

Herminia Manuela Arriola Almada¹ 

<https://orcid.org/0000-0003-3566-6593>

¹Universidad Nacional de Itapúa. Dirección de Investigación y Ambiente. Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales, Encarnación, Paraguay, arriola.manuela@gmail.com

Diana Patricia Chavez Pereira² 

<https://orcid.org/0000-0003-3662-837X>

²Universidad Nacional de Itapúa Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales, Encarnación, Paraguay, dchavez@facaf.uni.edu.py

Lidia Quintana³ 

<https://orcid.org/0000-0002-8889-0970>

³Universidad Nacional de Itapúa Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales, Encarnación, Paraguay, lviedmaq@gmail.com

Resumen

El consumo de la yerba mate en el Paraguay es tradicional y su demanda cada vez es mayor considerando que es un producto básico que forma parte del consumo alimenticio de las familias paraguayas. La yerba mate es un producto muy expuesto al ataque de microorganismos contaminantes, principalmente por los hongos que se encuentran en el producto elaborado, alterando su contenido. Teniendo en cuenta esta problemática se realizó el trabajo de investigación con el objetivo de identificar los hongos presentes en las muestras de yerba mate compuesta de distintas marcas comerciales. La investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Fitopatología de la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales de la Universidad Nacional de Itapúa, sede General Artigas. Se utilizó el diseño completamente al azar con 15 tratamientos que consistieron en muestras de yerba mate compuesta de distintas marcas provenientes del Departamento de Itapúa. El recuento de hongos se realizó empleando el método de diseminación en superficie en agar-cloranfenicol de acuerdo con la metodología propuesta en la Norma IRAM 20517: 2004 y 2007. Se identificaron géneros de hongos asociados a la yerba mate compuesta mediante la observación directa en microscopio de las estructuras fúngicas. Los resultados indican mayor incidencia de los géneros de *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium* en la yerba mate tipo compuesta, registrándose valores dentro de los criterios establecidos en la Norma Paraguaya para yerba mate compuesta NP 3500201 (5000 UFC/g).

Palabras clave: *Illex paraguariensis*, inocuidad alimentaria, cuantificación de microorganismos contaminantes

Abstract

Human consumption of yerba mate in Paraguay is traditional and its demand is increasing, considering that it is a basic product of the food consumption of Paraguayan families. Yerba mate is a product highly exposed to the attack of contaminating microorganisms, mainly by the fungi found in the elaborated product, altering its content. Considering this problem, the research work was carried out with the aim of identifying the fungi present in the yerba mate samples composed of different commercial brands. The research was carried out in the Plant Pathology Laboratory of the Faculty of Agricultural and Forestry Sciences at the National University of Itapúa. A completely randomized design was used with 15 treatments that consisted of yerba mate samples of different brands. The fungus count was carried out using the surface dissemination method in chloramphenicol agar according to the methodology proposed in IRAM Standard 20517: 2004 and 2007. As a result, three genera associated with the yerba mate compound were identified: *Aspergillus*, *Penicillium* and *Fusarium*, all of them with incidence within the criteria established in the Paraguayan Standard for compound yerba mate NP 3500201 (5,000 CFU / g).

Keywords: *Illex paraguariensis*, Food safety, quantification of contaminating microorganisms.

Área del conocimiento: Ciencias Agrarias

Correo de Correspondencia: arriola.manuela@gmail.com

Conflictos de Interés: Los autores declaran no tener conflictos de intereses

 Este es un artículo publicado en acceso abierto bajo una licencia Creative Commons CC-BY

Fecha de recepción: 08/10/2019

Fecha de Aprobación: 04/09/2020

Página Web: <http://publicaciones.uni.edu.py/index.php/rseisa>

Citación recomendada: Arriola Almada, H. M., Chavez Pereira D. P., Quintana, L., (2020). Incidencia de hongos en muestras de yerba mate compuesta en el departamento de Itapúa. Revista sobre estudios e investigaciones del saber académico (Encarnación), 14(14): 03-06

Introducción

La yerba mate (*Illex paraguariensis* Saint Hilaire) forma parte del consumo básico alimenticio de las familias paraguayas y su producción ha demandado importancia agrícola, económica y social por formar parte de la cultura nacional. Se puede afirmar asimismo que es un cultivo estratégico para el sector productivo, industrial y comercial teniendo en cuenta que forma parte de la cadena de valor de la yerba mate.

Las principales zonas agroecológicas están localizadas en los departamentos de Itapúa, Alto Paraná, Guairá, Caazapá, San Pedro y Canindeyú, donde se concentra la mano de obra productiva nacional (Masloff, 2013)

La yerba mate posee propiedades nutricionales para el organismo del ser humano incrementando de esta manera el equilibrio y balance de sus elementos. Entre sus propiedades se destaca el efecto que produce sobre el nivel de pH en el organismo del ser humano, creando una zona alcalina, estimulando el sistema nervioso y contribuyendo con nutrientes que ayudan a la claridad mental que es la principal propiedad de la cafeína (USAID, 2006).

Desde el punto de vista sanitario, la yerba es un producto muy expuesto al ataque de microorganismos contaminantes, principalmente por los hongos que se encuentran en el ambiente durante el procesamiento y almacenamiento del producto elaborado alterando su contenido, ya sea de la yerba mate compuesta o la tradicional.

Algunos de los hongos filamentosos encontrados en muestras de yerba son los géneros *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium*, constituyéndose algunas especies en productores potenciales de micotoxinas que al ser ingeridas como alimento de animales y humanos causan alteraciones biológicas perjudiciales para la salud (Castrillo et al., 2013).

Jerke et al. (2009) determinaron altos niveles de incidencia de géneros de hongos micotoxigénicos como *Aspergillus* (83%), *Penicillium* (26%) *Fusarium* (15%) en muestras de yerba mate en la Provincia de Misiones, Argentina. Estudios realizados en nuestro país por Pérez et al. (2013) sobre perfil micológico de la yerba mate mostraron que no todas las muestras analizadas cumplen con los criterios establecidos en la Norma Paraguaya para yerba mate compuesta NP 3500201 (5000 UFC/g).

Ante esta problemática, el objetivo del presente trabajo fue identificar y cuantificar los principales géneros de hongos presentes en muestras de yerba mate compuesta de las distintas marcas comerciales provenientes del Departamento de Itapúa, teniendo en cuenta que es una zona considerada de alta humedad en el ambiente.

Materiales y Métodos

La investigación se realizó en el Laboratorio de Fitopatología de la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales de la Universidad Nacional de Itapúa sede

General Artigas, Itapúa, ubicado en el casco urbano de la ciudad (26°56'03,09''S 56°13'40,01). El periodo de ejecución del trabajo de investigación, desde la recolección de muestras hasta el análisis de los resultados, abarcó desde marzo del 2018 hasta octubre del 2019.

Se utilizó el diseño completamente al azar con 15 tratamientos, que consistieron en muestras de yerba mate compuesta de distintas marcas provenientes de los centros de distribución del Departamento de Itapúa. Para el estudio se utilizaron las muestras comercializadas en envases de plástico sellados. Inmediatamente después de su recolección las muestras fueron analizadas.

El recuento se realizó empleando el método de diseminación en superficie en agar-cloranfenicol de acuerdo con la metodología propuesta en la Norma IRAM 20517: 2004 y 2007. El procedimiento consistió en el pesaje de 10 g de las muestras y luego la dilución en 90 ml de solución fisiológica peptonada, obteniendo así la dilución 1/10 y a partir de la cual se obtuvieron las sucesivas diluciones decimales. Luego se inocularon cada una de las diluciones en placas de Petri contenidas con medio de cultivo y se procedió a la diseminación del inóculo con una espátula. Todas las placas fueron incubadas en estufa de cultivo a una temperatura de 25°C por siete días.

La identificación de géneros de hongos se realizó observando directamente las estructuras de los hongos al microscopio (400 x) y se compararon con manuales de identificación de géneros de hongos de almacenamiento (Singh et al., 1991; Barnett, 1998)

Recuento de los principales géneros de hongos

El recuento fúngico total por medio de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) por gramo de medio de cultivo se obtuvo aplicando la siguiente fórmula

$$UFC/g = \frac{\sum_n}{[fa + fbx(0,1) + fc x (0,01)]. d. v}$$

En donde el numerador es el sumatorio total de las colonias y en el denominador:

Fa: número de placas de la primera dilución

Fb: Número de placas de la segunda dilución

Fc: Número de placas de la tercera dilución

Teniendo en cuenta que son tres diluciones, se consideró

d: Valor de la primera dilución

v: Volumen de siembra

Luego los datos obtenidos fueron sometidos al análisis de varianza de acuerdo al diseño utilizado, mediante el paquete estadístico *InfoStat* (Di Rienzo et al. 2011). Para las medias que resultaron con diferencias se utilizó el test de Duncan al 5% de probabilidad de error. Antes de someter los datos al análisis de varianza se realizó un análisis exploratorio de los mismos para verificar si cumplen con los supuestos del ANAVA, usando la Prueba de Shapiro-Wilks para normalidad de residuos.

Tabla 1.
Descripción de los Tratamientos evaluados correspondientes a la yerba mate compuesta en el trabajo de investigación.

Tratamientos	Código de la Muestra	Distritos muestreados
T1	M1YMC	General Artigas
T2	M2YMC	Carmen del Paraná
T3	M3YMC	San Pedro del Paraná
T4	M4YMC	Encarnación
T5	M5YMC	La Paz
T6	M6YMC	Fram
T7	M7YMC	Alto Vera
T8	M8YMC	Bella Vista
T9	M9YMC	Hohenau
T10	M10YMC	San Cosme
T11	M11YMC	Coronel Bogado
T12	M12YMC	Capitán Miranda
T13	M13YMC	Trinidad
T14	M14YMC	General Delgado
T15	M15YMC	Leandro Oviedo

Resultados y discusión

En la tabla 2 se presentan los resultados de las medias de unidades formadoras de colonias de los principales géneros de hongos identificados.

Tabla 2.
Medias de las unidades formadoras de colonias (UFC/g) de los diferentes géneros obtenidas de las muestras de yerba mate compuesta.

Tratamientos	<i>Aspergillus</i> sp.	<i>Penicillium</i> sp.	<i>Fusarium</i> sp.
T1 YMC	334,33	G	230,92
T2 YMC	461,56	E	342,14
T3 YMC	136,63	K	114,41
T4 YMC	266,96	H	271,77
T5 YMC	517,51	BCD	286,48
T6 YMC	583,78	A	480,88
T7 YMC	215,81	I	32,34
T8 YMC	540,84	ABC	155,95
T9 YMC	157,55	JK	144,54
T10 YMC	401,19	F	275,57
T11 YMC	569,16	AB	528,92
T12 YMC	177,87	J	362,66
T13 YMC	506,00	CD	267,66
T14 YMC	474,37	DE	358,95
T15 YMC	538,83	ABC	200,19
Promedio	392,16		270,23
FC	155,00**	78,88**	120,58**
CV (%)	3,20	9,63	6,43

FC = F calculada; CV = Coeficiente de variación.

** Significativo al 1% de probabilidad de error por la prueba de F.

Medias con una letra común no son significativamente diferentes.

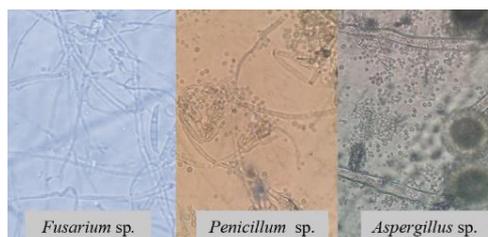
Los valores obtenidos para los tres géneros de hongos se encuentran en el rango de 0 a 583 UFC/g, por debajo de los criterios establecidos en la Norma Paraguaya para yerba mate compuesta NP 3500201 (5000 UFC/g). Los mayores valores de incidencia del género *Aspergillus*, por encima de las 500 UFC/g, se observaron en el 40% de las localidades evaluadas; sin embargo, para el género *Penicillium*, solamente la muestra proveniente de una localidad mostró valores superiores a 500 UFC/g. El género *Fusarium* registró valores muy por debajo con relación a los otros tipos de géneros, llegando incluso a observarse nula incidencia.

La incidencia de los géneros *Aspergillus* sp. y *Penicillium* sp. pudo ser favorecida por la facilidad de crecimiento de los hongos en condiciones predisponentes como la presencia de humedad en el almacenamiento. Estos resultados coinciden con los obtenidos por Sapper et al. (2011) quienes cuantificaron los géneros de hongos presentes en mayor frecuencia en

120 muestras de yerba mate compuesta, encontrando los géneros *Aspergillus*, *Absidia*, *Penicillium*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Fusarium* y *Alternaria* como los más comunes en 5 marcas comerciales.

En la figura 1 se presenta la estructura microscópica de los géneros *Fusarium*, *Penicillium* y *Aspergillus* provenientes de 15 muestras de yerba colectadas en el departamento de Itapúa

Figura 1.
Características morfológicas de 3 géneros de hongos en muestras de yerba mate compuesta.



Las características morfológicas de los tres géneros identificados se describen a continuación:

El género *Aspergillus* denota la presencia de la cabeza aspergilar, estípites, méticas o fiálides y conidios. El género *Aspergillus* es un hongo filamentosos hialinos y de fácil crecimiento.

El género *Penicillium* está conformado por la presencia de conidios, fiálides, méticas y conidióforo, estructuras importantes para la identificación del hongo, el género *Penicillium* es

un hongo filamentosos que presenta conidióforos tabicados e hialinos.

El género *Fusarium* tiene micelio hialino tabicado con presencia de conidios hialinos tabicados con prominente célula pie. Algunas especies presentan macro y microconidios.

Las características descritas son similares a lo reportado en la literatura internacional (Singh et al. 1991; Barnett, 1998) para los géneros de hongos estudiados.

Conclusión

En muestras de yerba mate compuesta del departamento de Itapúa se identificaron 3 géneros de hongos, de los cuales *Aspergillus* sp. y *Penicillium* sp. presentaron mayor incidencia con relación al género *Fusarium* sp. registró un bajo nivel de incidencia.

Las muestras analizadas se encuentran dentro de las referencias establecida por las Normas Paraguayas (NP).

Agradecimientos

A la Universidad Nacional de Itapúa y Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales por el acompañamiento constante en el desarrollo del trabajo. Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología

(CONACYT) por el financiamiento del proyecto de investigación “Determinación del estado sanitario de la yerba mate elaborada de las distintas marcas comerciales existentes en el departamento de Itapúa”

Referencias Bibliográficas

Barnett, H.L. (1998). *Illustrated Genera Imperfect Fungi*. 4 ed. Saint Paul, MN, *APS press*, 218 p.

Castrillo, M.L., Horianski, M.A., Jerke, G. (2013). Aislamiento de cepas de *Aspergillus* sección Nigri en la yerba mate comercializada en Posadas (Misiones, Argentina) y evaluación de su potencial ocratoxigénico. *Revista Argentina de Microbiología* 45(2), 110–113

Di Rienzo, J.A., Casanove, F., Balgarini, M.G., Gonzales, L., Tablada, M. y Robledo, C.W. (2013). Info Stat versión 2011. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, URL <http://www.InfoStat.com.ar>

González, C.E., Albrecht, M., Sapper, M., Reckziegel, Y., Fretes, R., Samaniego, J. y Paredes, C. (2012). Recuento y caracterización de hongos en yerba mate compuesta con hierbas aromáticas. *Revista sobre Estudios e Investigaciones del Saber Académico*, Encarnación, PY. 6:44-48.

Jerke, G., Horianski, M.A. y Salvatierra K.A. (2009). Evaluación de géneros micotoxigénicos en yerba mate elaborada. *Revista Cienc. Tecnol, Posadas* 11: 41–45

Masloff, V. (2013). *Yerba Mate. Compendio de Experiencias en la recuperación de agroecosistemas yerbateros*. Encarnación, Paraguay. 93 pág.

Pérez Paiva, J., Piris Morales, L., Ulke Mayans G., Arias Villalba M., Mendoza de Arbo, L y Sánchez Bernal, S. (2013). Evaluación del perfil micológico de la yerba mate durante el proceso productivo y producto final en establecimientos yerbateros. Paraguay 2012. *Rev. Salud Publica* 3: 8–13.

Sapper, M., Fretes, R., Paredes, C., Reckziegel, Y., Samaniego, J., González, C. (2011). Recuento y caracterización de hongos en yerba mate compuesta con hierbas aromáticas. Universidad Nacional de Itapúa Facultad de Ciencias y Tecnología. Encarnación, Itapúa, Paraguay. <http://www.uni.edu.py/admin/revistas/Cientifica%202012.pdf>

Singh, K., Frisvad, J.C., Thrane, U. y Mathur, S.B. (1991). *An Illustrated Manual on Identification of some Seed-borne Aspergilli, Fusaria, Penicillia and their Mycotoxins*. Department of Biotechnology. The Technical University of Denmark. 133 p.