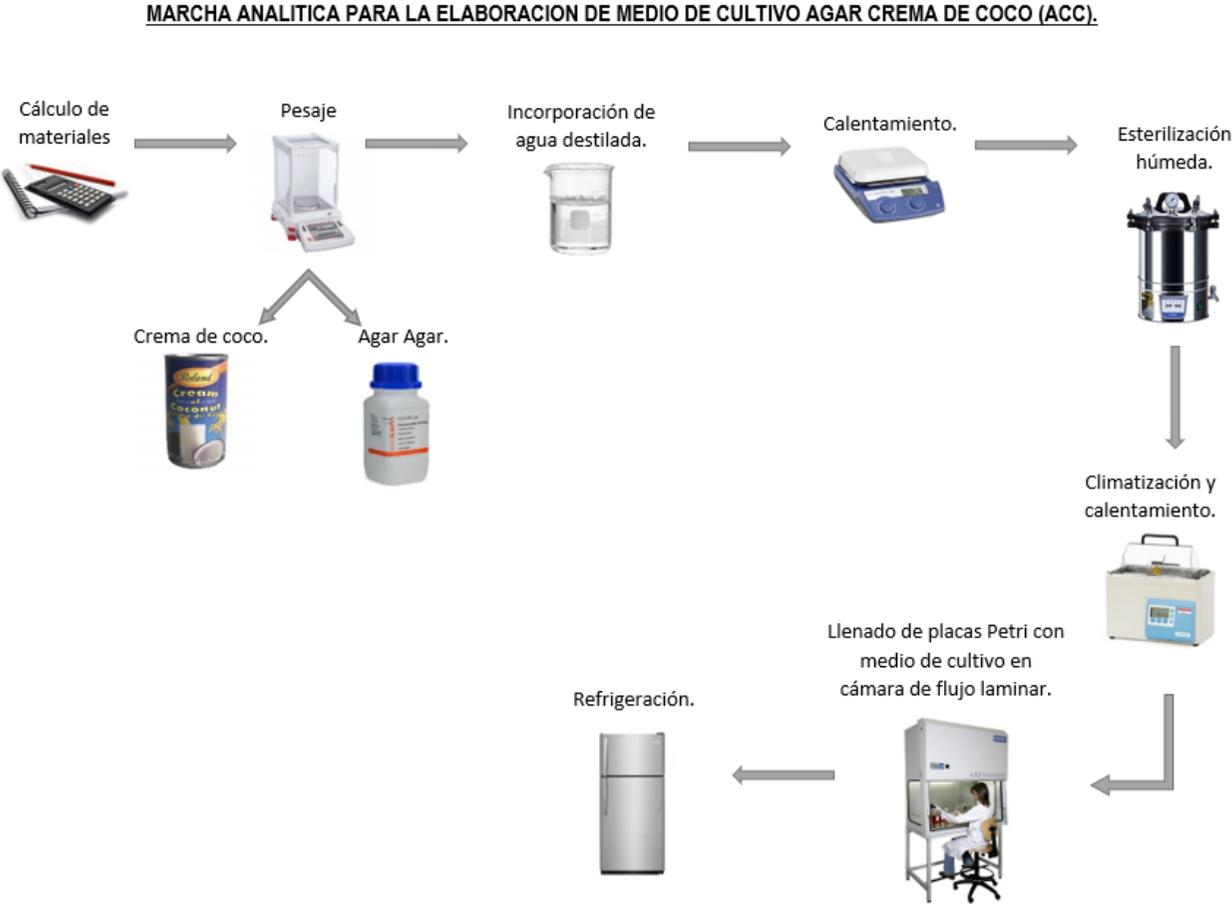


Diagrama 2.1: Marcha analítica para la elaboración de medios de cultivo (ACC).



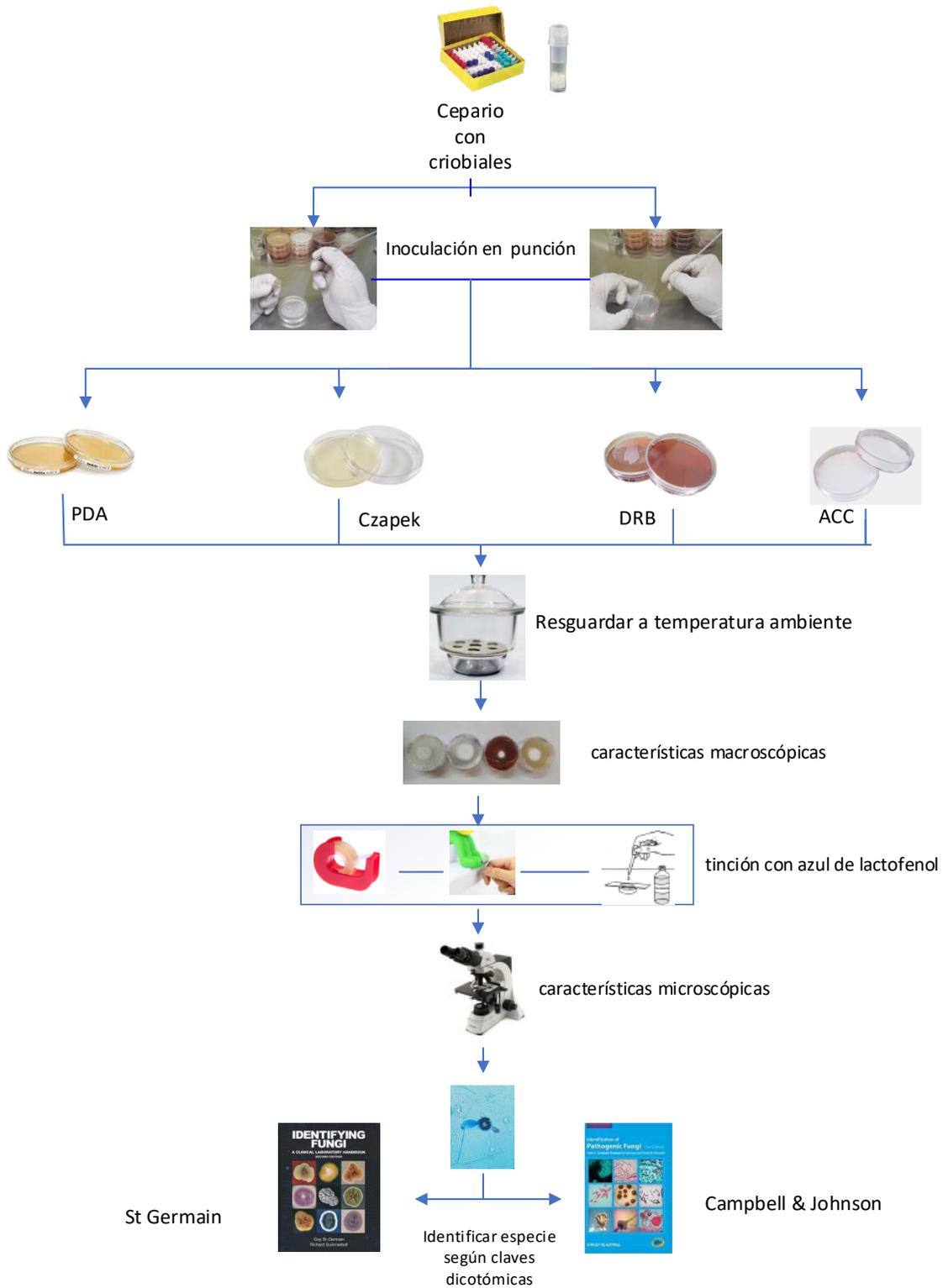
MARCHA ANALITICA PARA LA PURIFICACION DE MUESTRAS DE CAFÉ GRANO ORO (GREEN COFFEE).

Procedimiento:

- Utilizar guantes, mascarilla, redecilla y gabacha para este procedimiento.
- Limpieza, higienización y esterilización en cámara de flujo laminar.
- Rotular placas para identificación de cepa a inocular.
- Colocar controles ambientales.
- Una vez ya encendido el incinerador, proceder a esterilizar el asa en punta.
- Tomar una placa con medio y el criovial.
- Desenroscar el criovial e introducir el asa en punta y tocarlo una sola vez. Abrir la placa con el medio y hacer una sola punción.
- Al finalizar las inoculaciones, ya pueden ser resguardadas en un desecador a temperatura ambiente y esperar su crecimiento de 3 a 5 días.
- Describir el crecimiento observado y realizar la identificación mediante claves dicotómicas.

Diagrama 3: Marcha analítica para la purificación de muestras de café grano oro (Green Coffee)

MARCHA ANALÍTICA PARA LA PURIFICACIÓN DE MUESTRAS DE CAFÉ GRANO ORO (GREEN COFFEE)

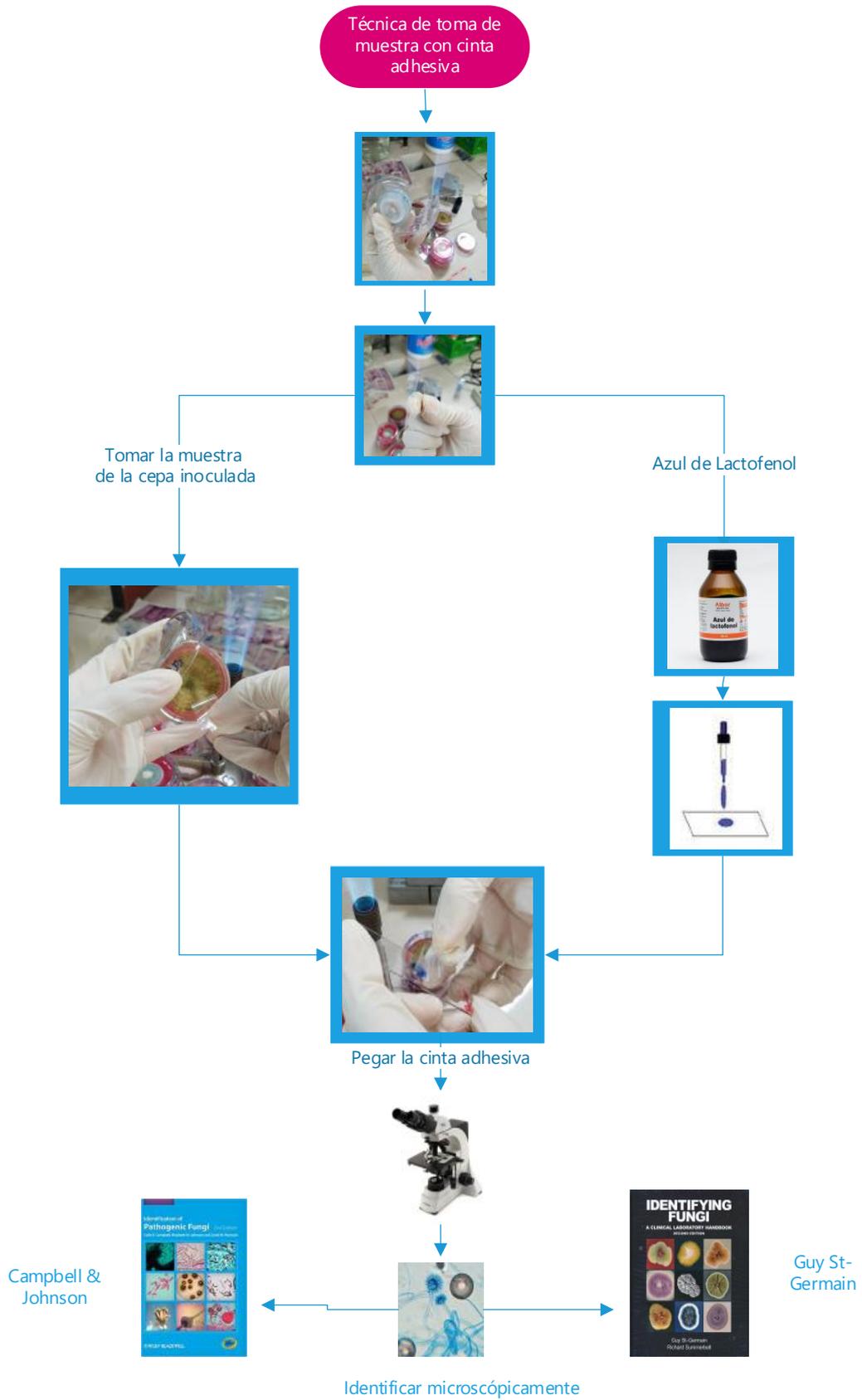


TÉCNICA DE TOMA DE MUESTRA MEDIANTE EL USO DE CINTA ADHESIVA Y TINCIÓN CON AZUL DE LACTOFENOL

Procedimiento:

- Utilizar guantes, mascarilla, redcilla y gabacha para este procedimiento.
- Limpieza e higienización del área donde se va a trabajar.
- Encender mechero haciendo una combustión completa.
- Para la toma de la muestra colocar una gota de azul de lactofenol en el portaobjetos.
- Tomar un trozo pequeño de cinta adhesiva y con el dedo pulgar e índice de la mano y doblarlo de manera que el lado que contiene el pegamento quede expuesto hacia afuera y los dedos unidos.
- Abrir la placa con la colonia a muestrear.
- Tocar con la cinta adhesiva un extremo de la colonia para que esta se adhiera y poder obtener la muestra.
- Tomar el portaobjetos y colocar la cinta adhesiva con la muestra en azul de lactofenol.

Diagrama 4: Técnica de toma de muestra con cinta adhesiva



TÉCNICA DE VISUALIZACIÓN DE FLUORESCENCIA EMITIDA POR PLACAS AGAR CREMA DE COCO (ACC)

Procedimiento:

Inoculación: Mediante el uso de la cámara de flujo laminar realizar la inoculación de cepas en ACC mediante la técnica de punción única.

Almacenamiento: Resguardar las placas inoculadas cubriéndolas en papel aluminio y almacenarlas a temperatura ambiente dentro de un desecador.

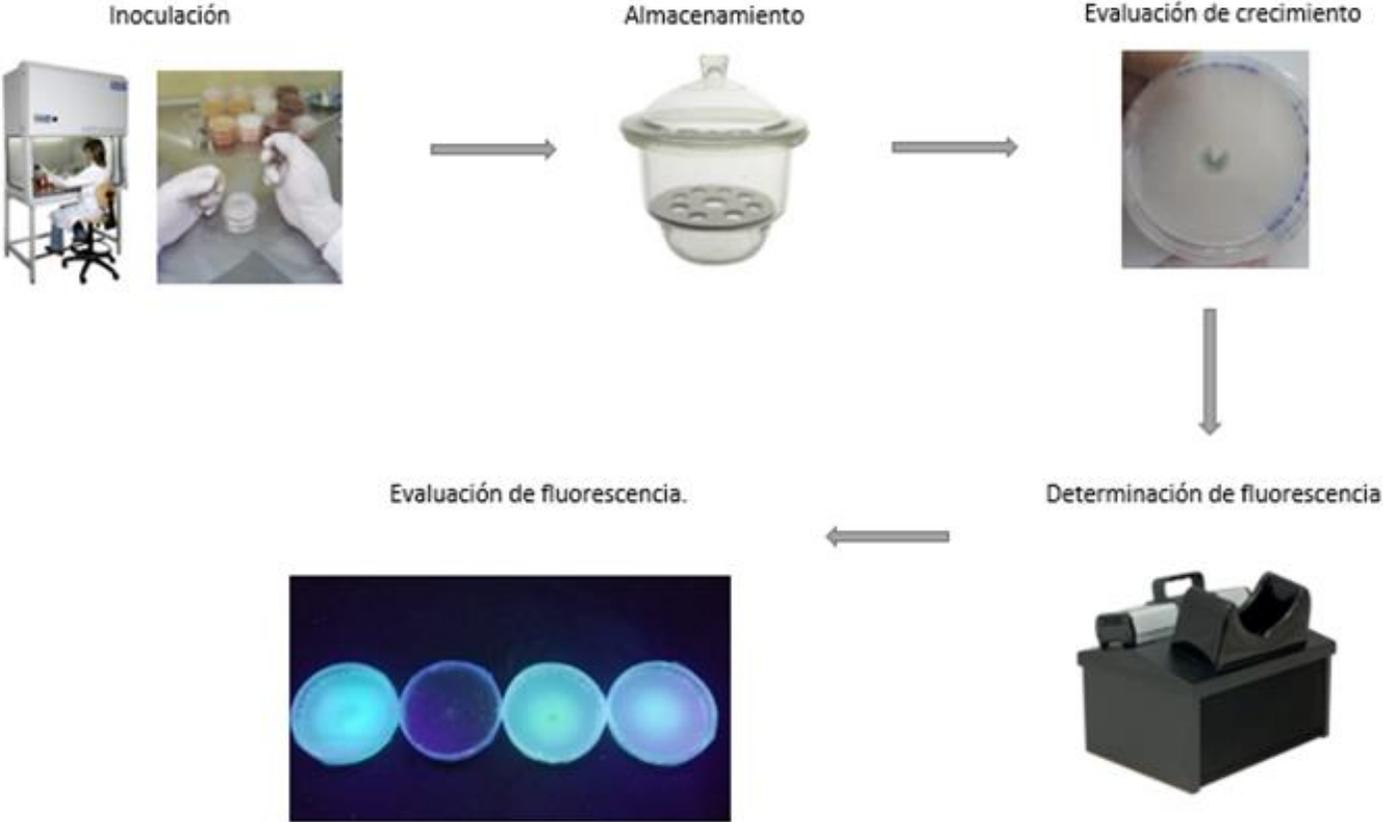
Evaluación de crecimiento: Luego de 3 a 7 días de realizar la inoculación, si se percibe desarrollo óptimo de la colonia podrá realizarse la lectura.

Determinación de fluorescencia: Colocar las placas dentro de la cámara de luz ultravioleta y seleccionar la longitud de onda larga.

Evaluación de fluorescencia. Determinar si existe fluorescencia significativa en la colonia y el color que presenta, este podría tornarse azul pastel en forma de anillo alrededor de la colonia para el caso de *A. Flavus*, color blanco azulado para el caso de *A. Paraciticus*, verde amarillento en forma de halo alrededor de la colonia para el caso de citrinina y azul verdoso para el caso de OTA.

Diagrama 5: Marcha analítica para la determinación de fluorescencia en medio de cultivo Agar Crema de Coco (ACC)

MARCHA ANALITICA PARA LA DETERMINACION DE FLUORECENCIA EN MEDIO DE CULTIVO AGAR CREMA DE COCO (ACC).



TÉCNICA DE IDENTIFICACIÓN MORFOLÓGICA DE MOHOS A TRAVÉS DE CLAVES DICOTÓMICAS.

La técnica se basa en un método de identificación por comparación de las estructuras macro y microscópicas que forman los mohos en su crecimiento, forma de micelio vegetativo, apariencia según su forma de micelio, superficie, color y pigmento; como también a nivel microscópico, pigmentación, tipo de hifas según su tamaño, tipo de reproducción, cuerpos fructíferos, tipo de hifas y forma de sus conidios; hasta determinar con precisión la identificación que debe confirmarse verificando que los caracteres principales del género o especie que se está considerando son verdaderamente compatibles con el moho aislado.

Figura 6: Representación de clave dicotómica según St Germain.

Clave dicotómica para géneros y especies tratadas.	
1. predominantes células de levaduras en gemación, colonias con textura pastosa.....	2
1a. Predominantes hifas, colonias con textura aterciopelada o algodonosa.....	21
Levaduras y organismos levaduriformes	
La identificación de levaduras generalmente se obtiene con el uso del sistema de identificación comercial y la observación de sus características morfológicas en agar harina de maíz Tween 80.	
2. colonia blanca, amarillosa o rosáceo pálido.....	3
2a. Colonia naranja a rosa salmón (casos dudosos en ambos lados de la clave)	17
2b. colonia café a negro o al menos con alguna sombra café, a menudo en sectores, después de 7-10 días de crecimiento.....	18
3. sin crecimiento o crecimiento escaso en agar Sabouraud o agar papa glucosa a menos que la superficie media haya sido limpiada con aceite de oliva.; levaduras en gemación unipolar presentes.....	complejo <i>Malassezia furfur</i> .
3a. buen crecimiento en los medios mencionados anteriormente; levaduras en gemación unipolar presentes o ausentes.....	4
4. test de ureasa negativo.....	5
4a. test de ureasa positivo.....	10
5. esporangios esféricos conteniendo numerosas esporangiosporas presentes; células en gemación ausentes.....	<i>Prototheca</i>

TÉCNICA DE TRATAMIENTO Y DISPOSICIÓN FINAL DE MUESTRAS UTILIZADAS.

Recolección de muestras: una vez finalizado el procesamiento resguardar las muestras, colocarles su identificación correspondiente y colocarlas dentro de un desecador.

Empaquetado: para disponer las muestras deberán de colocarse las placas de Petri ya sea plásticas o de vidrio dentro de una bolsa y asegurarse de cerrarla bien, posteriormente colocar indicador de esterilidad.

Esterilización Húmeda: colocar las muestras empaquetadas dentro del autoclave, teniendo especial cuidado en que el indicador de esterilidad ha sido colocado correctamente.

Disposición de residuos sólidos: si el proceso de esterilización fue realizado con éxito logrando se marcase el indicador de esterilidad completamente no habrá peligro de contaminación, de esta manera puede depositarse directamente en el contenedor para desechos sólidos adecuado.

- En el caso que el indicador de esterilidad no se marcara completamente podrá considerarse si es necesario repetir una vez más el proceso de empaquetado y esterilización.
- En el caso que el procedimiento se realizara en placas Petri de vidrio estas pueden reutilizarse haciendo su limpieza y desinfección después de la esterilización.

Diagrama 6: Marcha analítica para el tratamiento de muestras utilizadas en el proceso de purificación de cepas.

MARCHA ANALITICA PARA EL TRATAMIENTO DE MUESTRAS UTILIZADAS EN EL PROCESO DE PURIFICACION DE SEPAS.



MOHOS IDENTIFICADOS DE MUESTRAS EN CAFÉ ORO (GREEN COFFEE).

Aspergillus: El *Aspergillus*, sección Flavi, ha sido el moho identificado con más frecuencia en las 19 cepas seleccionadas para la investigación; las especies más frecuentes han sido, el *Aspergillus flavus* y *Aspergillus fumigatus*, presentados a continuación:

Aspergillus flavus:

La apariencia de la colonia macroscópicamente es micelio pulverulento, de color verde amarillento en la parte del anverso y al reverso un amarillo pálido, y de rápido crecimiento.

Apariencia microscópica:

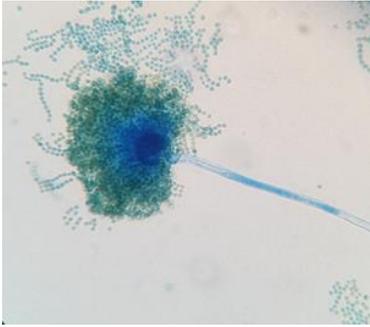
De micelio septado e hialino, las cabezas aspergilaras son bastante pronunciadas, con conidios reproducidos en masa que se van dividiendo en columnas en cadena que se van madurando; el pie celular o conidióforo tiene paredes rugosas, especialmente cerca de la vesícula, con fiálides uniseriadas y biseriadas, de conidios redondos con paredes ásperas en cadena; en algunos casos se presenta una esclerocia marrón en ciertos aislamientos.

El *Aspergillus flavus*, se caracteriza de otras especies de *Aspergillus* por sus brillantes columnas de color verde amarillo y sus paredes comúnmente ásperas de la pared del conidióforo.

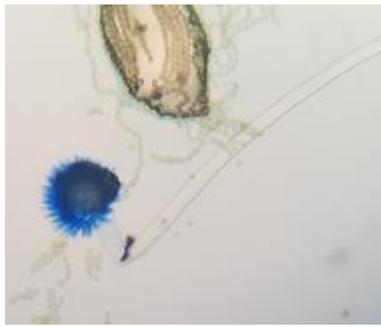
A. *flavus* se distingue de otras especies de *Aspergillus*



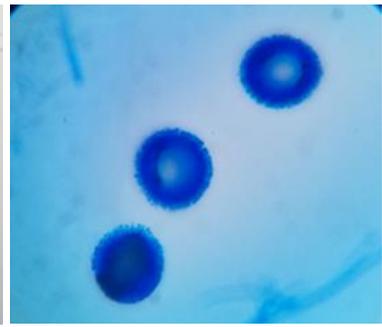
(a)



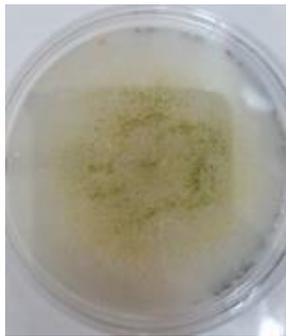
(b)



(c)



(d)



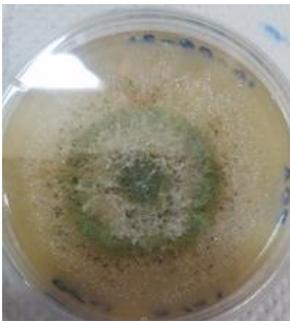
(e)



(f)



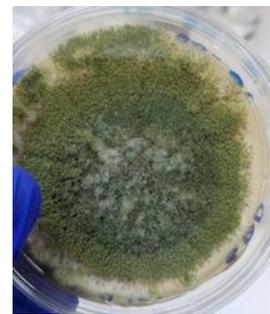
(g)



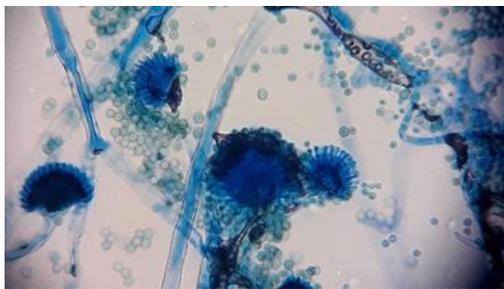
(h)



(i)



(j)



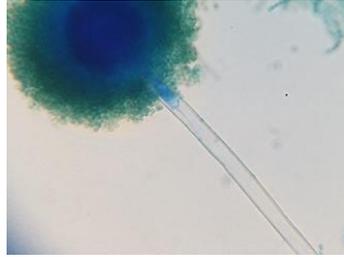
(k)



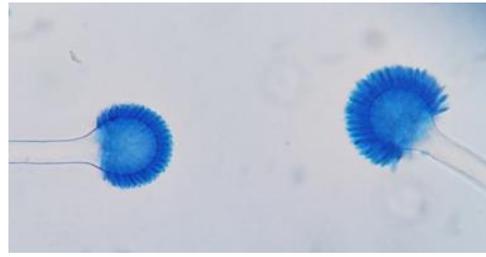
(l)



(m)



(n)



(ñ)

Figura: colonias de *Aspergillus flavus* en agar Czapek (a, b, c, e,) PDA, (d, g, h, i, j) y agar DRB (f, k, l, m, n, ñ).

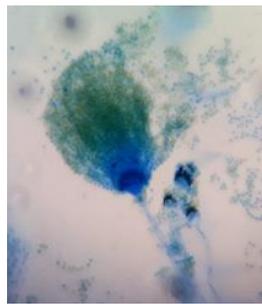
Aspergillus Fumigatus:

Microorganismo termotolerante, aislado principalmente del compost, del suelo o de material vegetal, ya que es uno de los microorganismos comúnmente encontrado en la naturaleza, creciendo en hábitats cálidos.

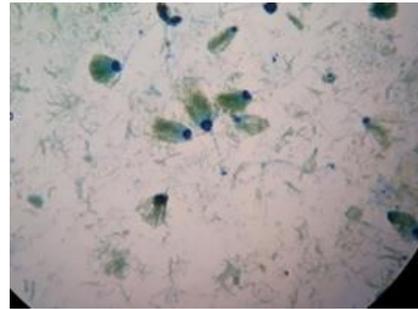
Su forma macroscópica es un poco lanoso a pulverulento, puede ser de color azul verdoso a verde gris en su anverso y reverso pálido a amarillento y de crecimiento rápido. Su forma microscópica es de micelio cenocítico o no septado, hialino, de cabeza aspergilar cubierta con dos tercios de fiálides uniseriadas, conidios producidos en masa, reconocido por ser de conidios de paredes rugosas y de color verde.



(a)



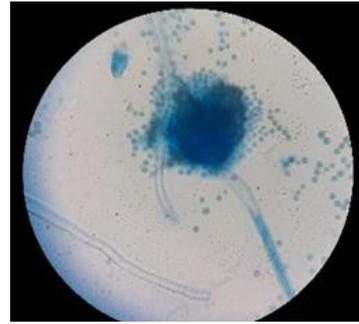
(b)



(c)



(d)



(e)

Figura: colonias de *Aspergillus fumigatus* en agar Czapek.

Penicillium

Normalmente no es un agente patógeno, a excepción de *Penicillium marnefei*. El *Penicillium*, predomina en climas templados, y de las aproximadamente 150 especies identificadas, algunas son productoras de toxinas.

La forma de micelio es aterciopelado a pulverulento, de color azul verdoso, verde grisáceo, blanco, amarillo o rosa en su parte anversa y al reverso amarillento pálido, y en ocasiones marrón de crecimiento rápido.

Microscópicamente es de micelio septado, hialino, pie celular cubierto de dos tercios de fiálides uniseriadas en ella, agrupadas en cúmulos en forma de pincel en los extremos del conidióforo; de conidios unicelulares, redondos u ovoides, a veces pigmentados y de paredes ásperas o lisas producidas en cadena.

Normalmente el *Penicillium* se distingue por sus colonias con frecuencia verdosas y su ramificación monoverticilata, biverticilata o terverticilata, diferenciado del *Paecilomyces* que sus fiálides son más alargadas.



(a)



(b)



(c)



(d)



(e)



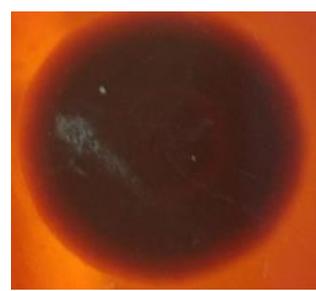
(f)



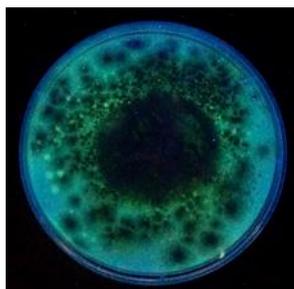
(g)



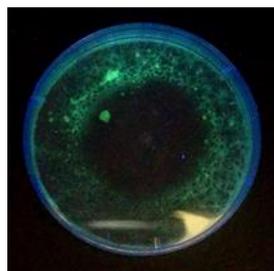
(h)



(i)



(j)



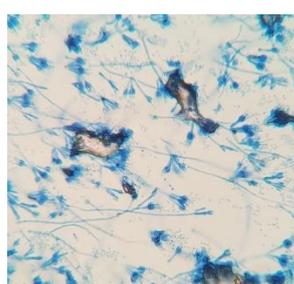
(k)



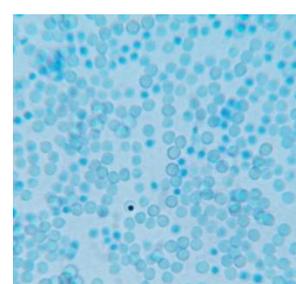
(l)



(m)



(n)



(ñ)

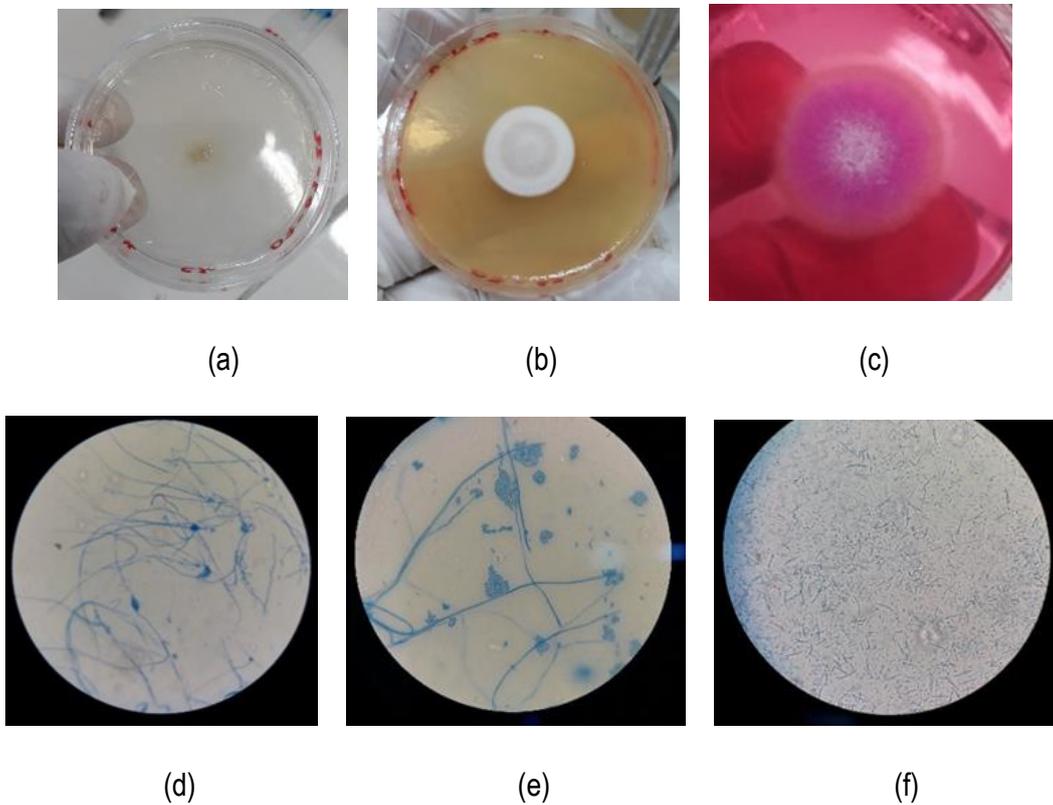
Figuras: colonia de *Penicillium* en agar Czapek (a), PDA (b, c) DRB (d, e, f, g, h, i, m, n, ñ) y ACC para determinación de fluorescencia por posible producción de toxinas (j, k, l). En (ñ) conidios de *Penicillium*.

***Acremonium*:**

El *Acremonium* se encuentra en el suelo o escombros de las plantas. De apariencia macroscópica de crecimiento moderadamente rápido, forma de micelio pulverulento a aterciopelado, de color blanquecino, amarillento o rosa pálido en el anverso y reverso pálido o grisáceo a oliva.

Forma de micelio microscópico hialino y septado, con fiálides erectos, alargados y estrechos de la punta, normalmente con tabique en la base y collarete en el ápice, con conidios ovoides unicelulares (rara vez bicelulares), acumulados en masas viscosas en el ápice de las fiálides y en cadenas.

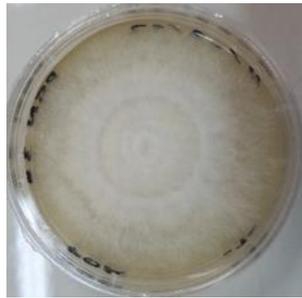
Es importante evitar confundir el *Acremonium* del *Fusarium*, ya que la forma de sus fiálides y conidios son en cierta medida similares.



Figuras: Crecimiento de colonias de *Acremonium* en agar CZ (a, d), PDA (b, e) y DRB (c, f).

Fusarium

El *Fusarium* es una especie de moho de crecimiento rápido, de micelio algodonoso o lanoso, puede ser de color blanco, amarillo, rosa, púrpura o marrón pálido al anverso con reverso pálido, rojo, violeta, marrón o en ocasiones azulado. Microscópicamente es septado, hialino, reconocido por sus fiálides largas o poco cortas, cilíndricas, simples o ramificadas con un collarite poco o nada perceptible en el ápice. Conidios unicelulares y en ocasiones bi-celulares, ovoides o elipsoidales en cadenas, algunos son curvados e incluso multicelulares con una célula pie en su base; con algunas clamidosporas.



(a)



(b)



(b)



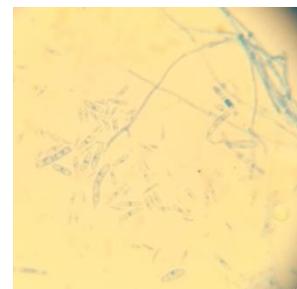
(c)



(d)



(e)



(f)

Figuras: Colonias de *Fusarium* inoculadas en PDA (a, b) y DRB (b, c, d, e, f).

RESULTADOS PURIFICACION DE CEPAS DE MOHOS PROVENIENTES DE CAFÉ GRANO ORO (GREEN COFFEE) 2022

El total de muestras pertenecientes a la investigación principal es de 52 cepas resguardadas mediante crioviales, de los cuales el total de muestras utilizado para fines de análisis pertenecientes a pasantía de investigación fueron 19 cepas que conforman el 36.53% del total general y lo que para fines de pasantía representaría el 100% de muestras estudiadas.

Los resultados fueron determinados por medio de características macros y microscópicas, se utilizaron 4 medios de cultivo selectivos, realizando inoculaciones por triplicado para la identificación de mohos, como PDA, CZ, SBR, DRB; y para la determinación de fluorescencia se realizaron inoculaciones en medio ACC; pudiendo así determinar su potencial toxigénico.

TABLA 11: Resultados obtenidos de cepas analizadas en laboratorio.

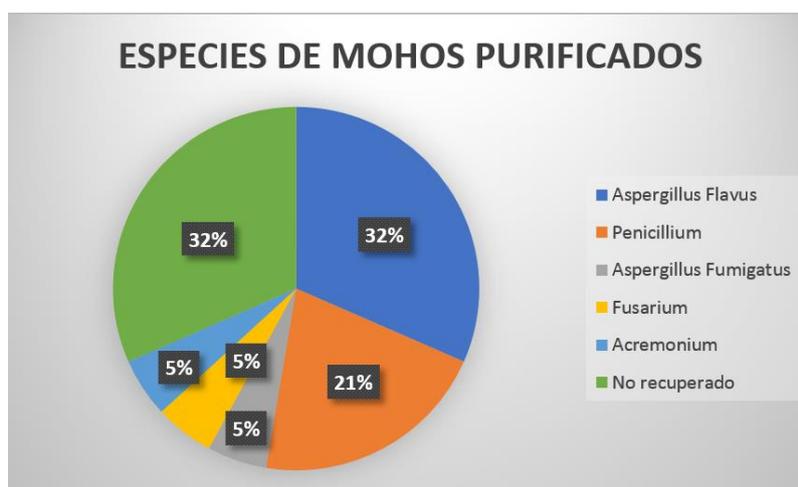
N°	CÓDIGO DE CEPA (MOHO)	GÉNERO
1	PEN 1	No recuperado
2	PEN 1*	No recuperado
3	PEN 2	<i>Aspergillus Flavus</i>
4	PEN 2*	<i>Aspergillus Flavus</i>
5	PEN 3	No recuperado
6	PEN 3*	<i>Fusarium</i>
7	PEN 4	No recuperado
8	PEN 4*	<i>Acremonium</i>
9	PEN 2/14	<i>Aspergillus Fumigatus</i>
10	PEN 2/14Y	<i>Aspergillus Flavus</i>
11	PEN 2/14Z	<i>Penicillium</i>
12	PEN 2/16	<i>Aspergillus Flavus</i>
13	PEN 2/18A-1	<i>Penicillium</i>
14	PEN 2/18A-2	<i>Penicillium</i>
15	PEN 2/20	<i>Aspergillus Flavus</i>
16	PEN 2/21	<i>Aspergillus Flavus</i>
17	PEN 2/25	No recuperado
18	PEN 2/25B	<i>Penicillium</i>
19	PEN 2-10-1	No recuperado

Porcentaje de especies identificadas a partir de criobiales analizados para muestras de café grano oro (Green Coffee):

Tabla 12: Porcentaje de especies identificadas de los 19 criobiales analizados de muestras de café grano oro (Green Coffee).

ESPECIE	CANTIDAD	PORCENTAJE.
<i>Aspergillus Flavus</i>	6	32%
<i>Penicillium</i>	4	21%
<i>Aspergillus Fumigatus</i>	1	5%
<i>Fusarium</i>	1	5%
<i>Acremonium</i>	1	5%
No recuperado	6	32%
Total		100%

Gráfico 5: porcentaje de especies identificadas de los 19 criobiales analizados de muestras de café grano oro (Green coffee).



Según los resultados obtenidos, del total de cepas estudiadas (19 Criobiales), el 32% equivale a *Aspergillus flavus*, lo que denota una gran mayoría presente en las muestras de café grano oro (Green coffee); aun así, existe el mismo porcentaje de muestras no recuperadas. Seguido en segundo lugar por el género *Penicillium*, abarcando el 21% del total de muestras estudiadas; el resto de las especies identificadas abarcan no más del 5%.

RESULTADOS DE MOHOS QUE PRESENTARON FLUORESCENCIA EN ACC

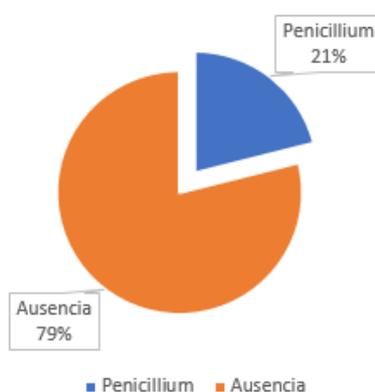
Las muestras provenientes de grano oro (Green coffee) 19 cepas resguardadas en crioviales se analizaron mediante el uso de agar ACC para determinar su potencial toxigénico por medio de fluorescencia al ser observados en luz U.V a 366nm de esta manera indicando la posible producción de Ocratoxina A.

Tabla 13: Resultados obtenidos de fluorescencia en mohos de muestras de café grano oro (Green coffee).

ESPECIE IDENTIFICADA	CANTIDAD DE MUESTRAS	PORCENTAJE EQUIVALENTE
Penicillium	Pen 2/14Z Pen 2/18A -1 Pen 2/25B Pen 2/18A -2	21.05%
Otras especies	Ausencia	78.95%
Total:		100%

Gráfico 6: Resultados obtenidos de fluorescencia en mohos de muestras de café grano oro (Green coffee).

FLUORESCENCIA EN MOHOS



Basado en los resultados obtenidos, la fluorescencia se presenta con un 21.05% del total de las muestras analizadas, lo que indica que, aunque se encuentren en menor cantidad, sí hay presencia de mohos productores de toxinas.

V. CONTRIBUCIONES DEL TRABAJO Y LIMITACIONES.

CONTRIBUCIONES DEL TRABAJO:

Las principales contribuciones al perfil profesional de Licenciatura en Salud Ambiental mediante la pasantía de investigación fueron:

REALIZACIÓN DE MARCHAS DE LABORATORIO PARA ANÁLISIS BROMATOLÓGICO DEL CAFÉ GRANO ORO (GREEN COFFEE):

- Adecuación de condiciones para el laboratorio.
- Preparación de medios de cultivo no comercializados (ACC).
- Planificación y desarrollo de actividades bromatológicas.
- Desarrollo de prácticas de laboratorio (teórico y experimental) con estudiantes de Licenciatura en Salud Ambiental (química general, introducción a análisis microbiológico, análisis bromatológico, análisis de mohos filamentosos, tinción al Gram, análisis de agua potable) y estudiantes de la Licenciatura en Química y Farmacia (preparación de muestras para análisis bromatológico y toxicológico).
- Estudio de proceso de fermentación, purificación de etanol y preparación de reactivos químicos para desarrollo de prácticas estudiantiles.

CAMBIO CLIMÁTICO Y SU RELACIÓN CON OTA EN CAFÉ GRANO ORO (GREEN COFFEE):

- Descripción y purificación de cepas resguardadas en crioviales producto de investigación principal.
- Estudio del fenómeno del cambio climático y su relación con cepas purificadas.
- Identificación de información relacionada a OTA en reglamentos y normativos vigentes.

OTRAS CONTRIBUCIONES:

Participación en proceso de caracterización microbiológica de Atol Shuco para el artículo científico “**Atol Shuco,**” a **Traditional Corn-Fermented Salvadorian Beverage: Phytochemical, Microbiological and Nutritional Considerations**, perteneciente al libro *Hispanic Foods: Chemistry of Fermented Foods / American Chemical Society / Drexel University, Philadelphia, Pennsylvania, United States / University of Illinois at Urbana-Champaign, Urbana, Illinois, United States. / 2021 – 2022.*

- Utilización y preparación de medios de cultivo GYC y MRS.
- Adecuación de condiciones para el laboratorio.

- Preparación de medios de cultivo no comercializados (ACC).
- Planificación y desarrollo de actividades bromatológicas.
- Análisis microbiológico.
- Análisis bromatológico.
- Análisis de mohos filamentosos.
- Tinción al Gram.
- Preparación de muestras para análisis bromatológico y toxicológico.

- Estudio de proceso de fermentación, purificación de etanol y preparación de reactivos químicos para desarrollo de prácticas estudiantiles.
- Utilización de Medios de cultivo, generales y específicos, Coli-ler, Compact Dry y Petri Film.

Limitaciones:

1. Tecnologías disponibles (cámara fotográfica).
2. Horarios de trabajo limitados según la disponibilidad de laboratorio.
3. Cierres aleatorios de instalaciones por pandemia COVID19.
4. Pérdida de muestras procesadas debido al sobre crecimiento de cepas al no ser identificadas en el tiempo requerido.
5. Desfase de lecturas por desarrollo incompleto de muestras.
6. Contaminación de muestras por bacterias y otras clases de mohos.

VI. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Los resultados obtenidos del procesamiento de las muestras de café grano oro (Green Coffee) indican resultados positivos en la detección de cepas con potencial toxigénico, la especie que se logró identificar después de completar el proceso de purificación e identificación mediante el uso de clave dicotómica fue principalmente *Penicillium*, las muestras identificadas como Pen 2/14Z, Pen 2/18A -1, Pen 2/25B y Pen 2/18A -2 representan un 21.05% del 100% de muestras estudiadas según R. Russell y Paterson algunas de las especies principales de mohos ligados a la producción de toxinas son *Aspergillus* y *Penicillium* al encontrarse en condiciones óptimas de humedad y temperatura; estos hallazgos demuestran una relación directa entre los efectos del cambio climático que sufre El Salvador, puesto que estas variaciones favorecen a que dichas especies de mohos se adapten a los distintos climas que pueden encontrarse en el territorio, afectando de esta manera no solo el cultivo del café si no también los cultivos de cereales, uvas, trigo, cebada, centeno, cacao, entre otros.

El aumento de temperaturas ha llegado a un promedio de 35.7°C registrados por el MARN en 2021; parámetros que benefician a los mohos de distintas especies del género *Penicillium*, siendo su temperatura óptima de crecimiento entre 20 a 30°C.

Se verificó el potencial toxigénico siguiendo lo descrito por Sonya K. Dyer y Sharee McCammon, para elaborar Agar Crema de Coco, dicho principio también fue replicado por S. Mohamed indicando que es un medio de detección simple y económico para la detección de la producción de toxinas; comparando diferentes medios para determinar la capacidad de detección por medio de fluorescencia; entre los medios estudiados se podría mencionar leche de coco al 100% (Leecan, Penang, Malasia), leche de coco en polvo al 40, 50 y 60% (Nestlé, Sri Lanka) y crema de coco al 30, 40, 50 y 60% (Trident, Tailandia). Concluyendo que para replicar el método de manera correcta el medio debe estar compuesto por crema de coco (50%) y agar (1 -5%).

Para fines de investigación se añadió agar (1 -5%) a todos los medios que se dispensaron a razón de unos 20 ml por placa de Petri de acuerdo con la dimensión de la placa (9 cm de diámetro) reemplazando la marca Trident por Roland, debido a la inexistencia en el país, pero cumpliendo las especificaciones necesarias para la formulación. En los resultados observados de la fluorescencia a 336 nm en Luz U.V, en el caso de los *Penicillium*, es de un color verde claro que algunas veces suele rodearse de un halo de tonalidad azul claro como lo muestra la sección de procesamiento de resultados. Lo que indica que, aunque se encuentren en menor cantidad, sí

existe presencia de mohos productores de toxinas presuntamente del tipo Ocratoxina A (OTA) que al estar catalogada dentro del grupo 2B según IARC se considera posible cancerígeno humano además de potencial Nefrotóxico según la especie; y, en el caso de los *Aspergillus*, se identificó la especie *Aspergillus Flavus* en PEN 2, PEN 2*, PEN 2/14Y, PEN 2/16, PEN 2/20 y PEN 2/21; catalogado como posible productor de Aflatoxinas del tipo B1, B2, G1 y G2 que están clasificadas en el grupo 1 de cancerígenos del IARC; sin embargo, a pesar de tener el potencial de ser un productor de toxinas, la cepa no fue capaz de generar fluorescencia debido a que se vio afectada por las condiciones de humedad (A_w 0.80 e) y temperatura (33 – 35C°) en estas condiciones puede desarrollarse el hongo pero no produce toxinas.

Según los resultados anteriormente mencionados se identifica que los efectos del cambio climático pueden afectar de manera directa al café y otros cultivos, esto además de generar efectos dañinos a la salud de la población podría repercutir de manera negativa en su consumo como bebida generando pérdidas a la economía relacionada con este fruto desde la disminución de niveles de compra internacionales, disminución de fuentes de empleo hasta el decaimiento del mercado de subproductos generados a base de café, por lo cual es necesario seguir desarrollando estudios para comprender de mejor manera este fenómeno a fin de realizar monitoreos periódicos de los niveles de OTA y junto a estas acciones definir límites máximos de contenido para el café tanto en su etapa grano oro (Green Coffee), café soluble, café tostado y molido, así también generar estudios científicos a fin de determinar su relación existente en otros cultivos y su incidencia directa en la salud de la población salvadoreña.

VII. CONCLUSIONES

Según los resultados obtenidos de las 19 cepas utilizadas en pasantía de Investigación que representan el 36.53% del total general (52 cepas 100% de la investigación principal), se concluye que:

- De acuerdo con las técnicas utilizadas en el proceso de purificación de las muestras de mohos provenientes de café grano oro (Green Coffee), los principales géneros identificados fueron *Aspergillus spp.* y *Penicillium spp.* evidenciando de esta manera que los efectos del cambio climático pueden afectar de manera directa al café y otros cultivos.
- Se determinó mediante el uso de claves dicotómicas de las bibliografías utilizadas Campbell & Johnson y St. Germain, que las especies de mohos descritos fueron *Aspergillus Flavus* (32%), *Penicillium* (21%), *Aspergillus Fumigatus* (5%), *Fusarium* (5%), *Acremonium* (5%) y con un total de muestras no recuperadas de (32%).
- Al visualizar las muestras de mohos provenientes de café grano oro (Green Coffee), utilizando la cámara de luz ultravioleta (onda larga 366nm), se identificó que las cepas de genero *Penicillium spp* Pen 2/14Z, Pen 2/18A -1, Pen 2/25B y Pen 2/18A -2 que representan un 21.05% del 100% de muestras estudiadas presentaron fluorescencia, lo cual significó que poseen potencial toxigénico; evidenciando la presencia de toxinas presuntamente del tipo Ocratoxina A, que al estar catalogada dentro del grupo 2B, según IARC se considera posible cancerígeno humano, además de su potencial nefrotóxico según la especie.

VIII. RECOMENDACIONES

- Se sugiere al Consejo Salvadoreño del Café y OSARTEC, incorporen en la reglamentación salvadoreña los límites máximos permisibles de OTA en café grano oro (Green Coffee), sugeridos en la Normativa Internacional (1881/2006 Unión Europea).
- Los datos obtenidos en pasantía de investigación basándose en la investigación principal sirven como base para la creación de nuevos estudios donde se pueda monitorear la afectación del cambio climático y mohos productores de toxinas, se sugiere hacer uso de la técnica de cromatografía en capa fina para evaluar los niveles de OTA ($\mu\text{g}/\text{kg}$) en Café y otras matrices alimentarias (cultivos de cereales, uvas, trigo, cebada, centeno, cacao, vino, zumo, cerveza entre otros).
- Para asegurar la inocuidad en el proceso de beneficiado es necesario crear programas de vigilancia y monitoreo utilizando equipo tecnológico especializado para verificar cambios en la temperatura, humedad, actividad del agua, que puedan servir de parámetros de control por un posible crecimiento de mohos en el café y los efectos que pueda causar en él el cambio climático, según lo sugerido por Codex Alimentarius (Norma general para los contaminantes y las toxinas presentes en los alimentos y piensos) y Código de prácticas de Organización Internacional del café (Prevención y reducción de la contaminación del café por la OTA).
- Sugerir al gremio médico el uso de los resultados de esta investigación para generar nuevos estudios que relacionen el contenido de OTA en el cuerpo humano y los posibles efectos negativos que pueda ocasionar a la salud, ejemplo de ello se puede mencionar el cáncer y la insuficiencia renal, según Centro Internacional de Investigaciones sobre el Cáncer (IARC) Francia. OMS. Año 2022.

IX. FUENTES DE INFORMACIÓN.

1. Russell R, Paterson M, Lima N, Taniwaki MH. Cafe, micotoxinas y cambio climático Universidad de Minho, Portugal: Elsevier Ltd.; 2014.
2. Consejo Salvadoreño del Café. <http://www.csc.gob.sv/>. [Online].; 2021 [cited 2022 Julio 14]. Available from: <http://www.csc.gob.sv/download/notiexcelencia-lanzamiento-del-estudio-tendencias-de-consumo-de-cafe-en-el-salvador-6/>.
3. Consejo Salvadoreño del Café. Cafetaleras. DdEEyE. www.csc.gob.sv. [Online].; 2020 [cited 2022 Julio 04]. Available from: <http://www.csc.gob.sv/download/la-caficultura-en-el-salvador-cosecha-19-20/?wpdmdl=14109&refresh=62af8e953122f1655672469>.
4. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. [fao.org](http://www.fao.org). [Online].; 2013 [cited 2022 Julio 02]. Available from: <https://www.fao.org/in-action/agronoticias/detail/es/c/512744/>.
5. Mccammon, Sonya K. Dyer and Sharee. Detección de aislados toxigenos de aspergillus flavus y especies afines en agar crema de coco. Journal of applied bacteriology. 1994.
6. S. MOHAMED, S. FLINT, J. PALMER, GC FLETCHER Y JI PITT. Extensión del método de agar crema de coco para cribar penicillium citrinum aislamientos para la producción de citrinina. .
7. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología. Norma Salvadoreña / NSO 67.31.01:03 / ESTANDARES DE CALIDAD PARA EL CAFE DE COMERCIALIZACION NACIONAL E INTERNACIONAL. San Salvador.
8. www.microbiota.com.ar. Glosario [Online]. [cited 2022 Noviembre 17]. Available from: <http://www.microbiota.com.ar/sites/default/files/glosario13.pdf>.
9. Guy St - Germain RS. Identifying fungus a clinical laboratory handbook.. Second Edition ed.: Star Pub Co; 2010.
10. Sarmiento F. Diccionario de ecología Quito; 1974.
11. Deltalab. Crioviales. [Online]. [cited 2022 Noviembre 17]. Available from: <https://www.deltalab.es/producto/crioviales-esteriles/>.
12. Universidad de Granada. [Online]. [cited 2022 Noviembre 17]. Available from: <https://www.ugr.es/~pomif/pom-bac/pb-iv/pb-iv-2-introduccion.htm>.
13. Española RA. [Online]. [cited 2022 Noviembre 17]. Available from: <https://dle.rae.es/potencial>.
14. Diccionario del español de México. [Online]. [cited 2022 Noviembre 17]. Available from: <https://dem.colmex.mx/ver/toxig%C3%A9nico>.

15. INSST. Instituto nacional de seguridad y salud en el trabajo, Torrelaguna, Madrid. [Online].; 2022 [cited 2022 Septiembre 20. Available from: <https://www.insst.es/agentes-biologicos-basebio/hongos/penicillium-spp>.
16. INSST. Instituto nacional de seguridad y salud en el trabajo ,Torrelaguna, Madrid. [Online].; 2021 [cited 2020 Septiembre 20. Available from: <https://www.insst.es/agentes-biologicos-basebio/hongos/aspergillus-spp>.
17. Colin K. Campbell, Elizabeth M. Johnson , David W. Warnock. IDENTIFICATION OF PATHOGENIC FUNGI. SECOND EDITION ed.; 2013.
18. Rita C. Alves, Francisca Rodrigues , Maria Antonia Nunes , Ana F. Vinha, M. Beatriz Oliveira. Manual de subproductos del procesamiento de cafe Portugal: Elsevier Inc.; 2017.
19. Organización Internacional del Café. Código de prácticas , Prevención y reducción de la contaminación del café por la ocratoxina A. 2009.
20. Servicio Nacional de Estudios Territoriales SNET El Salvador. [Online]. [cited 2022 Octubre. Available from: aerazo@snet.gob.sv.
21. E. Aguilar. Changes in precipitation and temperature extremes in Central America and northern South America, 1961 – 2003; 2005.
22. Sidia Sire Marinero. Resumen climatológico anual 2021 (Datos Preliminares). San Salvador : Ministerio de medio ambiente y recursos naturales., Gerencia de comunicaciones; 2022.
23. Adela Emilia Gomez. Alimentos y micotoxinas implicaciones en la seguridad alimentaria. ; 2007.
24. López de Cerain A JAEOBJ. Efectos tóxicos de la Ocratoxina A Pamplona. : Dpto de Bromatología, Tecnología de Alimentos y Toxicología. Facultad de Farmacia.; 2001.

X. ANEXOS.

ANEXO 1. CARTA DE FINALIZACIÓN PASANTÍA DE INVESTIGACIÓN

MHP
Astrid Violeta Villalobos Velasquez
Directora de licenciatura en salud ambiental
Facultad de Medicina.
Presente.

Respetable MHP Astrid Violeta Villalobos Velasquez

Por este medio hago constar que la bachiller Brenda Estefany Hernández Ramos con carné N.º HR13044, ha finalizado la pasantía de investigación, en Laboratorio de Análisis Bromatológico, Facultad de Química y Farmacia, Universidad de El Salvador, ejecutando el Proyecto de investigación denominado "Purificación de cepas provenientes de mohos extraídos de café (*Coffea arabica*) en su etapa grano oro (*Green coffee*) e identificación de su potencial toxigénico", durante el período comprendido del 8 de Julio del 2021 al 07 de Octubre del 2022, dando cumplimiento a los requisitos establecidos en el manual de normas y procedimientos para nuevas modalidades de trabajo de grado de la escuela de tecnología médica, pasantía de investigación.

Y para los trámites correspondientes, firmo y sello la presente carta, a los veintiocho días del mes de noviembre del año dos mil veintidós.

Atentamente

"Hacia la Libertad por la Cultura"



Lic. Juan Agustin Cuadra Soto
Profesor universitario e investigador
Facultad de Química y Farmacia
Universidad de El Salvador.

MHP

Astrid Violeta Villalobos Velasquez
Directora de licenciatura en salud ambiental
Facultad de Medicina.
Presente.

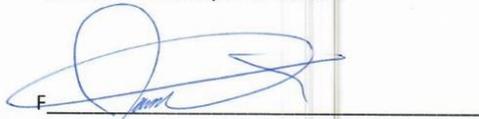
Respetable MHP Astrid Violeta Villalobos Velasquez

Por este medio hago constar que el bachiller Enrique Stanley Argumedo Ochoa con carné N.º AO13019, ha finalizado la pasantía de investigación, en Laboratorio de Análisis Bromatológico, Facultad de Química y Farmacia, Universidad de El Salvador, ejecutando el Proyecto de investigación denominado "Purificación de cepas provenientes de mohos extraídos de café (*Coffea arabica*) en su etapa grano oro (*Green coffee*) e identificación de su potencial toxigénico", durante el período comprendido del 8 de Julio del 2021 al 07 de Octubre del 2022, dando cumplimiento a los requisitos establecidos en el manual de normas y procedimientos para nuevas modalidades de trabajo de grado de la escuela de tecnología médica, pasantía de investigación.

Y para los trámites correspondientes, firmo y sello la presente carta, a los veintiocho días del mes de noviembre del año dos mil veintidós.

Atentamente

"Hacia la Libertad por la Cultura"



Lic. Juan Agustin Cuadra Soto
Profesor universitario e investigador
Facultad de Química y Farmacia
Universidad de El Salvador.

ANEXO 2. FICHA PARA EL CONTROL DE TUTORIAS EN PROYECTO DE INVESTIGACION.

Nombre Completo	<i>Brenda Estefany Hernández Ramos</i>	
Carrera:	<i>Licenciatura en Salud Ambiental</i>	Carné:HR13044
Nombre del Proyecto de Investigación:	<i>Purificación de mohos extraídos de café verde, provenientes de Beneficios de café y aplicación de Técnica cromatográfica en capa fina para la identificación mohos productores de Ocratoxina A.</i>	
Institución:	<i>Universidad de El Salvador, Facultad de Química y Farmacia</i>	
Fecha de inicio del proyecto de investigación.	<i>08 de Julio de 2021</i>	
Nombre del Tutor:	<i>Lic. Juan Agustín Cuadra Soto</i>	

FECHA	ACTIVIDADES REALIZADAS	Número de horas
08/JULIO/2021	<ul style="list-style-type: none"> Capacitación de elaboración de medio de cultivo Agar Czapek Dox Agar y capacitación de cámara de Flujo Laminar. 	6
09/JULIO/2021	<ul style="list-style-type: none"> Capacitación de elaboración de medio de cultivo Agar Papa Dextrosa y plaqueo. 	5
12/JULIO/2021	<ul style="list-style-type: none"> Capacitación de elaboración de medio de cultivo Agar Crema de Coco y plaqueo. 	7
13/JULIO/2021	<ul style="list-style-type: none"> Inoculación para aislamiento de mohos de criobiales en placas agar PDA Y CZ. 	7
16/JULIO/2021	<ul style="list-style-type: none"> Capacitación de Criterios para la identificación de hongos filamentosos. 	7
19/JULIO/2021	<ul style="list-style-type: none"> Capacitación de uso de microscopio y observación de mohos aislados con técnica de tinción con azul de lactofenol. 	7
20/JULIO/2021	<ul style="list-style-type: none"> Ejercicio práctico de uso de microscopio. 	6
21/JULIO/2021	<ul style="list-style-type: none"> Inoculación de mohos en agar PDA, CZ Y ACC. 	7
23/JULIO/2021	<ul style="list-style-type: none"> Reunión para planificación de itinerario. Observación al microscopio de mohos aislados. 	8
26/JULIO/2021	<ul style="list-style-type: none"> Limpieza y adecuación de áreas de trabajo e inventario. 	6
27/JULIO/2021	<ul style="list-style-type: none"> Preparación de medios de cultivo Agar PDA, CZ, Sabouraud, ACC y Agar-Agar. 	9
28/JULIO/2021	<ul style="list-style-type: none"> Identificación de mohos en microscopio con técnica de tinción con azul de lactofenol. 	8
29/JULIO/2021	<ul style="list-style-type: none"> Planificación de proyectos de investigación. 	8
09/08/2021	<ul style="list-style-type: none"> Ensayo de preparación de medios de cultivo e inoculación para atol shuco. Preparación de agua peptonada bufferada. 	4

	<ul style="list-style-type: none"> Preparación de agar Sabouraud y Dicloran Rosa de Vengala. 	
10/08/2021	<ul style="list-style-type: none"> Inoculación de mohos de criobiales en placas con medio de cultivo CZ, PDA Y Sabouraud. 	5
13/08/2021	<ul style="list-style-type: none"> Identificación de mohos a los 3 días de crecimiento después de inoculados. 	5
16/08/2021	<ul style="list-style-type: none"> Vista al microscopio de inoculación de mohos después de 6 días de crecimiento por medio de la técnica de tinción con azul de lactofenol. Observación e identificación por medio de sus características morfológicas. 	8
17/08/2021	<ul style="list-style-type: none"> Reunión con Lic. Juan Cuadra para organización de actividades a realizar durante la semana. Vista al microscopio de inoculación de mohos después de 7 días de crecimiento por medio de tinción con azul de lactofenol. Observación e identificación por medio de sus características morfológicas. 	10
18/08/2021	<ul style="list-style-type: none"> Vista al microscopio de inoculación de mohos después de 8 días de crecimiento por medio de tinción con azul de lactofenol. Observación e identificación por medio de sus características morfológicas. 	4
19/08/2021	<ul style="list-style-type: none"> Identificación de mohos según bibliografía de St. Germain y Jonhson y Campbell; vaciado de datos en documento Excell de los mohos identificados e inoculados el 10/08/21 	9
20/08/2021	<ul style="list-style-type: none"> Identificación de mohos según bibliografía de St. Germain y Jonhson y Campbell; vaciado de datos en documento Excell de los mohos identificados e inoculados el 10/08/21 Vista al microscopio e identificación de mohos inoculados en agar coco (ACC) el 16/08/21 por tinción con azul de lactofenol. 	7h y 30 min
23/08/2021	<ul style="list-style-type: none"> Identificación de mohos por medio de claves dicotómicas de St. Germain y vaciado de datos de características morfológicas macroscópicas y microscópicas de mohos inoculados el 10-08-21 y 16-08-21. Lavado de 100 porta objetos para reutilizar en tinciones de mohos con azul de lactofenol para observar al microscopio. Reunión para revisión de trabajos escritos y diarios virtuales. Planificación de actividades para itinerario de investigación de atol shuco. 	8
24/08/2021	<ul style="list-style-type: none"> Vaciado de album fotográfico de mohos inoculados, de forma macroscópica y microscópica. Vaciado de datos de características morfológicas de mohos inoculados el 10-08-21 y 16-08-21 Re inoculación de mohos no recuperados en agar PDA, ACC, SBR Y CZ 	9
25/08/2021	<ul style="list-style-type: none"> Vaciado de información morfológica de mohos aislados. Elaboración de 20 placas de petri de agar <i>Salmonella Shigella</i>. Inoculación de <i>Salmonella spp.</i> en 10 placas de medio selectivo <i>Salmonella Shigella</i> por medio de la técnica de extensión en placa. 	7
26/08/2021	<ul style="list-style-type: none"> Vaciado de últimos datos de características morfológicas macroscópicas y microscópicas de inoculaciones del 10-08-21 y 16-08-21. Reunión y presentación de investigación por medio de Licenciado Juan Agustín Cuadra Soto a docentes de la Facultad de Medicina, Licenciatura en Salud Ambiental, 	8

	<p>directora de carrera, Licda. Astrid Violeta Villalobos y Docente asesor de Pasantía de Investigación, Lic. Oscar Iraheta Blanco y estudiantes en función de clarificación de pasantía de investigación y delegación de actividades según objetivos.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Reinoculación de mohos aislados en cepario que no se lograron recuperar, en agar Crema de Coco • Finalización de vaciado de datos de características morfológicas de mohos aislados en fechas 10-08-21 y 16-08-21. 	
27/08/21	<ul style="list-style-type: none"> • Preparación de medio de cultivo Agar Crema de Coco • Preparación de materiales para elaboración de medio de cultivo. • Realización de cálculos matemáticos para formulación de cantidad de materiales en gramos. 	9
31/08/21	<ul style="list-style-type: none"> • Exposición de tema Introducción de "Criterios para la Identificación de Hongos Filamentos" • Ejercicio práctico para la identificación de mohos al microscopio. • Identificación macroscópica de mohos inoculados el 24/08/21 en agar Papa dextrosa, Sabouraud, Agar crema de coco y Czapeck. • Identificación macroscópica de mohos inoculados en Agar Crema de coco inoculados el 26/08/21. • Planificación de itinerario para el día 01 de septiembre para elaboración de atol shuco. 	9
01/09/21	<ul style="list-style-type: none"> • Adecuación de instalaciones de laboratorio para crear un espacio para elaborar el atol shuco para investigación. 	7
02/09/21	<ul style="list-style-type: none"> • Adecuación de áreas de trabajo. • Preparación de Cámara de Flujo Laminar. • Capacitación de Técnica de Extensión en Placa, con medio selectivo Agar <i>Salmonella Shigella</i> para 20 placas. 	9
03/09/21	<ul style="list-style-type: none"> • Esterilización de materiales a utilizar para investigación en Autoclave, Esterilización en húmedo. • Cálculos para la preparación de medios de cultivo para investigación de Atol Shuco: Agar EMB, CETRIMIDE, CZ, PDA, PLATE COUNT, MRS y GYC. • Preparación por cálculos, solución de etanol al 70% para higienización de áreas de trabajo. 	5
06/09/21	<ul style="list-style-type: none"> • Inicio de preparación de Atol shuco: • Limpieza e higienización de equipos y utensilios de trabajo. • Limpieza e higienización de área de trabajo. • Preparación de fermentación de maíz negro. • Preparación de medios de cultivo por medio de cálculos matemáticos • Elaboración de medios de cultivo y plaqueo. 	9
07/09/21	<ul style="list-style-type: none"> • Esterilización de medios de cultivo agar MRS y GYC. • Esterilización de material a utilizar en laboratorio. • Calentar y homogenizar medios de cultivo ya preparados 24 horas antes; SBR, PLATE COUNT Y CETRIMIDE. 	8

	<ul style="list-style-type: none"> • Plaqueo de medios de cultivo • Elaboración de medio Agar EMB para 10 placas. • Inoculación de "Muestra Grano entero Fermentado" en nueve medios de cultivo: CZ, PLATE COUNT, CETRIMIDE, EMB, GYC, MRS, PDA y ACC. 	
08/09/21	<ul style="list-style-type: none"> • Inoculación de "Muestra de masa A" en ocho medios de cultivo: PLATE COUNT, CETRIMIDE, EMB, GYC, MRS, PDA Y ACC. • Inoculación de "Muestra de Sobrenadante B" en los ocho medios de cultivo. 	7
09/09/21	<ul style="list-style-type: none"> • Inoculación de muestra "Producto final (sin complementos)" en los ocho medios de cultivo 	7
10/09/21	<ul style="list-style-type: none"> • Preparación de cámara de Flujo Laminar. • Esterilización de cristalería a utilizar. • Vista de posible levadura o bacteria en agar Cz de "muestra de Maíz sin lavar", inoculado el 06/09/21. • Técnica de tinción al Gram y aceite de inmersión. • Inoculación de muestra "Producto Final con complementos (alhuashte, chile jalisco, sal y frijoles enteros)" en nueve medios de cultivo. • Adecuación de instalaciones para trabajar. 	8h y 30min
13/09/21	<ul style="list-style-type: none"> • Reunión de discusión de primeros resultados: • Progreso de investigación • Primeros resultados obtenidos. • Experiencias. • Pro y contras. • Revisión de placas inoculadas a partir del 06/09/21 hasta el 10/09/21. 	7
14/09/21	<ul style="list-style-type: none"> • Lectura de placas inoculadas el 06/09/21 en medios de cultivo ACC Y PDA; descripción macroscópica y microscópica. 	8
16/09/21	<ul style="list-style-type: none"> • Lectura de placas inoculadas el 07/09/21 y 08/09/21 en agar PDA y Sabouraud por descripción macroscópica y microscópica. • Tinción al Gram de muestras de PDA y SABOURAUD. 	8h y 30min
20/09/21	<ul style="list-style-type: none"> • Identificación microscópica de placas en agar Sabouraud grano entero y grano molido. • Reunión para revisión y organización de itinerario de laboratorio. 	7 horas
21/09/21	<ul style="list-style-type: none"> • Identificación microscópica de placas inoculadas en agar Sabouraud y PDA; Grano fermentado, masa, sobrenadante y producto final. 	7 horas
22/09/21	<ul style="list-style-type: none"> • Identificación microscópica de placas inoculadas en agar Sabouraud y PDA; sobrenadante y Producto final. 	7 horas
23/09/21	<ul style="list-style-type: none"> • Trabajo en casa: Vaciado de datos en fichas para la identificación de mohos. 	5 horas
24/09/21	<ul style="list-style-type: none"> • Revisión y corrección de fichas para reporte microbiológico. • Esterilización húmeda de materiales para realizar inoculaciones. • Llenado de fichas de identificación de mohos macroscópicamente y microscópicamente. 	6 horas

27/09/21	<ul style="list-style-type: none"> Trabajo en casa: Llenado de fichas de identificación macroscópica y microscópica de mohos. 	2 horas
28/09/21	<ul style="list-style-type: none"> Trabajo en casa: Llenado de fichas de identificación macroscópica y microscópica de mohos. 	2 horas
29/09/21	<ul style="list-style-type: none"> Trabajo en casa: Traducción de claves dicotómicas pertenecientes a la bibliografía Identificación de hongos patógenos, segunda edición. Colin K. Campbell, Elizabeth M. Johnson y David W. Warnock. © 2013 Agencia de Protección de la Salud. Publicado en 2013 por Blackwell Publishing Ltd. 	2 horas
30/09/21	<ul style="list-style-type: none"> Trabajo en casa: Traducción de claves dicotómicas pertenecientes a la bibliografía Identificación de hongos patógenos, segunda edición. Colin K. Campbell, Elizabeth M. Johnson y David W. Warnock. © 2013 Agencia de Protección de la Salud. Publicado en 2013 por Blackwell Publishing Ltd. 	3 horas
Del 04/10/21 al 08/10/21	<ul style="list-style-type: none"> Traducción de claves dicotómicas pertenecientes a la bibliografía Identificación de hongos patógenos, segunda edición. Colin K. Campbell, Elizabeth M. Johnson y David W. Warnock. © 2013 Agencia de Protección de la Salud. Publicado en 2013 por Blackwell Publishing Ltd. 	10 horas
11/10/21	<ul style="list-style-type: none"> Trabajo en casa: traducción de claves dicotómicas. 	3 horas
13/10/21	<ul style="list-style-type: none"> Plaqueo de medios de cultivo, 60 placas de Agar Crema de Coco Plaqueo de medio de cultivo PDA, 30 placas. Prueba de equipo para medición en porcentaje de azúcar de una muestra. 	6 horas
15/10/21	<ul style="list-style-type: none"> Restauración de mohos preservados en criobiales seleccionados. Inoculación de nuevos criobiales en agar selectivo, PDA, SBR, CZapeck. Reunión para adecuación de itinerario de trabajo. 	7 horas
Del 18 al 20 de octubre	<ul style="list-style-type: none"> Elaboración de presentación de claves dicotómicas de bibliografía "Identificación de hongos patógenos, segunda edición. Colin K. Campbell, Elizabeth M. Johnson y David W. Warnock. © 2013 Agencia de Protección de la Salud. Publicado en 2013 por Blackwell Publishing Ltd"; por medio del programa Power Point. 	12 horas
Jueves 21/10/21	<ul style="list-style-type: none"> Presentación en Power Point, de claves dicotómicas en video conferencia a través de la Plataforma Google Meet; según bibliografía de Colin K. Campbell, Elizabeth M. Johnson y David W. Warnock. © 2013. 	2 horas
Del 25 al 29 de octubre	<ul style="list-style-type: none"> Traducción de bibliografía: Detección de aislados toxigénicos de <i>Aspergillus flavus</i> y especies afines en agar crema de coco Sonya K. Dyer y Sharee McCammon 	10 horas
Del 03 al 05 de noviembre	<ul style="list-style-type: none"> Traducción de bibliografía: Filogenia, identificación y nomenclatura del género <i>Aspergillus</i>. RA Samson¹, CM Visagie¹, J. Houbraken¹, S.-B. Hong², V. Hubka³, CHW Klaassen⁴, G. Perrone⁵, KA Seifert⁶, A. Susca⁵, JB Tanney⁶, J. Varga⁷, S. Kocsub-e⁷, G. Szigeti⁷, T. Yaguchi⁸ y JC Frisvad. 	8 horas
Del 08 al 12 de noviembre	<ul style="list-style-type: none"> Traducción de bibliografía: Café, micotoxinas y cambio climático R. Russell M. Paterson a,*, Nelson Lima a, Marta H. Taniwaki B IBB-Centro de Ingeniería Biológica, Universidad de Minho, 4710-057 Braga, Portugal B Instituto de Tecnología de Alimentos (ITAL), Av. Brasil, 2880, Campinas, SP CEP 13.07178, Brasil. 	10 horas
Del 15 al 19 de noviembre	<ul style="list-style-type: none"> Elaboración de resúmenes: <ol style="list-style-type: none"> Mohos aislados toxigénicos de <i>Aspergillus flavus</i> y especies afines en agar crema de coco K. Dyer y Sharee Mc Cammon. 	8 horas

	<p>2. Café, micotoxinas y cambio climático. R. Russell M. Paterson a,*, Nelson Lima a, Marta H. Taniwaki B IBB-Centro de Ingeniería Biológica, Universidad de Minho, 4710-057 Braga, Portugal Instituto de Tecnología de Alimentos (ITAL), Av. Brasil, 2880, Campinas, SP CEP 13.07178, Brasil.</p>	
22/11/21	<ul style="list-style-type: none"> • Reunión para presentación de itinerario de actividades para el mes de noviembre. • Limpieza general del laboratorio (higienización) para mantener las condiciones adecuadas de trabajo. • Destrucción de placas inoculadas. • Lavado de cristalería de laboratorio. • Limpieza e higienización de cámara de flujo laminar para realizar plaqueo e inoculaciones de nuevas cepas. • Selección y separación de cepas a reconstituir. • Inoculación de tres cepas nuevas en medios Czapek, Agar PDA y ACC. 	7 horas
24/11/21	<ul style="list-style-type: none"> • Elaboración de medios de cultivo, PDA, Sabouraud y CZ. • Inoculación de tres cepas en agares, PDA, ACC y CZ. • Lavado de cristalería. 	7 horas
26/11/21	<ul style="list-style-type: none"> • Higienización de cámara de flujo laminar. • Plaqueo de agares: PDA, CZ y Sabouraud, 40 placas por medio. • Reunión y práctica de laboratorio de "Procesamiento de muestras de agua para consumo humano por método de Filtración por membrana, Colilert y Compact Dry. • Explicación de: Uso de cámara de flujo laminar. Método de toma de muestras de mohos inoculados para ver al microscopio. Tinción con azul de Lactofenol Explicación de lo que se puede observar y encontrar en el portaobjetos debido a las estructuras que presentan los mohos del género <i>Aspergillus</i> y <i>Penicillium</i>. 	5 horas
29/11/21	<ul style="list-style-type: none"> • Higienización de cámara de flujo laminar. • Restauración de 18 cepas con 200 micro litros. • Inoculación de 2 nuevas cepas en agares: CZ, PDA, ACC y Sabouraud. • Re-inoculación de 3 cepas en agar Crema de coco. • Lavado de portaobjetos para microscopio. 	6 horas
01/12/21	<ul style="list-style-type: none"> • Higienización de cámara de flujo laminar. • Inoculación de 3 cepas nuevas. • Visualización de cepas inoculadas el 22/11/21. • Lavado de cristalería. 	6 horas 30 min
03/12/21	<ul style="list-style-type: none"> • Higienización de área de trabajo. • Inoculación de cuatro cepas a recuperar, en medios selectivos, agar PDA, CZ Y SBR. 	6 horas 30 min
06/12/21	<ul style="list-style-type: none"> • Higienización de cámara de flujo laminar. • Elaboración y plaqueo de agar PDA Y SBR. 	6 horas 30 min

08/12/21	<ul style="list-style-type: none"> Higienización de área de trabajo. Plaqueo de agar Sabouraud 46 placas y agar Czapek, 36 placas- Reunión sobre Análisis de causa de inoculaciones, según Ishikawa. 	6 horas 30 min
10/12/21	<ul style="list-style-type: none"> Preparación e higienización de área de trabajo. Re- Inoculación de cinco cepas Lectura de placas inoculadas, con crecimiento, análisis de moho según St. Germain. 	6 horas 30 min
14/12/21	<ul style="list-style-type: none"> Ultimo día de lectura de placas inoculadas el 10-12-21. Verificación de características microscópicas. Reordenamiento de laboratorio para cierre. 	4 horas
2022		
21/02/22	<ul style="list-style-type: none"> Inicio de labores. Limpieza general de laboratorio Higienización de áreas de trabajo. Acondicionamiento de laboratorio y planificación de actividades. Conteo de inventario de medios de cultivo preparados en placas de Petri. 	6 horas
23/02/22	<ul style="list-style-type: none"> Preparación de medios de cultivo, agar Diclorán Rosa de Bengala. 	6 horas
25/02/22	<ul style="list-style-type: none"> Limpieza e higienización de cámara de flujo laminar. Inoculación de cepa (Pen 1) en medios de cultivo selectivos, agar PDA, ACC y Cz. 	6 horas 30 min
01/03/22	<ul style="list-style-type: none"> Lectura de placas de Petri inoculadas el 25 de febrero: Pen 2, Pen 1 y PEN 2/14z. por técnica de scotch en azul de lactofenol al microscopio al 40x. 	6 horas
02/03/22	<ul style="list-style-type: none"> Vista al microscopio de última cepa inoculada el 25-02-22. Elaboración de marcha analítica para purificación de muestras de café de mohos recuperados en ceparios, con el programa VIZIO. 	7 horas
03/03/22	<ul style="list-style-type: none"> Destrucción de placas ya analizadas. Destrucción por autoclave. Elaboración de medio agar PDA. 	7 horas
04/03/22	<ul style="list-style-type: none"> Limpieza de cámara de flujo laminar. Inoculación de tres cepas distintas (PEN 2*, PEN 2-10-1 y PEN 2/14Y) 	7 horas 30 min
07/03/22	<ul style="list-style-type: none"> Lectura de placas inoculadas el 04/03/22 Presentación de estudiantes en servicio social de metodología de trabajo. 	7 horas 30 min
09/03/22	<ul style="list-style-type: none"> Lectura de placas en microscopio, de cepas inoculadas el 04/03/22 y el 07/03/22. Revisión de crecimiento de cepas inoculadas el 07/03/22. Análisis de una cepa y sus características microscópicas. 	6 horas
11/03/22	<ul style="list-style-type: none"> Reunión con Lic. Oscar Iraheta, docente de la Licenciatura en Salud Ambiental, en la cual se revisaron las actividades realizadas en la pasantía y se planificación las futuras actividades a desarrollar. 	7 horas
14/03/22	<ul style="list-style-type: none"> Lectura de placas inoculadas el 11/03/22. (pen 3*, 4*, 1*) 	7 horas

16/03/22	<ul style="list-style-type: none"> • Reconfirmación de identificación al microscopio de pen 3*, 4* y 1* 	6 horas
21/03/22	<ul style="list-style-type: none"> • Identificación de claves dicotómicas. • Elaboración de recuadro comparativo de mohos inoculados. 	6 horas
23/03/22	<ul style="list-style-type: none"> • Preparación y esterilización de material de vidrio de laboratorio para siguiente inoculación. (Esterilización en seco en estufa). • Visualización de mohos para reconfirmación de mohos inoculados. • RE-inoculación de todas las cepas en investigación en ACC. 	7 horas
25/03/22	<ul style="list-style-type: none"> • Confirmación de fluorescencia en cepas inoculadas en agar coco, inoculadas el 23/03/22 • Preparación de ACC para 10 placas. 	7 horas
30/03/22	<ul style="list-style-type: none"> • Verificación de fluorescencia en todas las cepas de investigación inoculadas en ACC 	6 horas
01/04/22	<ul style="list-style-type: none"> • Rehidratación de criobiales con agua estéril las cepas en investigación. • Elaboración de medios de cultivo agar PDA, CZ, ACC y DRB 	8 horas
04/04/22	<ul style="list-style-type: none"> • Plaque de medios PDA, 18 placas; DRB 33 placas. • Inoculación de cepas en medios plaqueados. 	8 horas.
06/04/22	<ul style="list-style-type: none"> • Revisión de cepas Re-inoculadas en medios PDA Y DRB el 04/04/22 • Inicio de descripción de claves dicotómicas. • Adecuación de áreas de trabajo de laboratorio. 	6 horas
07/04/22	<ul style="list-style-type: none"> • Continuación de adecuación de áreas de trabajo de laboratorio. • Revisión de cepas inoculadas el 04/04/22 • Descripción de crecimientos y toma de muestras fotográficas para reporte de morfología. • Capacitación de uso de equipo nuevo de laboratorio (AQUALAB APP 4TE) para lectura de humedad en muestras de alimentos. 	8 horas
05/05/22	<ul style="list-style-type: none"> • Ambientación de laboratorio. • Calendarización de inoculaciones • Destrucción de muestras procedentes de proceso de análisis. • Lectura de muestras para mohos procedentes de muestras de café. • Inoculación de 3 cepas. 	7 horas
06/05/22	<ul style="list-style-type: none"> • Destrucción de muestras ya analizadas. • Lavado de placas y de cristalería de laboratorio. • Esterilización en seco de placas de vidrio para continuidad de los procedimientos de investigación. • Continuación de identificación de claves dicotómicas. 	7 horas
09/05/22	<ul style="list-style-type: none"> • Visualización de crecimiento, documentación fotográfica de mohos de grano de maíz. • Preparación para destrucción de muestras de grano de maíz. 	7 horas

	<ul style="list-style-type: none"> • Lavado de cristalería y esterilización en seco. • Cálculo para elaboración de medios Agar, PDA, CZ y DRB. 	
11/05/22	<ul style="list-style-type: none"> • Esterilización de cristalería para continuación de procesos. • Re-inoculación de 3 cepas, • Agar PDA, CZ y DRB. 	6 horas
16/05/22	<ul style="list-style-type: none"> • Lectura de placas de cepas inoculadas el 11/05/22 • Inicio de identificación de claves dicotómicas. 	5 horas
18/05/22	<ul style="list-style-type: none"> • Identificación de claves dicotómicas y revisión de crecimiento de cepas (sin cambios). 	5 horas
20/05/22	<ul style="list-style-type: none"> • Revisión y crecimiento de cepas. • Identificación de claves dicotómicas. 	5 horas
23/05/22	<ul style="list-style-type: none"> • Destrucción de muestras ya analizadas. • Cálculos para nuevos plaques. • Elaboración de medio agar DRB. 	6 horas
25/05/22	<ul style="list-style-type: none"> • Esterilización húmeda en autoclave para medios PDA y DRB. • Preparación de cámara de flujo laminar. • Plaqueo de medios. • Inoculación de cepas en agar DRB. 	7 horas
30/05/22	<ul style="list-style-type: none"> • Inoculación en agar PDA. 	5 horas
06/06/22	<ul style="list-style-type: none"> • Observación de inoculaciones, morfología y crecimiento. 	5 horas
13/06/22	<ul style="list-style-type: none"> • Revisión macroscópica y microscópica de mohos inoculados el 25/05/22 • Asesoría para revisión de correcciones de plan de acción. 	7 horas
16/06/22	<ul style="list-style-type: none"> • Revisión de cepas inoculadas. • Documentación de crecimiento. • Muestreo. • Elaboración de medio agar CZ 	6 horas
20/06/22	<ul style="list-style-type: none"> • Revisión al microscopio de cepas inoculadas el 06/06/22 • Documentación de información. • Elaboración de medio agar DRB. 	6 horas
24/06/22	<ul style="list-style-type: none"> • Purificación de criobiales con 2 o más cepas. • Elaboración de medio agar PDA y CZ. • Purificar cepas inoculadas el 16/06/22. • Reunión para determinación de nuevos cálculos para cepas restantes. 	7 horas
27/06/22	<ul style="list-style-type: none"> • Lectura de muestras para mohos procedentes de muestras de café. • Preparación de reactivos para laboratorio. 	6 horas

28/06/22	<ul style="list-style-type: none"> • Laboratorio de microscopia desarrollado con estudiantes de primer año de Licenciatura en Salud Ambiental. 	7 horas
01/07/22	<ul style="list-style-type: none"> • Laboratorio de microscopia desarrollado con estudiantes de primer año de Licenciatura en Salud Ambiental. 	7 horas
08/07/22	<ul style="list-style-type: none"> • Laboratorio de química general desarrollado con estudiantes de primer año de Licenciatura en Salud Ambiental. 	7 horas
11/07/22	<ul style="list-style-type: none"> • Reunión con Lic. Oscar Iraheta para revisar avances del proceso de investigación. 	7 horas
12/07/22	<ul style="list-style-type: none"> • Exposición semana del estudiante de química y farmacia 	5 horas
15/07/22	<ul style="list-style-type: none"> • Lavado de cristalería. • Elaboración de fichas de mohos 	5 horas
25/07/22	<ul style="list-style-type: none"> • Readecuación de instalaciones de laboratorio. • Elaboración de cronograma de actividades de investigación. • Inoculación de cepas en ACC. 	7 horas
27/07/22	<ul style="list-style-type: none"> • Preparación de medios ACC y DRB. 	
29/07/22	<ul style="list-style-type: none"> • Verificación de crecimiento de mohos en placas acc. • Determinación de fluorescencia. • Elaboración de bebida fermentada. 	6 horas
08/08/22	<ul style="list-style-type: none"> • Reordenamiento de cristalería • Destrucción de muestras utilizadas en procesos de análisis. 	5 horas
10/08/22	<ul style="list-style-type: none"> • Revisión de placas en ACC para determinación de fluorescencia. • Elaboración de higienizante para laboratorio. 	5 horas
11/08/22	<ul style="list-style-type: none"> • Inoculación de cepas para aislamiento y purificación en nuevos criobiales. • Inoculación de cepas en análisis. 	
15/08/22	<ul style="list-style-type: none"> • Plaqueo de medios para análisis de atol shuco. • Revisión de crecimiento en muestras de café. • Revisión de fluorescencia en muestras en ACC. 	7 horas
17/08/22	<ul style="list-style-type: none"> • Revisión de placas inoculadas y su crecimiento. • Documentación de hallazgos. 	6 horas
19/08/22	<ul style="list-style-type: none"> • Plaqueo e inoculación de nuevas cepas aisladas en nuevos criobiales (purificación). • Plaqueo de muestras en DRB. • Inoculación de nuevas cepas para su purificación. 	7 horas
22/08/22	<ul style="list-style-type: none"> • Revisión de crecimiento de cepas aisladas para su purificación. • Elaboración de medio Plate Count para muestras de shuco. 	6 horas
24/08/22	<ul style="list-style-type: none"> • Elaboración de higienizantes para laboratorio. • Realización de inoculación de placas EMB, CETRIMIDE y plate count por la técnica de estriado. 	6 horas

26/08/22	<ul style="list-style-type: none"> • Revisión de mohos aislados ya purificados inoculados el 19/08/22 • Documentación macro y microscópica de muestras. 	5 horas
29/08/22	<ul style="list-style-type: none"> • Revisión y registro fotográfico de cepas aisladas. • Revisión de crecimiento de cepas purificadas. • Preparación de higienizante para laboratorio. • Inicio de claves dicotómicas. 	5 horas
07/10/22	<ul style="list-style-type: none"> • Capacitación: Cómo hacer una discusión de resultados de investigación. 	1 hora

Nombre Completo	Enrique Stanley Argumedo Ochoa.	
Carrera:	<i>Licenciatura en Salud Ambiental.</i>	Carné: AO13019
Nombre del Proyecto de Investigación:	<i>Purificación de mohos extraídos de café verde, provenientes de Beneficios de café y aplicación de Técnica cromatográfica en capa fina para la identificación mohos productores de Ocratoxina A.</i>	
Institución:	<i>Universidad de El Salvador, Facultad de Química y Farmacia</i>	
Fecha de inicio del proyecto de investigación.	26/07/21	
Nombre del Tutor:	<i>Lic. Juan Agustín Cuadra Soto</i>	

FECHA	ACTIVIDADES REALIZADAS	Número de horas
Del 8 al 23 de julio de 2021	<ul style="list-style-type: none"> • Capacitación para uso de instrumental analítico y técnicas aplicadas al procesamiento bromatológico. • preparación de medios de cultivo. • Capacitación para la identificación de mohos. 	65 horas.
26 / 07 / 21	<ul style="list-style-type: none"> • Adecuación de condiciones de laboratorio para el desarrollo de procesos (ordenamiento). • Planificación de procesos. 	7 horas.
27 / 07 / 21	<ul style="list-style-type: none"> • Adecuación de condiciones de laboratorio para el desarrollo de procesos (ordenamiento). • Preparación y esterilización de medios para cultivo: CZ, PDA, SBR, ACC. 	7 horas.
28 / 07 / 21	<ul style="list-style-type: none"> • Preparación de medios de cultivo: CZ, PDA, SBR, ACC. • Entrevista para SIC UES. • Plaqueo (cultivo) de medios utilizando cámara de flujo laminar. 	8 horas.
29 / 07 / 21	<ul style="list-style-type: none"> • Instalación de equipo de computación. • Planificación de proyectos. 	7 horas.
09 / 08 / 21	<ul style="list-style-type: none"> • Calibración de balanza analítica (Nivelación). • Preparación de medios de cultivo: SBR, PDA, PLATE COUNT, CETRIMIDE, ROSA DE BENGALA. • Esterilización seca para instrumental. 	8 horas.
10 / 08 / 21	<ul style="list-style-type: none"> • Esterilización Húmeda para medios de cultivo: SBR, PDA, PLATE COUNT, CETRIMIDE, ROSA DE BENGALA. 	9 horas.

	<ul style="list-style-type: none"> • Adecuación de condiciones de laboratorio para el desarrollo de procesos (ordenamiento). • Lavado de Cristalería. • Inoculación con Atol Shuco procedente del mercado a medios de cultivo, utilizando la técnica de placa Vertida. • Procesamiento de muestras de sistema de agua potable mediante el uso de Coli Lert. 	
13 / 08 / 21	<ul style="list-style-type: none"> • Discusión de forma de trabajo y creación de protocolo en referencia a pasantía. • Lectura de resultados para muestra de agua potable mediante el uso de Coli Lert. • Verificación de crecimiento de microorganismos y conteo de colonias en placas inoculadas con Atol Shuco procedente de mercado de mejicanos y trabajadas mediante la técnica de placa vertida. 	5 horas.
16/08/21	<ul style="list-style-type: none"> • Preparación de solución salina. • Lavado de cristalería. • Esterilización de cristalería y medios de cultivo. • Inoculación con Horchata mediante el método de placa vertida. • Inoculación de medios de cultivo con muestra de queso roquefort (CZ, PDA, ACC, SBR). • Lavado de cámara de flujo laminar. 	
17 / 08 / 21	<ul style="list-style-type: none"> • Creación de cuenta en yandex. • Planificación de métodos de trabajo para elaboración de shuco (Publicación Científica). • Inoculación de medios con moho procedente de muestras de Shuco (Mercado). • Reordenamiento de áreas de trabajo ubicadas en el laboratorio de bromatología. • Identificación de mohos procedentes de café mediante tinción con lactofenol para ser vistos al microscopio. • Preparación de medios de cultivo. 	10 horas
18 / 08 / 21	<ul style="list-style-type: none"> • Verificación de crecimiento de colonias en medios de cultivo para muestras de queso roquefort y horchata. • Asistencia en el proceso de preparación para soluciones. • Aislamiento de moho no identificado procedente de shuco (Mercado). 	4 horas
19 / 08 / 21	<ul style="list-style-type: none"> • Esterilización en seco de espátula y pipetas. • Preparación de medios CZ y PDA. • Inoculación de salmonella a requesón para práctica estudiantil. • Verificación de mohos procedente de muestras de shuco (Mercado). • Inoculación de salmonella en placas compact dry TC. • Destrucción de placas inoculadas con mohos y bacterias mediante el uso de autoclave. 	10 horas
20 / 08 / 21	<ul style="list-style-type: none"> • Asistencia en práctica estudiantil para identificación de salmonella. 	8 horas.

	<ul style="list-style-type: none"> Adaptación de medios electrónicos para facilitar la identificación de microorganismos y su registro fotográfico (Prueba Piloto). Identificación de mohos procedentes de muestras de shuco y queso Roquefort Esterilización de cristalería Lavado de cámara de flujo laminar Cálculo de cantidades para preparación de medios de cultivo. 	
23 / 08 / 21	<ul style="list-style-type: none"> Preparación de medios de cultivo. Esterilización húmeda de medios de cultivo. Identificación de crecimiento de moho en muestras de queso roquefort (Descarte de muestras). Revisión de informe Atol Shuco 	8 horas
24 / 08 / 21	<ul style="list-style-type: none"> Planificación de proceso de investigación para pasantía. Redacción de plan de acción para pasantía. Inoculación de medios de cultivo PDA, CZ, ACC, SBR con muestras de criobiales procedentes de muestras de café. 	9 horas.
25 / 08 / 21	<ul style="list-style-type: none"> Conteo de colonias de salmonella en placas compact dry pertenecientes a práctica estudiantil. Elaboración de plan de acción para pasantía. Esterilización húmeda de soluciones a utilizar en práctica estudiantil. Toma de muestra en mohos de descarte (Muestras para reunión). 	7 horas.
26 / 05 / 21	<ul style="list-style-type: none"> Reunión para coordinación de pasantía y presentación de proyecto de investigación Identificación de mohos en café verde y detección OTA por parte de Licenciado Juan Cuadra. Verificación de crecimiento de mohos y descripción de morfología. 	8 horas.
27 / 08 / 21	<ul style="list-style-type: none"> Identificación de crecimiento de mohos y descripción de colonias. Discusión investigación científica: Atol Shuco. 	7 horas.
31 / 08 / 21	<ul style="list-style-type: none"> Exposición: Identificación morfológica de mohos. 	
01 / 09 / 21	<ul style="list-style-type: none"> Adecuación de condiciones del laboratorio para el desarrollo de actividades de investigación científica. 	7 horas.
02 / 09 / 21	<ul style="list-style-type: none"> Conversión de microscopio analógico a digital mediante el uso de la aplicación IVcam, Tripie para celular y router de laboratorio. Adecuación de condiciones del laboratorio para el desarrollo de actividades de investigación científica. Inoculación de Salmonella procedente de piel de pollo en solución salina a placa con agar S.S mediante el uso de la técnica de extensión en placa. Identificación de mohos procedentes de muestras aisladas de café verde. 	8 horas.
03 / 09 / 21	<ul style="list-style-type: none"> Esterilización húmeda de materiales a utilizar en proyecto de investigación Atol Shuco Preparación de Etanol al 70%. 	4 horas.

06 / 09 / 21	<ul style="list-style-type: none"> • Limpieza y desinfección de refrigerador para almacenamiento de medios de cultivo. • Conteo de medios de cultivo en existencia. • Inoculación de muestras de Maíz Negro en medios de cultivo: CZ, PDA, ACC, EMB Y CETRIMIDE. • Plaqueo de Agar MRS. • Lavado de cristalería. • Destrucción de material de descarte. 	8 horas.
07 / 09 / 21	<ul style="list-style-type: none"> • Plaqueo de medios de cultivo. • Preparación de maíz para procesamiento y muestreo. 	8 horas.
08 / 09 / 21	<ul style="list-style-type: none"> • Elaboración de Atol Shuco para la identificación de posibles mohos y bacterias. • Determinación de humedad relativa de grano de Maíz Negro. • Descripción y conteo de colonias bacterianas. 	7 horas.
09 / 09 / 21	<ul style="list-style-type: none"> • Descripción y conteo de colonias bacterianas y mohos. 	7 horas.
10 / 09 / 21	<ul style="list-style-type: none"> • Descripción y conteo de colonias bacterianas y mohos. 	8 horas.
13 / 09 / 21	<ul style="list-style-type: none"> • Determinación de fluorescencia en ACC para muestras de maíz. • Esterilización Húmeda de materiales a utilizar en procesos de laboratorio. • Preparación de Etanol. • Asistencia en preparación de vino a base de Maraón, con el fin de demostrar los procesos químicos y microbiológicos que participan en la generación de alcohol. • Lavado de cristalería. 	7 horas.
14 / 09 / 21	<ul style="list-style-type: none"> • Inoculación de muestras de Atol Shuco en placas GYC. • Conteo de colonias bacterianas en agar MRS y comprobación de microorganismos mediante tinción Gram. • Aislamiento e inoculación de mohos procedentes de muestras de Maíz Negro en placas ACC. 	8 horas.
16 / 09 / 21	<ul style="list-style-type: none"> • Conteo e Identificación de colonias bacterianas en medios: EMB, GYC, PLATE COUNT Y CETRIMIDE. 	8 horas.
20 / 09 / 21	<ul style="list-style-type: none"> • Limpieza (Desobstrucción) de autoclave digital. • Lavado de cristalería y demás materiales a utilizar en los procesos de investigación. • Lavado y desinfección de portaobjetos. 	7 horas.
21 / 09 / 21	<ul style="list-style-type: none"> • Lavado de cristalería. • Destrucción de material utilizado en el proceso de investigación. • Inoculación de medios para cultivo SBR, EMB, PLATE COUNT, GYC y MRS con muestras de producto final. • Preparación y esterilización húmeda de medio para cultivo MRS. • Identificación morfología de mohos. 	8 horas.

24 / 09 / 21	<ul style="list-style-type: none"> • Revisión y corrección de fichas para reporte microbiológico. • Esterilización húmeda de materiales para realizar inoculaciones. • Descripción de crecimiento de microorganismos en medios de cultivo: GYC, MRS, AMBIENTE(EMB), EMB, PLATE COUNT, SBR. • Tinción con lactofenol para identificación microscópica de microorganismos. • Tinción Gram. • Reinoculación de medios de cultivo: MRS, GYC, EMB y CETRIMIDE con muestras de proceso de AtoI Shuco. 	7 horas.
27 / 09 / 21	<ul style="list-style-type: none"> • Identificación morfológica de microorganismos. • Tinción Gram. • Destrucción de material utilizado en el proceso de investigación. • Inoculación en medio de cultivo GYC y ACC. 	7 horas.
Del 4 al 8 de octubre.	<ul style="list-style-type: none"> • Traducción de claves dicotómicas pertenecientes a la bibliografía Identificación de hongos patógenos, segunda edición. Colin K. Campbell, Elizabeth M. Johnson y David W. Warnock. © 2013 Agencia de Protección de la Salud. Publicado en 2013 por Blackwell Publishing Ltd. 	10 horas.
11 / 10 / 21	<ul style="list-style-type: none"> • Elaboración de medios para cultivo microbiológico ACC, PDA. • Identificación macroscópica de colonias bacterianas. • Preparación de cámara de flujo laminar. • Inoculación de muestras almacenadas en crioviales procedentes de muestras de café: PEN1, PEN2, PEN3, PEN4, PEN5, PEN1#, PEN2#, PEN3#, PEN4# y PEN5#, inoculados en ACC, CZ Y PDA. 	8 horas.
15 / 10 / 21	<ul style="list-style-type: none"> • Lectura de muestras almacenadas en crioviales procedentes de muestras de café. • Planificación de procesos para investigación. 	7 horas.
Del 18 al 20 de octubre	<ul style="list-style-type: none"> • Elaboración de presentación de claves dicotómicas de bibliografía "Identificación de hongos patógenos, segunda edición. Colin K. Campbell, Elizabeth M. Johnson y David W. Warnock. © 2013 Agencia de Protección de la Salud. Publicado en 2013 por Blackwell Publishing Ltd"; por medio del programa Power Point. 	12 horas
21/10/21	<ul style="list-style-type: none"> • Presentación en Power Point, de claves dicotómicas en video conferencia a través de la Plataforma Google Meet; según bibliografía de Colin K. Campbell, Elizabeth M. Johnson y David W. Warnock. © 2013. 	2 horas
Del 25 al 29 de octubre	<p>Traducción de bibliografía: Detección de aislados toxigénicos de <i>Aspergillus flavus</i> y especies afines en agar crema de coco</p> <ul style="list-style-type: none"> • Sonya K. Dyer y Sharee McCammon 	10 horas
Del 03 al 05 de noviembre	<ul style="list-style-type: none"> • Traducción de bibliografía: Filogenia, identificación y nomenclatura del género <i>Aspergillus</i>. RA Samson¹, CM Visagie¹, J. Houbraken¹, S.-B. Hong², V. Hubka³, CHW Klaassen⁴, G. Perrone⁵, KA Seifert⁶, A. Susca⁵, JB Tanney⁶, J. Varga⁷, S. Kocsub-e⁷, G. Szigeti⁷, T. Yaguchi⁸ y JC Frisvad. 	6 horas
Del 08 al 12 de noviembre	<ul style="list-style-type: none"> • Traducción de bibliografía: Café, micotoxinas y cambio climático • R. Russell M. Paterson a,*, Nelson Lima a, Marta H. Taniwaki B • IBB-Centro de Ingeniería Biológica, Universidad de Minho, 4710-057 Braga, Portugal B Instituto de Tecnología de Alimentos (ITAL), Av. Brasil, 2880, Campinas, SP CEP 13.07178, Brasil. 	10 horas
Del 15 al 19 de noviembre	<ul style="list-style-type: none"> • Elaboración de resúmenes: 2. de aislados toxigénicos de <i>Aspergillus flavus</i> y especies afines en agar crema de coco K. Dyer y Sharee McCammon. 	10 horas

	<p>2. Café, micotoxinas y cambio climático. R. Russell M. Paterson a,*, Nelson Lima a, Marta H. Taniwaki B</p> <ul style="list-style-type: none"> • IBB-Centro de Ingeniería Biológica, Universidad de Minho, 4710-057 Braga, Portugal • Instituto de Tecnología de Alimentos (ITAL), Av. Brasil, 2880, Campinas, SP CEP 13.07178, Brasil. 	
22/11/21	<ul style="list-style-type: none"> • Lavado de cristalería y autoclave. • Destrucción de muestras utilizadas durante procesamiento de muestras para detección de mohos en café. • Adecuación de condiciones para desarrollo de proyectos. 	7 horas.
24/11/21	<ul style="list-style-type: none"> • Planificación de actividades para continuación de proyectos. • Lavado de autoclave • Esterilización de medios para cultivo bacteriano y demás materiales a utilizar en procedimientos de laboratorio. • Destrucción de material procedente del procesamiento de muestras fúngicas y bacterianas. • Participación en proceso de destilamiento de bebida fermentada a base de marañón. 	8 horas.
26/11/21	<ul style="list-style-type: none"> • Elaboración de medio de cultivo para análisis de microorganismos PDA. • Capacitación a estudiantes de Licenciatura en Salud Ambiental referente a técnicas para procesamiento de muestras pertenecientes a sistemas de abastecimiento de agua potable / Técnica Coli Lert, Filtración por membrana, uso de Placas Compac Dry. • Limpieza de autoclave y cámara de flujo laminar. 	7 horas.
29 / 11 / 21	<ul style="list-style-type: none"> • Procesamiento e identificación de mohos pertenecientes a muestras de café. 	7 horas.
01 / 12 / 21	<ul style="list-style-type: none"> • Preparación de higienizantes para uso en procedimientos prácticos de laboratorio de bromatología / Etanol 80%. • Procesamiento e identificación de mohos pertenecientes a muestras de café. 	7 horas.
03 / 12 / 21	<ul style="list-style-type: none"> • Identificación de mohos pertenecientes a muestras de café. • Lavado de cristalería de laboratorio. • Esterilización en seco de cristalería. • Destrucción de material procedente del procesamiento de muestras fúngicas y bacterianas. 	7 horas.
06 / 12 / 21	<ul style="list-style-type: none"> • Identificación de mohos pertenecientes a muestras de café. • Presentación: Identificación de mohos y levaduras. 	7 horas.
08 / 12 / 21	<ul style="list-style-type: none"> • Identificación de mohos pertenecientes a muestras de café. • Destrucción de material procedente del procesamiento de muestras fúngicas y bacterianas. • Análisis de causa según Ishikawa. 	7 horas.
10 / 12 / 21	<ul style="list-style-type: none"> • Identificación de mohos pertenecientes a muestras de café. 	5 horas.
14 / 12 / 21	<ul style="list-style-type: none"> • Identificación de mohos pertenecientes a muestras de café. 	4 horas.

2022		
21 / 02 / 22	<ul style="list-style-type: none"> • Adecuación de condiciones de laboratorio. • Calendarización de actividades. • Lavado de autoclave • Esterilización de muestras y medios de cultivo para destrucción. 	7 horas.
23 / 02 / 22	<ul style="list-style-type: none"> • Preparación de medios de cultivo. • Planificación de actividades en laboratorio. • Lavado de autoclave. • Revisión Bibliográfica. 	7 horas.
25 / 02 / 22	<ul style="list-style-type: none"> • Inoculación de mohos en medios: PDA, CZ Y ACC. 	7 horas.
28 / 02 / 22	<ul style="list-style-type: none"> • Identificación de crecimiento en muestras inoculadas pertenecientes a las cepas, 2-14-z , Pen 1 , Pen 2. 	7 horas.
03 / 03 / 22	<ul style="list-style-type: none"> • Preparación de medios de cultivo (Calculo). • Plaqueo de medios de cultivo. • Esterilización medios de cultivo. • Planificación de actividades. 	9 horas.
04 / 03 / 22	<ul style="list-style-type: none"> • Lavado de cristalería. • Planificación de actividades. • Inoculación Pen 2# , Pen 2 – 10 – 1 , Pen 2-14y en medios ACC , PDA , CZ ,DRB. 	7 horas.
07 / 03 / 22	<ul style="list-style-type: none"> • Lectura de placas. 	7 horas.
09 / 03 / 22	<ul style="list-style-type: none"> • Lectura de placas. 	7 horas .
10 / 03 / 22	<ul style="list-style-type: none"> • Lavado de cristalería. • Asistencia en práctica de laboratorio. • Preparación de medios de cultivo. • Plaqueo de medios de cultivo. • Lectura de placas. 	8 horas.
11 / 03 / 22	<ul style="list-style-type: none"> • Reunión con Lic. Oscar Iraheta, docente de la Licenciatura en Salud Ambiental, en la cual se revisaron las actividades realizadas en la pasantía y se planificación las futuras actividades a desarrollar. 	7 horas.
14 / 03 / 22	<ul style="list-style-type: none"> • Lavado de autoclave. • Reabastecimiento de agua destilada, por problemas de contaminación química. • Lavado de cristalería. • Lectura de placas. • Destrucción de muestras utilizadas para la determinación de mohos en muestras de café. 	7 horas.
16 / 03 / 22	<ul style="list-style-type: none"> • Toma de muestras para lectura de placas. 	20 min.

23 / 03 / 22	<ul style="list-style-type: none"> • Lavado de cristalería. • Esterilización en seco de materiales a utilizar en procesos de laboratorio. • Revisión de documentación. • Lavado de autoclave. 	7 horas.
30 / 03 / 22	<ul style="list-style-type: none"> • Calculo y preparación de medio de cultivo DRB. • Revisión de desarrollo de mohos en medios de cultivo. • Tinción gran en muestras de maíz. 	8 horas.
01 / 04 / 22	<ul style="list-style-type: none"> • Preparación de medios de cultivo: PDA + ACIDO LACTICO, CZ, ACC, DRB. • Lavado de cristalería. 	7 horas.
04 / 04 / 22	<ul style="list-style-type: none"> • Calentamiento de medios de cultivo. • Revisión y destrucción de placas procedentes de muestras de mohos. • Verificación de fluorescencia en ACC. • Plaqueo de PDA + ACIDO LACTICO y placas restantes de DRB. • Inoculación de PEN 3, PEN 4* y PEN 1*. 	7 horas.
06 / 04 / 22	<ul style="list-style-type: none"> • Lectura de muestras para mohos procedentes de café. 	7 horas
07 / 04 / 22	<ul style="list-style-type: none"> • Adecuación de condiciones de laboratorio. • Lectura de muestras para mohos procedentes de café. • Capacitación uso de medidor de Aw. • Preparación de etanol. 	8 horas
05 / 05 / 22	<ul style="list-style-type: none"> • Destrucción de muestras procedentes de proceso de análisis. • Lectura de muestras para mohos procedentes de muestras de café. 	7 horas
06 / 05 / 22	<ul style="list-style-type: none"> • Lectura de muestras para mohos procedentes de muestras de café. 	7 horas
09 / 05 / 22	<ul style="list-style-type: none"> • Capacitación para elaboración de criobiales. • Lavado de cristalería. • Destrucción de muestras procedentes de proceso de análisis. • Discusión de métodos para potabilizar agua. 	7 horas
11 / 05 / 22	<ul style="list-style-type: none"> • Lavado de autoclave y cámara de flujo laminar. • Preparación de etanol. • Verificación de crecimiento de mohos. 	7 horas
16 / 05 / 22	<ul style="list-style-type: none"> • Lectura de muestras para mohos procedentes de muestras de café. 	4 horas
18 / 04 / 22	<ul style="list-style-type: none"> • Preparación de medio de cultivo Czpek. • Esterilización de papel filtro. • Asistencia al proceso de preparación de muestras para laboratorio de toxicología. 	8 horas
20 / 05 / 22	<ul style="list-style-type: none"> • Lavado de cámara de flujo laminar. • Re inoculación de PEN: 3,4* y 1*. 	7 horas.

23 / 05 / 22	<ul style="list-style-type: none"> • Lectura de muestras para mohos procedentes de muestras de café. • Destrucción de muestras procedentes de proceso de análisis. 	7 horas.
25 / 05 / 22	<ul style="list-style-type: none"> • Preparación de medio de cultivo. • Lectura de muestras para mohos procedentes de muestras de café. • Elaboración de criobial. 	7 horas.
30 / 05 / 22	<ul style="list-style-type: none"> • Re inoculación de PEN: 3,4* y 1*. 	6 horas.
08 / 06 / 22	<ul style="list-style-type: none"> • Creación de marcha analítica para elaboración de criobial. 	4 horas.
13 / 06 / 22	<ul style="list-style-type: none"> • Lectura de muestras para mohos procedentes de muestras de café. • Revisión y correcciones para plan de acción. 	8 horas.
15 / 06 / 22	<ul style="list-style-type: none"> • Lectura de muestras para mohos procedentes de muestras de café. 	7 horas.
16 / 06 / 22	<ul style="list-style-type: none"> • Lectura de muestras para mohos procedentes de muestras de café. • Comprobación mediante tinción al gran de contaminantes en muestras. 	7 horas.
20 / 06 / 22	<ul style="list-style-type: none"> • Preparación de medios de cultivo. • Capacitación sobre armado de destilador fraccionado. • Lectura de muestras para mohos procedentes de muestras de café. • Esterilización de materiales. 	8 horas.
24 / 06 / 22	<ul style="list-style-type: none"> • Lectura de muestras para mohos procedentes de muestras de café. • Revisión de documentos de investigación. 	7 horas.
27 / 06 / 22	<ul style="list-style-type: none"> • Lectura de muestras para mohos procedentes de muestras de café. • Preparación de reactivos para laboratorio. 	6 horas.
28 / 06 / 22	<ul style="list-style-type: none"> • Laboratorio de microscopia desarrollado con estudiantes de primer año de Licenciatura en Salud Ambiental. 	7 horas.
01 / 07 / 22	<ul style="list-style-type: none"> • Laboratorio de microscopia desarrollado con estudiantes de primer año de Licenciatura en Salud Ambiental. 	7 horas.
08 / 07 / 22	<ul style="list-style-type: none"> • Laboratorio de química general desarrollado con estudiantes de primer año de Licenciatura en Salud Ambiental. 	7 horas.
11 / 07 / 22	<ul style="list-style-type: none"> • Reunión con Lic. Oscar Iraheta para revisar avances del proceso de investigación. 	7 horas.
12 / 07 / 22	<ul style="list-style-type: none"> • Exposición semana del estudiante de química y farmacia 	5 horas.
15 / 07 / 22	<ul style="list-style-type: none"> • Lavado de cristalería. • Revisión de avance en documentos de investigación. • Planificación de procesos. 	6 horas.
25 / 07 / 22	<ul style="list-style-type: none"> • Adecuación de condiciones para trabajos de laboratorio. • Revisión de vaciado de datos para muestras de mohos en café. • Reinoculación de sepas en ACC. 	6 horas.
27 / 07 / 22	<ul style="list-style-type: none"> • Lavado de cristalería. • Procesamiento de materias primas para elaboración de bebida fermentada. 	6 horas.

29 / 07 / 22	<ul style="list-style-type: none"> • Verificación de crecimiento de mohos en placas acc. • Determinación de fluorescencia. • Elaboración de bebida fermentada. 	6 horas.
08 / 08 / 22	<ul style="list-style-type: none"> • Reordenamiento de cristalería • Reinoculacion Pen 1* • Verificación de fluorescencia en ACC • Destrucción de muestras utilizadas en procesos de análisis. 	7 horas.
10 / 08 / 22	<ul style="list-style-type: none"> • Verificación crecimiento de muestras de café grano oro • Capacitación de medidor grados Brix • Discusión acerca de procesos para inactivar fermentación. 	7 horas.
11 / 08 / 22	<ul style="list-style-type: none"> • Planificación de actividades. • Destrucción de muestras utilizadas en análisis bromatológico. • Verificación de crecimiento de cepas pertenecientes a mohos en café grano oro • Reinoculacion Pen 2-14x y pen 3 	7 horas.
12 / 08 / 22	<ul style="list-style-type: none"> • Planificación de proyecto Atol Shuco. • Destrucción de muestras pertenecientes a muestras de café grano oro. • Preparación de medios de cultivo EMB, CETRIMIDE, PLATE COUNT, GYC, MRS. • Esterilización de cristalería. • Preparación de agua peptonada. 	8 horas.
15 / 08 / 22	<ul style="list-style-type: none"> • Continuación de preparación de medios de cultivo y plaqueo • Lavado de cristalería. • Determinación de fluorescencia en Pen 2-14x, Pen 1, Pen 2-10-1, Pen 2-16, Pen 4# 	7 horas.
16 / 08 / 22	<ul style="list-style-type: none"> • Preparación de medios de cultivo. • Esterilización de materiales de laboratorio. • Lectura de Pen 1*, pen3, Pen 2-14 x. 	7 horas.
18 / 08 / 22	<ul style="list-style-type: none"> • Preparación de cámara de flujo laminar. • Inoculación de medios de cultivo con muestras de Atol Shuco. 	8 horas.
19 / 08 / 22	<ul style="list-style-type: none"> • Lectura de muestras pertenecientes a Atol Shuco. 	7 horas.
20 / 08 / 22	<ul style="list-style-type: none"> • Lectura de muestras pertenecientes a Atol Shuco. • Realización de tinciones gran. 	4 horas.
22 / 08 / 22	<ul style="list-style-type: none"> • Clarificación de experimento fermentación. • Destrucción de muestras pertenecientes a Atol Shuco y Café grano oro. 	7 horas.
23 / 08 / 22	<ul style="list-style-type: none"> • Reinoculacion de muestras de Atol Shuco. 	8 horas.
24 / 08 / 22	<ul style="list-style-type: none"> • Lectura de muestras pertenecientes a Atol Shuco. • Inoculación de muestras para practica Estudiantil. 	7 horas.

	<ul style="list-style-type: none"> • Análisis de causa según Ishikawa. 	
26 / 08 / 22	<ul style="list-style-type: none"> • Lectura de muestras pertenecientes a Atol Shuco. 	7 horas.
30 / 08 / 22	<ul style="list-style-type: none"> • Procesamiento de datos obtenidos en proyecto Atol Shuco. 	8 horas.
30 / 09 / 22	<ul style="list-style-type: none"> • Preparación de materiales y medios de cultivo para laboratorio estudiantil de análisis en agua potable 	7 horas.
05 / 10 / 22	<ul style="list-style-type: none"> • Laboratorio estudiantil de análisis para agua potable. 	7 horas.
06 / 10 / 22	<ul style="list-style-type: none"> • Discusión de resultados preliminares para laboratorio estudiantil de análisis para agua potable. 	7 horas.
07 / 10 / 22	<ul style="list-style-type: none"> • Capacitación: Como hacer una discusión de resultados. 	1 hora.

ANEXO 3. FICHAS DE PROCESAMIENTO PARA MUESTRAS DE MOHOS.

		UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR					
		FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA					
		DEPARTAMENTO DE BIOQUIMICA Y CONTAMINACION AMBIENTAL					
		SECCION DE MICROBIOLOGIA					
No de Ficha:		St. Germain y Summerbell. 2011. Identifying Fungi: A Clinical Laboratory Handbook		Metodo de Conservación:		papel filtro en agua destilada	
Clave dicotómica:				Género:			
Fecha de Recolección:		jul-17		Fecha de Conservación:		oct-19	
Lugar de Recolección:		EA125071608H Hongo 6		Fuente de Recolección:		café pergamino	
Condiciones de Crecimiento:		Temperatura ambiente		Condiciones de Almacenamiento:		Temperatura ambiente	
IDENTIFICACION							
Pruebas Bioquímicas:		Resultado:					
CARACTERISTICAS MORFOLOGICAS							
Características Macroscópicas				Características Microscópicas			
Medio de Cultivo	Fecha de Esterilización	Descripción del Crecimiento	Fotografía	Observaciones generales		Fotografía	
Czapeck				Abundante presencia de bacterias de tipo bacilo. Muestra no recuperada.			
PDA							
Crema de coco				Tipo de Micelio	Tipo de Hifa	Tipo de Espora	Tipo de Conidios
				Unicelular <input type="checkbox"/>	Microsifonada <input type="checkbox"/>	Ascosporas <input type="checkbox"/>	Fialoconidia <input type="checkbox"/>
				Pluricelular <input type="checkbox"/>	Macrosifonada <input type="checkbox"/>	Basidiosporas <input type="checkbox"/>	Blastoconidia <input type="checkbox"/>
				Dimorfo <input type="checkbox"/>	Septada <input type="checkbox"/>	Zygosporas <input type="checkbox"/>	Aneloconidia <input type="checkbox"/>
DRB				Observación:			Poroconidia <input type="checkbox"/>
							Arthroconidia <input type="checkbox"/>
							Aleuroconidia <input type="checkbox"/>
						Clamidospora <input type="checkbox"/>	
ANALISTA:				FIRMA:			



UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA
DEPARTAMENTO DE BIOQUIMICA Y CONTAMINACION AMBIENTAL
SECCION DE MICROBIOLOGIA



No de Ficha:	PEN 2/18A-2	Metodo de Conservación:	papel filtro en agua destilada
Clave dicotómica:	St. Germain y Summerbell, 2011. Identifying Fungi: A Clinical Laboratory Handbook	Género:	
Fecha de Recolección:	Juli-17	Fecha de Conservación:	Oct-19
Lugar de Recolección:	EA12507T1608H Hongo 6	Fuente de Recolección:	café pergamino
Condiciones de Crecimiento:	Temperatura ambiente	Condiciones de Almacenamiento:	Temperatura ambiente

IDENTIFICACION

Pruebas Bioquímicas:	Resultado:

CARACTERISTICAS MORFOLOGICAS

Características Macroscópicas				Características Microscópicas																												
Medio de Cultivo	Fecha de Esterilización	Descripción del Crecimiento	fotografía anverso	Fotografía reverso	Observaciones generales	Fotografía																										
Czapeck	Aug-21	Forma de micelio aterciopelado, superficie pana plegada de color anverso verde y centro amarillo con radial blanco y reverso color beige, sin pigmentación.			Secuencia clave dicotómica: 21a, 29a, 33a, 75a, 86a, 122a, 131a, 132a, 134, 135. <i>Penicillium</i>																											
PDA	Aug-21	Forma de micelio aterciopelado, de superficie plana, color verde grisáceo, con centro blanco y halo blanco. Reverso beige, y sin pigmentación.																														
Crema de coco	Aug-21	Fluorescencia presente			<table border="1"> <tr> <th>Tipo de Micelio</th> <th>Tipo de Hifa</th> <th>Tipo de Espora</th> <th>Tipo de Conidios</th> </tr> <tr> <td>Unicelular <input type="checkbox"/></td> <td>Microsifonada <input type="checkbox"/></td> <td>Ascosporas <input type="checkbox"/></td> <td>Fialoconidia <input checked="" type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td>Pluricelular <input checked="" type="checkbox"/></td> <td>Macrosifonada <input checked="" type="checkbox"/></td> <td>Basidiosporas <input type="checkbox"/></td> <td>Blastoconidia <input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td>Dimorfico <input type="checkbox"/></td> <td>Septada <input checked="" type="checkbox"/></td> <td>Zygosporas <input type="checkbox"/></td> <td>Aneloconidia <input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td></td> <td>Cenocítica <input type="checkbox"/></td> <td></td> <td>Poroconidia <input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td></td> <td>Aseptada <input type="checkbox"/></td> <td></td> <td>Arthroconidia <input type="checkbox"/></td> </tr> </table>	Tipo de Micelio	Tipo de Hifa	Tipo de Espora	Tipo de Conidios	Unicelular <input type="checkbox"/>	Microsifonada <input type="checkbox"/>	Ascosporas <input type="checkbox"/>	Fialoconidia <input checked="" type="checkbox"/>	Pluricelular <input checked="" type="checkbox"/>	Macrosifonada <input checked="" type="checkbox"/>	Basidiosporas <input type="checkbox"/>	Blastoconidia <input type="checkbox"/>	Dimorfico <input type="checkbox"/>	Septada <input checked="" type="checkbox"/>	Zygosporas <input type="checkbox"/>	Aneloconidia <input type="checkbox"/>		Cenocítica <input type="checkbox"/>		Poroconidia <input type="checkbox"/>		Aseptada <input type="checkbox"/>		Arthroconidia <input type="checkbox"/>			
Tipo de Micelio	Tipo de Hifa	Tipo de Espora	Tipo de Conidios																													
Unicelular <input type="checkbox"/>	Microsifonada <input type="checkbox"/>	Ascosporas <input type="checkbox"/>	Fialoconidia <input checked="" type="checkbox"/>																													
Pluricelular <input checked="" type="checkbox"/>	Macrosifonada <input checked="" type="checkbox"/>	Basidiosporas <input type="checkbox"/>	Blastoconidia <input type="checkbox"/>																													
Dimorfico <input type="checkbox"/>	Septada <input checked="" type="checkbox"/>	Zygosporas <input type="checkbox"/>	Aneloconidia <input type="checkbox"/>																													
	Cenocítica <input type="checkbox"/>		Poroconidia <input type="checkbox"/>																													
	Aseptada <input type="checkbox"/>		Arthroconidia <input type="checkbox"/>																													
Dicloran Rosa de Bengala: PURIFICADO DEBIDO AL CRECIMIENTO DE 2 CEPAS EN EL MISMO CRIOBIAL	Aug-22	Micelio aterciopelado con centro algodonoso, de superficie umbonada y un poco crateriforme, extremos de colores plegados. Color celeste acua.			Observación: Ambas cepas inoculadas en DRB presentan las mismas características, a diferencia del color en su crecimiento.																											
	8/29/2022	Micelio aterciopelado con centro algodonoso, de superficie umbonada y un poco crateriforme, extremos de colores plegados. Color celeste acua.			conidios unicelulares redondos y ovalados, pie celular y métulas cortas de paredes rugosas, con filídes alargadas en punta y conidios en cadenas sueltas.		Aleuroconidia <input type="checkbox"/> Clamidospora <input type="checkbox"/>																									

ANALISTA:

FIRMA:

Anexo 4. Desarrollo de actividades durante Pasantía de Investigación.

Actividades Pasantía de Investigación.	
Fotografía	Descripción
	<p>Toma de muestras de mohos inoculados, para visualización en microscopio, utilizando la técnica de la cinta adhesiva.</p>
	<p>Entrevista realizada por YSUES Radio Universitaria al Lic. Juan Cuadra, sobre el trabajo que se realiza en el laboratorio de Bromatología y las investigaciones que se llevaban a cabo; (nuestra pasantía en ese momento).</p>
	



Manejo de equipos pertenecientes a laboratorio de análisis químico e instrumental para el desarrollo de actividades bromatológicas.



Elaboración de medios de cultivo para estudio de microorganismos presentes en café y otras matrices alimentarias.



Inoculación de medios de cultivo con sepas de mohos resguardadas en Crioviales, con el fin de determinar sus características morfológicas y potencial toxigenico.



Desarrollo de prácticas estudiantiles pertenecientes a técnicas microbiológicas, químicas y agua para consumo humano.





Lectura y confirmación de microorganismos (Mohos y Bacterias) por medio del método de tinción al gran y fluorescencia utilizando luz ultravioleta.



Purificación de etanol para utilizarlo con fines de higienización en áreas de trabajo, por medio de destilación.



Elaboración de reactivos (Biuret) para el apoyo a prácticas de laboratorio de los estudiantes de primer año de Lic. En Salud Ambiental.



Desarrollo de estudios bromatológicos utilizando métodos tradicionales y pruebas bioquímicas rápidas.



Estudio del proceso de Fermentación de frutas para la obtención de subproductos.



Reunión y presentación de avances y resultados encontrados en la investigación de AtoI Shuco. "An traditional Corn-Fermented Salvadorian Beverage: Phytochemical, Microbiological and Nutritional Considerations".



Participación en actividades bromatológicas (Diseño experimental, Representación estudiantil durante divulgación de artículo científico, Análisis microbiológico, Interpretación de resultados y Redacción de informes técnicos) durante el desarrollo de investigación en coordinación con universidad de Illinois.

