

Diferenciación de tratamientos post-cosecha y/o de zonas geográficas con PCR-DGGE sobre muestras de café

DURAND, Noël*, SUAREZ-QUIROZ, Mirna-Leonor**, MEILE, Jean-Christophe*,
FONTANA Angélique*, MACIA, Isabel***, BASTIDE, Philippe*, MARTINEZ, Amaury****, MONTET,
Didier*.

*. UMR Qualisud (CIRAD, Université Montpellier II), 34095 Montpellier Cedex 5, France.

**. Instituto Tecnológico de Veracruz, 91860 Veracruz, Mexico.

***. Universidad UNELLEZ, Guanare, Venezuela.

****. Universidad UCB, Caracas, Venezuela.

Miércoles 29/05/13



CIRAD

CIRAD: Center International Research for the Development

CIRAD es un centro francés de investigación que cumple con los países del Sur, a las cuestiones internacional de la agricultura y el desarrollo.

☐ 3 departamentos científicos:

- Sistemas Biológicos (BIOS),
- **el funcionamiento del sistema de Producción Tropical y Sistemas de Procesamiento (PERSYST),**
- Medio Ambiente y Sociedad (ES).

☐ 36 unidades de investigación

CIRAD

UMR Qualisud: Unidad mixta de investigación Cualidad de los productos del sur

El desarrollo de un enfoque integrado para la producción masterizado y sostenible de alimentos de cualidades organolépticas, sanitaria y la nutrición óptima.

Las actividades de investigación se llevan a cabo en 3 equipos:

- Determinantes de cualidades organolépticas y nutricionales de los productos frescos y procesados.
- **Control de los contaminantes en la cadena alimentaria.**
- Procesos de separación y procesamiento de alimentos y bio-estabilización.

El café

Planta perenne de la familia Rubiaceae, género *Coffea*

La planta del café requiere un clima caliente y húmedo de las regiones tropicales y subtropicales

La producción mundial de café: 8 millones de toneladas (2011)

Los países con mayor producción son: Brasil, seguido por Vietnam y Colombia.



- *Coffea arabica* y *Coffea canephora* utilizados en la preparación de la bebida
- *Coffea arabica* (70% de la producción mundial) se considera los cafés de lujo, con sus aromas, su tersura y suavidad
- *Coffea canephora* (30% de la producción mundial): conocido por su fuerza agrícola (Robusta)

El Café

Tratamiento post cosecha via humeda

Cosecha - Café Cereza



Despulpaje



Café despulpado

Desmucilaginacion entonces secado



Café verde

Despergaminar



Café pergamino

El Café

➤ Tratamiento post cosecha via seca



Cosecha - Café Cereza

Secado



Descascarar



Café Verde

Café con Cascara

Objetivos

- Mejorar el conocimiento sobre la dinámica de las poblaciones microbianas durante el procesamiento post-cosecha de café utilizando un método molecular (PCR-DGGE)
- Establecer la relación entre la dinámica de la población microbiana del café y las diferentes etapas de tratamiento post-cosecha por PCR-DGGE
- Diferenciar las zonas geográficas con una huella molecular de las poblaciones microbianas



Metodología

- PCR-DGGE (Denaturing Gel Gradient Electrophoresis) :
Gradiente desnaturalizante Gel electroforesis

- Perfil DGGE

- Analiza de imagen

➤ Perfiles difieren en el número y la posición de las bandas

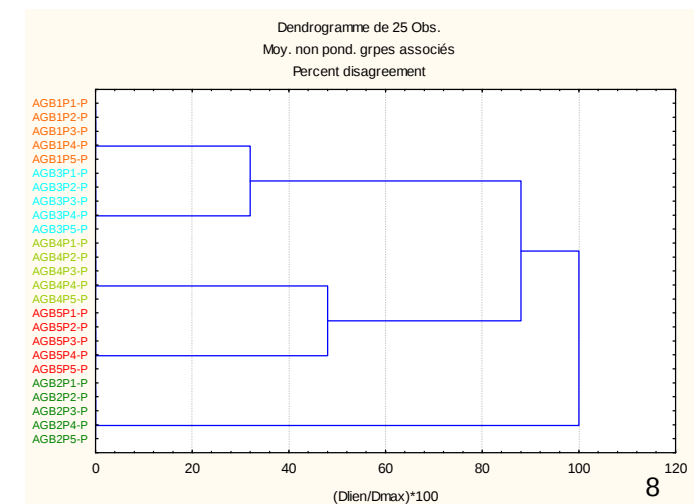
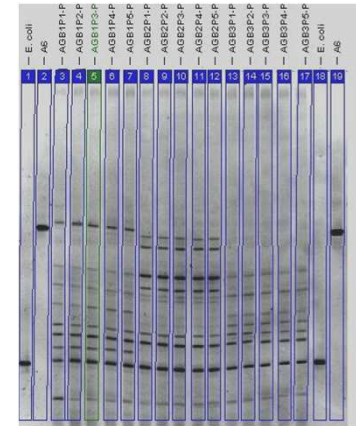
➤ Calcular el número de bandas en común entre cada muestra:

Coeficiente de similitud de DICE :

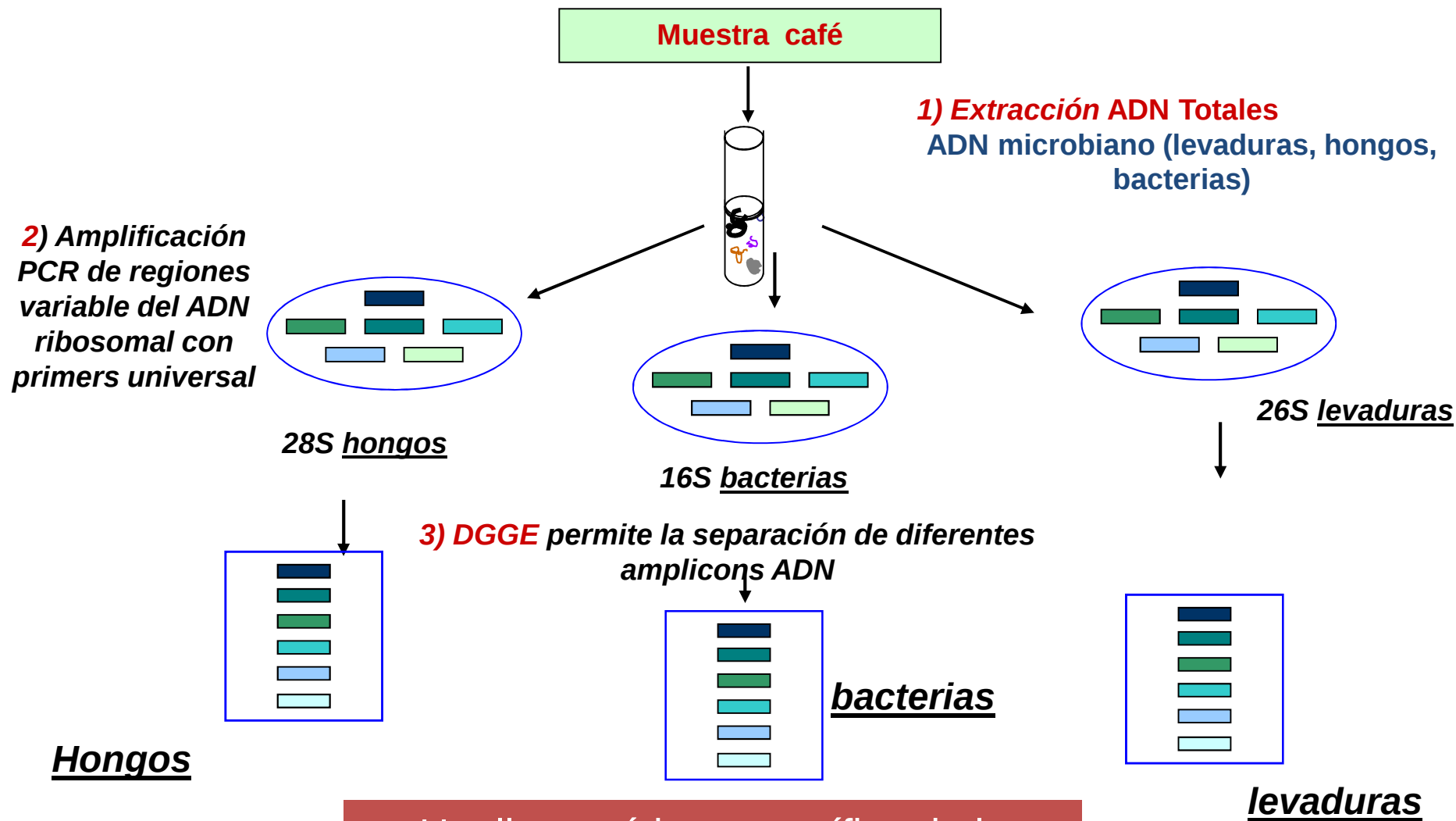
$$S_{Dice} = 100 \cdot 2 \cdot N_{AB} / (N_A + N_B)$$

➤ Matriz binaria

- Análisis estadístico (ACP et Análisis de similitud)



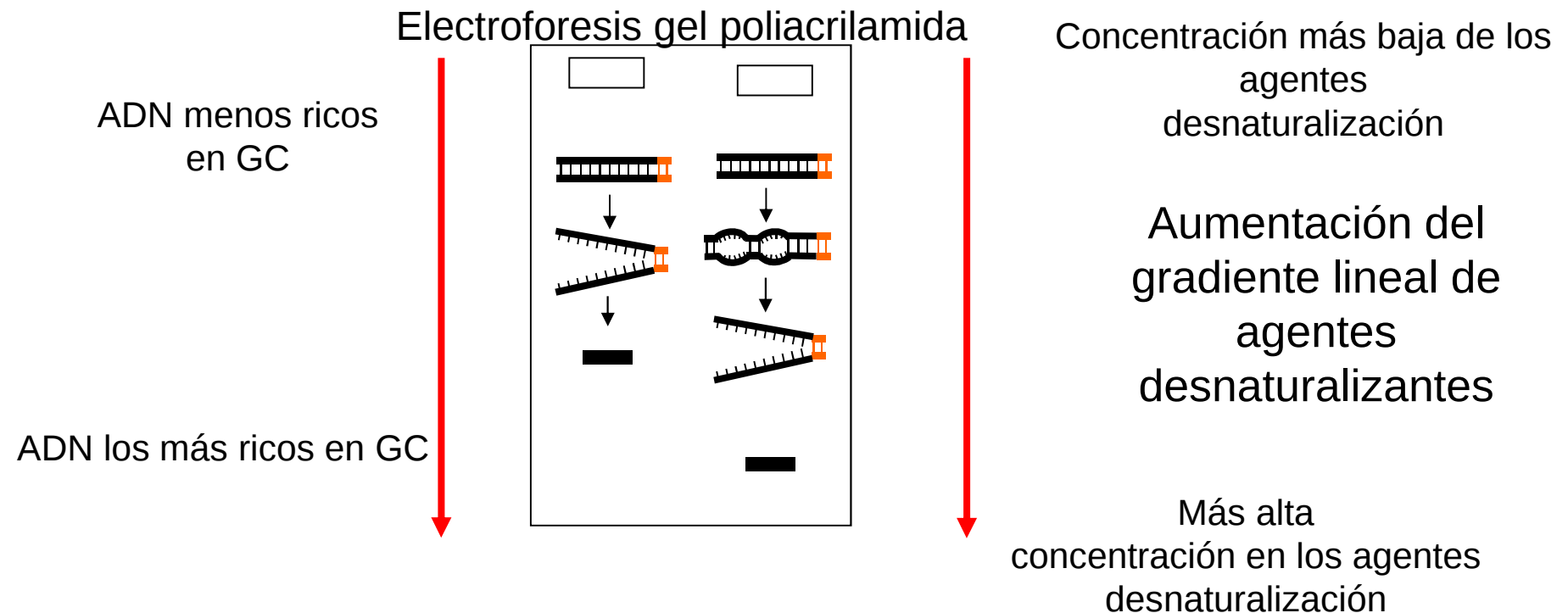
Metodología



Principio PCR-DGGE

Amplicons de doble cadena del mismo tamaño
Pero diferentes secuencias

ADN doble cadena + GC-Clamp



una banda = una cepa

Diferenciación de tratamientos post-cosecha

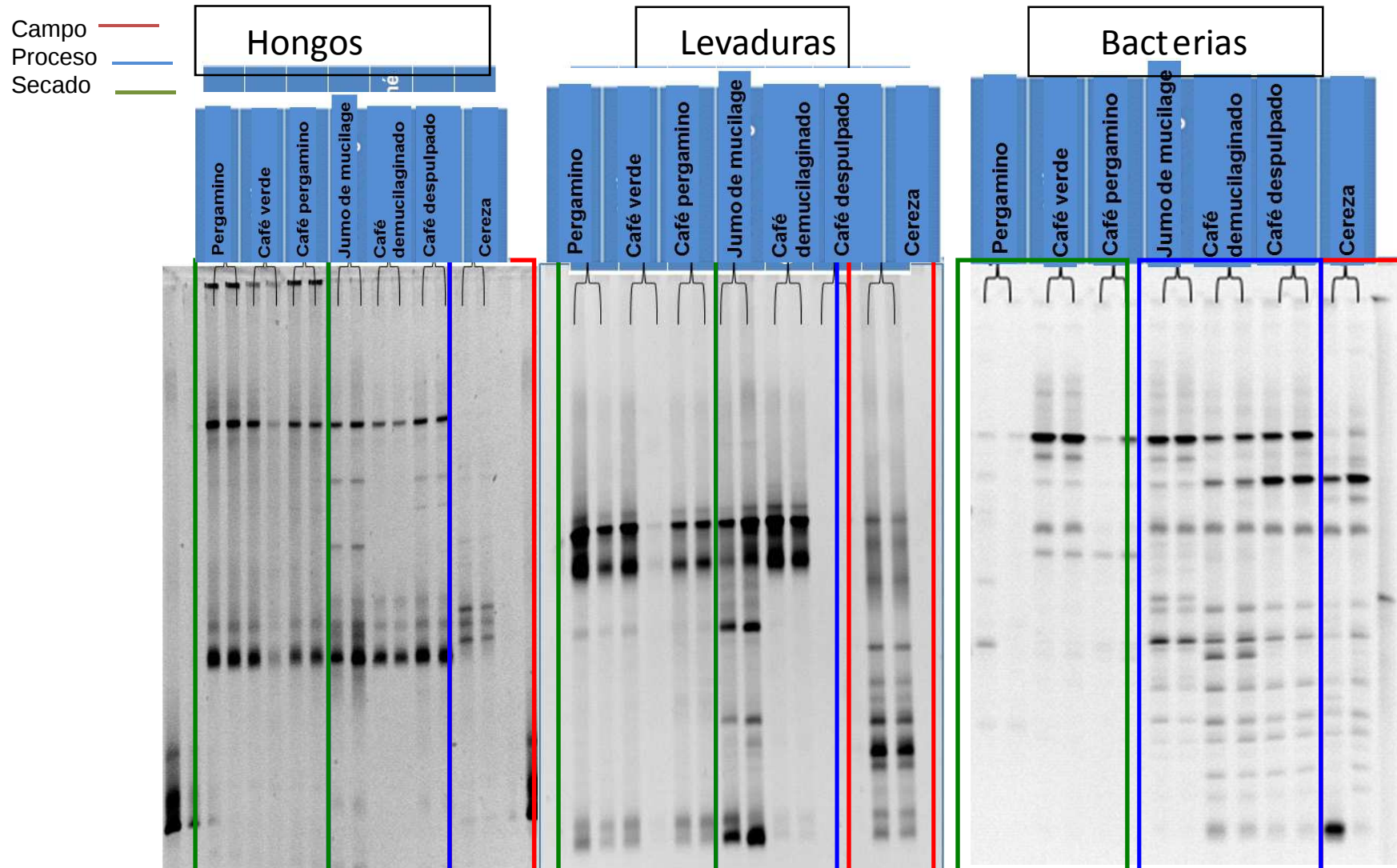
Muestreo

- 3 fincas de México, 3 tratamientos diferentes :
 - ✓ Vía húmida mecánica
 - ✓ Vía húmida con fermentación con agua
 - ✓ Vía seca



Resultados - Perfil DGGE

Ejemplo : Vía húmida mecánica



Resultados - Perfil DGGE

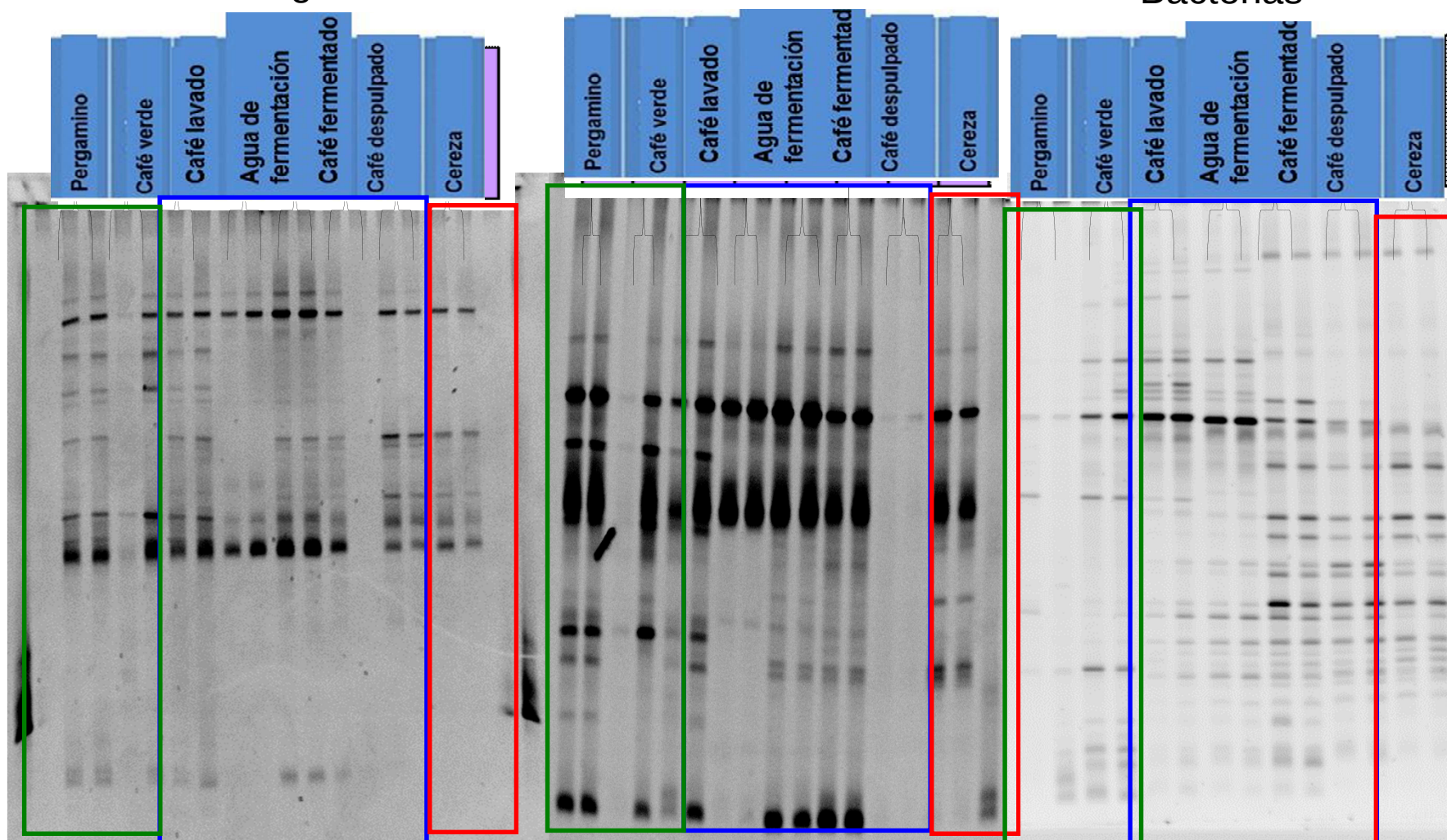
Campo —
Proceso —
Secado —

Ejemplo: Vía húmeda fermentación con agua

Hongos

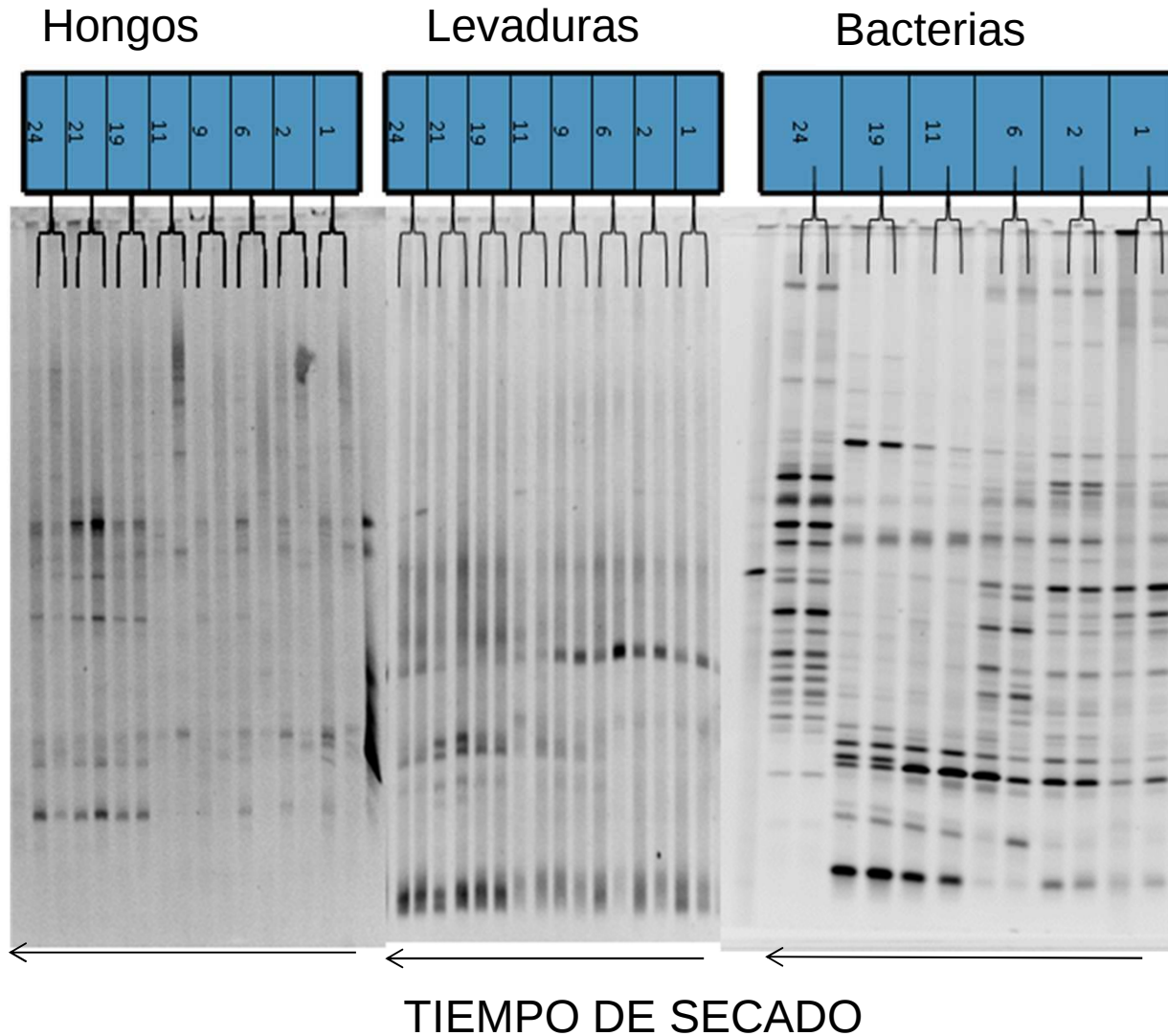
Levaduras

Bacterias

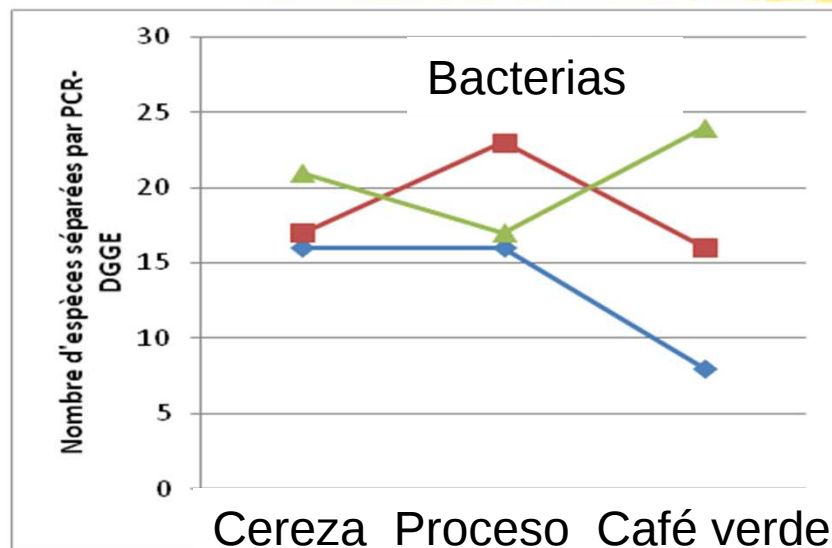


Resultados - Perfil DGGE

Ejemplo : Via seca



Resultados - Dinámica de los especies

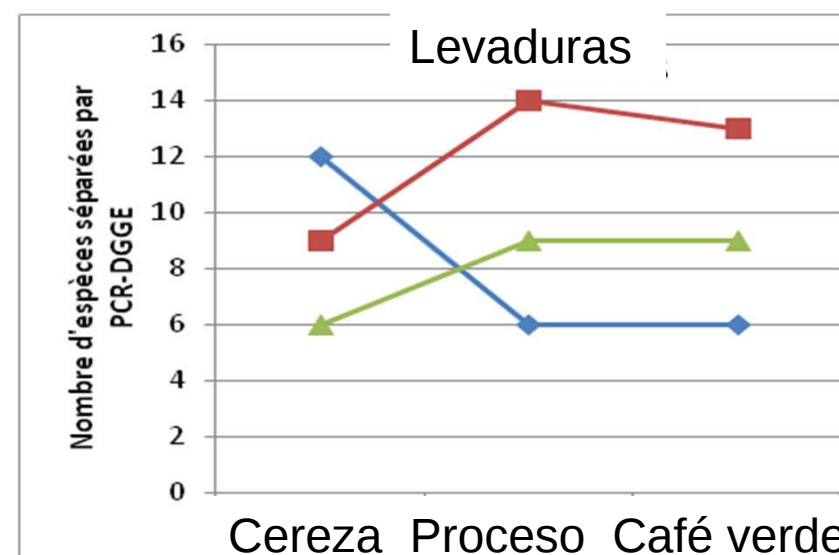
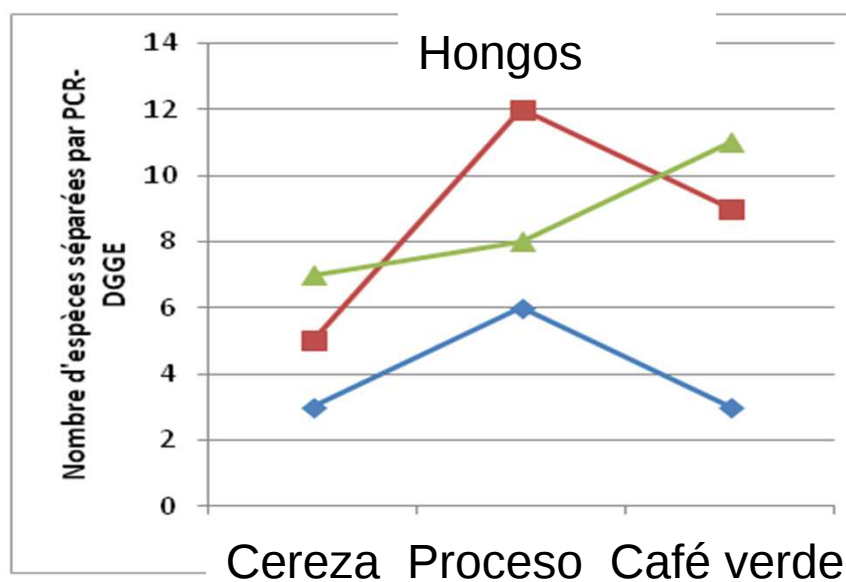


En general, el número de especies

↘ con vía húmeda mecánica

↗ con fermentación con agua

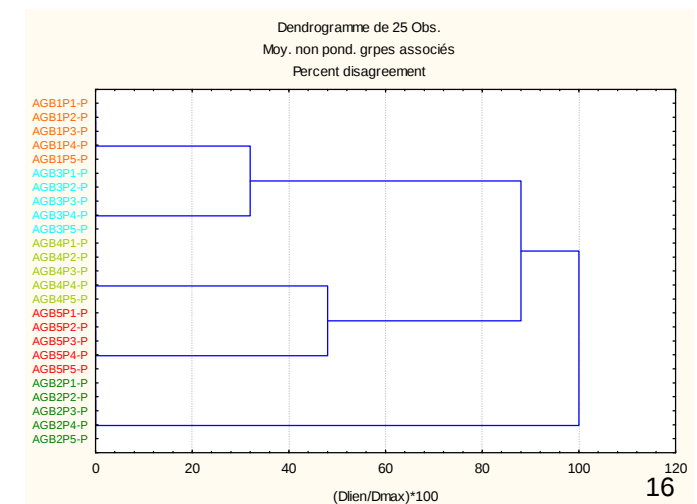
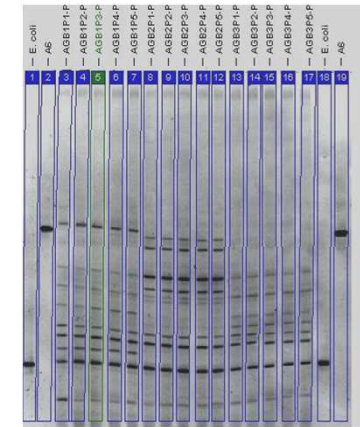
↗ durante el proceso vía seca



Metodología

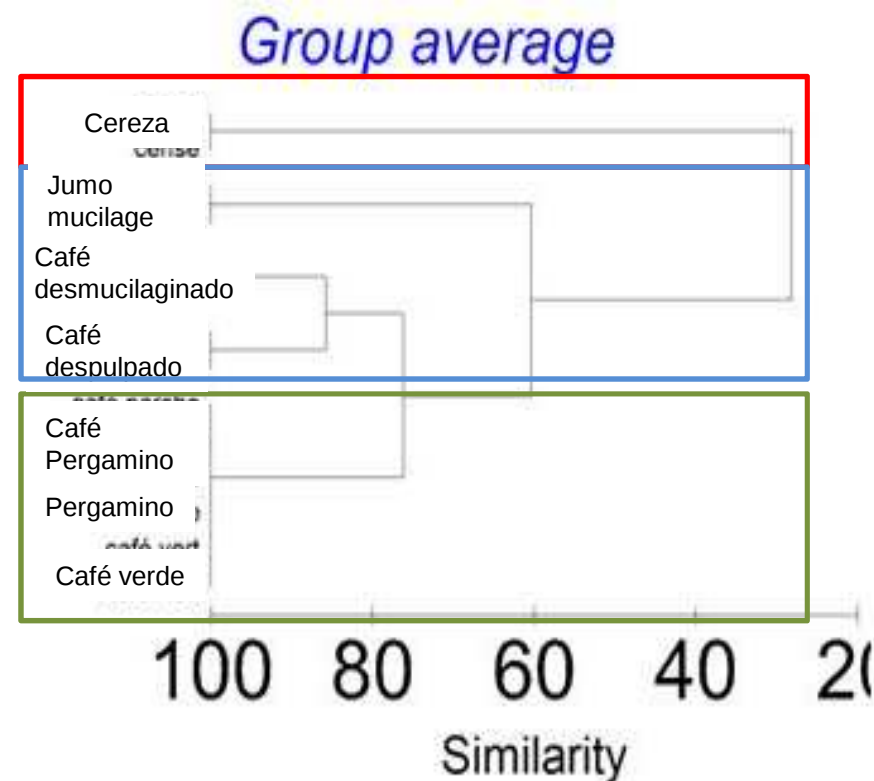
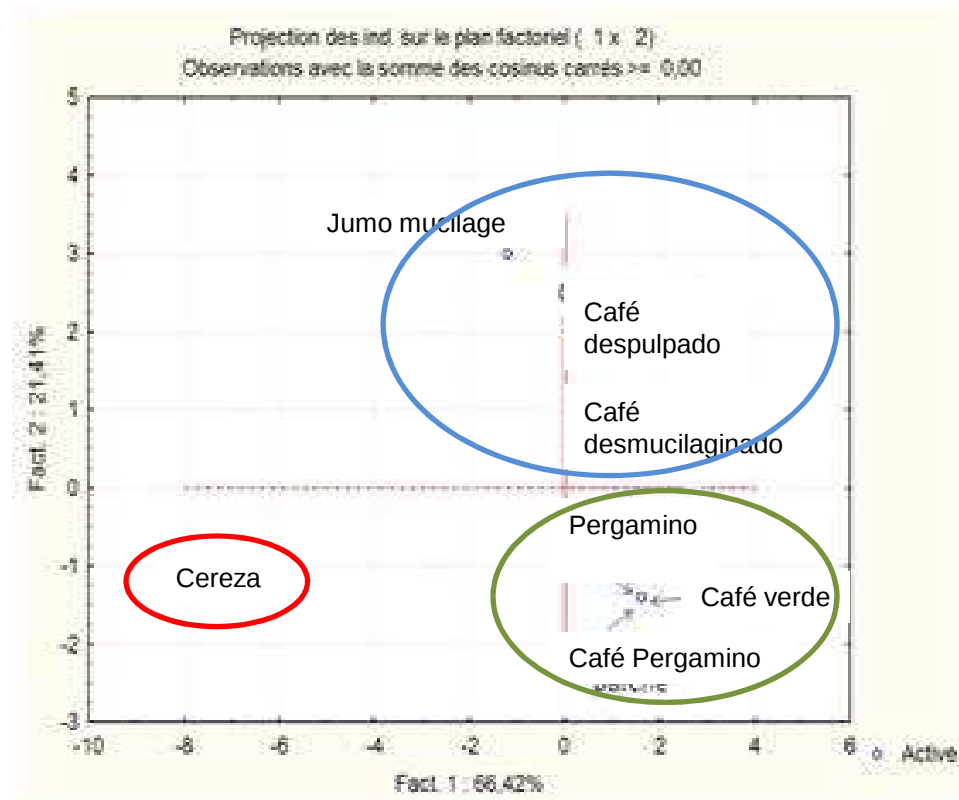
- Perfil DGGE
- Analiza de imagen
 - Perfiles difieren en el número y la posición de las bandas
 - Calcular el número de bandas en común entre cada muestra:
Coeficiente de similitud de DICE :

$$S_{Dice} = 100 \cdot 2 \cdot N_{AB} / (N_A + N_B)$$
 - Matriz binaria
- Análisis estadístico (ACP et Análisis de similitud)



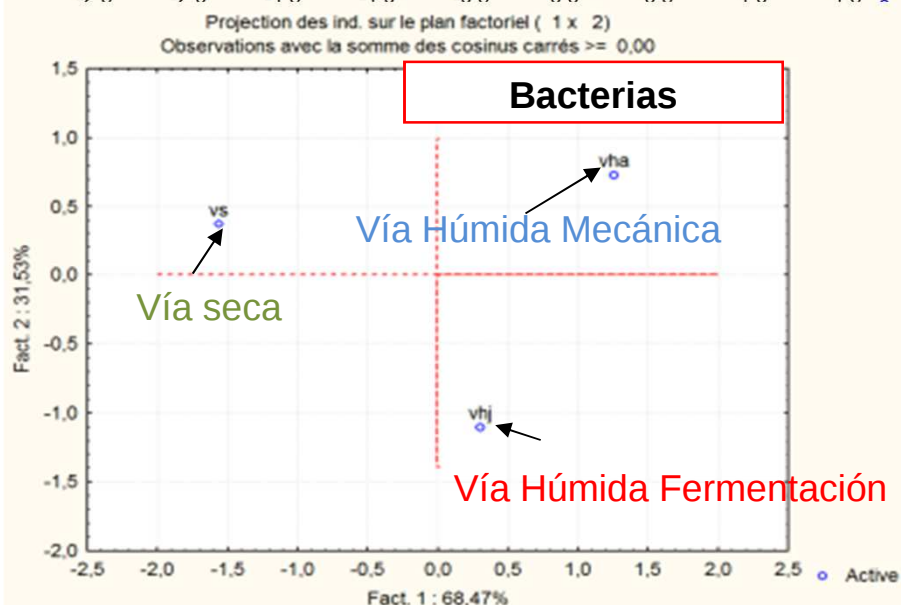
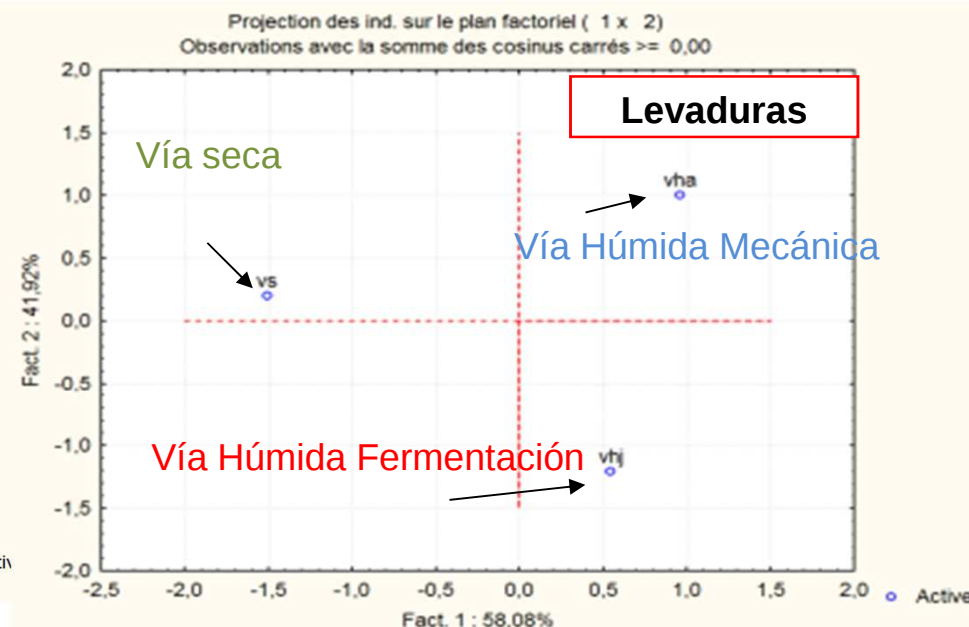
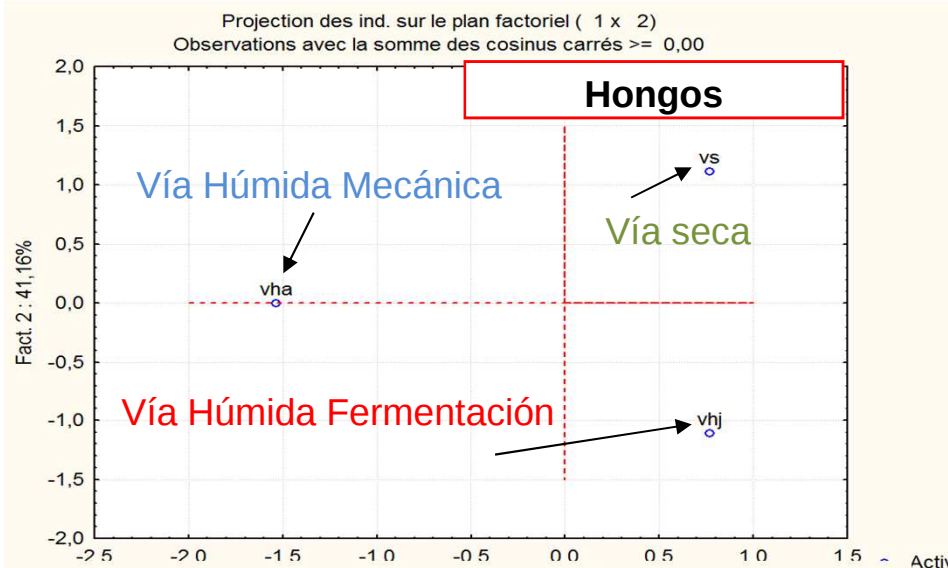
Resultados – Análisis estadísticas

Via húmida mecánica (Hongos)



- Buena discriminación de los diferentes etapas del tratamiento post cosecha
- Verdad por cada finca y cada tipo de microorganismos

Resultados – Análisis estadísticas



Discrimination des Fincas:

- En función de los tratamientos
- En función de la zona
- Los dos ?

Diferenciación de tipo de calidad

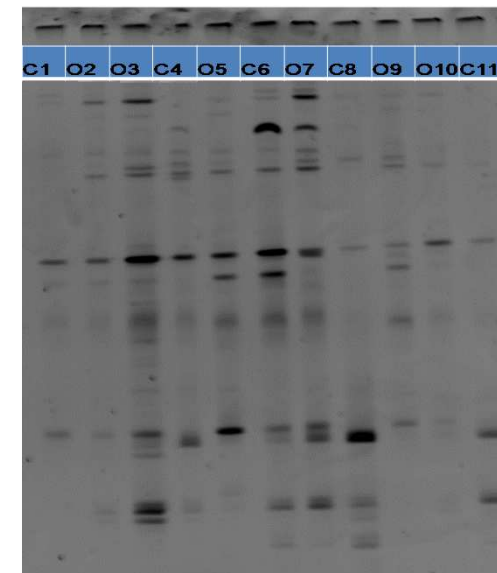
- **Venezuela**
- estado de Portuguesa
- **Biscucuy**, Municipio de Sucre y **Chabasquen**, Municipio de Jose Vicente de Unda, estado de Portuguesa



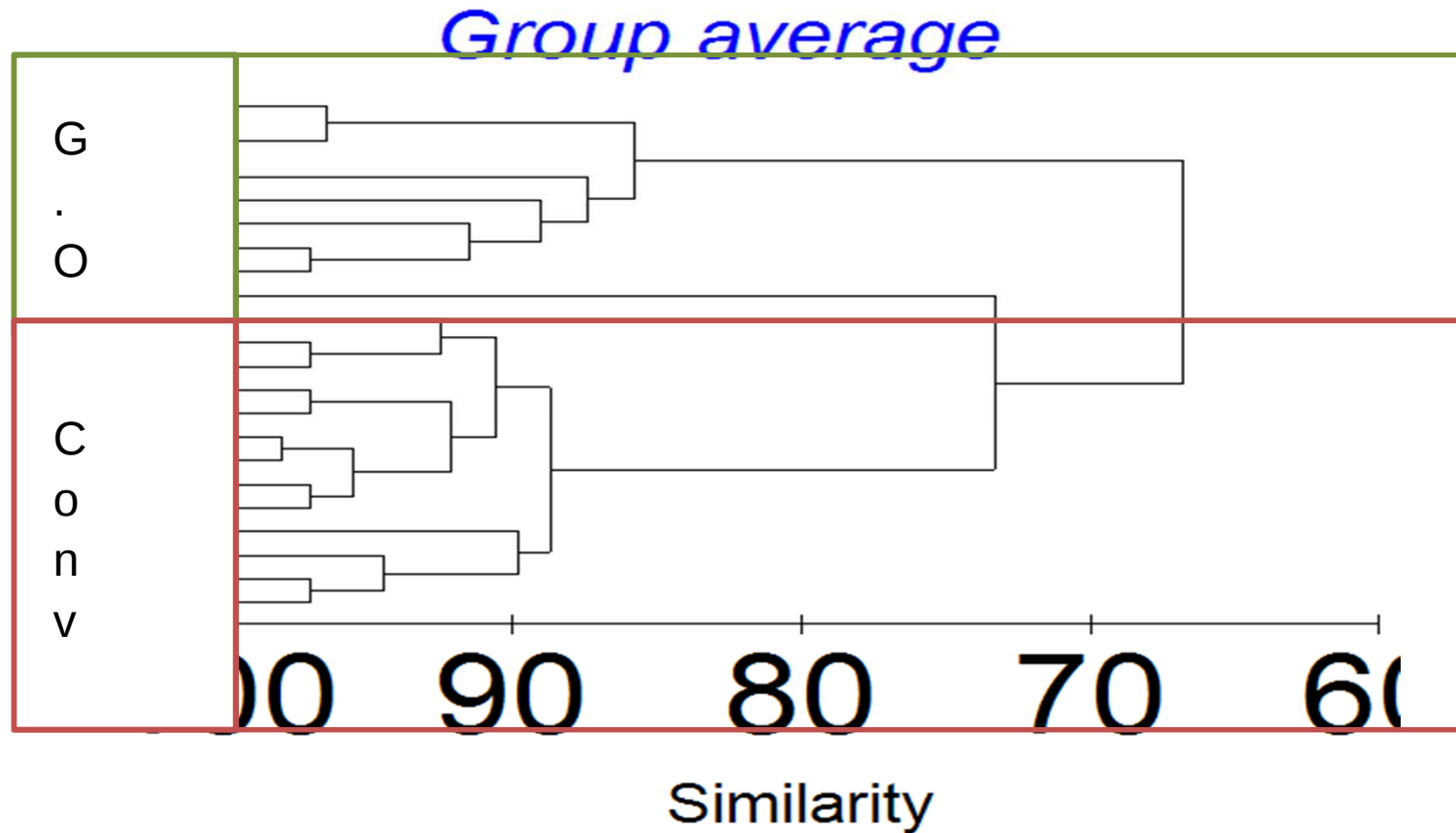
Diferenciación de tipo de calidad

Metodología

- 22 muestras de 12 fincas
- 1 tipo de tratamientos post cosecha: Vía húmeda fermentación con agua
- 2 calidades de preparación :
 - ☐ « grano de oro » (G.O)
 - ☐ « convencional »(C).
- Perfil DGGE de café verde
- Analiza de imagen
- Análisis estadístico (ACP et Análisis de similitud)



Resultados: Diferenciación de tipo de calidad



Dos grupos distintos con más de 35 % de diferencias

Conclusiones

- Es posible monitorizar la calidad y cantidad de la biodiversidad y la dinámica de las especies microbianas
- Es posible diferenciar entre diferentes fases en un tratamiento post-cosecha
- Es posible diferenciar las fincas (tratamiento y / o áreas geográficas)
- Es posible diferenciar dos tipos de calidad en una misma zona

Otros aplicaciones

- Determination of coffee origin by using 28S rDNA fingerprinting of fungal communities by PCR-DGGE: Application to the Cameroonian coffee.**
International Journal of Biosciences, 2 (5) : 18-30. [20120625].
 Nganou Donkeng N., Durand N., Tatsadjieu N.L., Meile J.C., El Sheikha A., Montet D., Mbufung C.M.. 2012. nt/uploads/IJB-V2No5-p18-30.pdf
- Determination of cheese origin by using 16S rDNA fingerprinting of bacteria communities by PCR-DGGE: Preliminary application to traditional Minas cheese.** *Food Control, Volume 30, Issue 1, March 2013, Pages 1-6.*
 Edna F.Arcury, Aly F. El Sheikha, Tomasz Rychlik, Isabelle Piro-Metayer
- A biological bar code for determining the geographical origin of fruit by using 28S rDNA fingerprinting of fungal communities by PCR-DGGE: An application to physalis fruits from Egypt.** 2011 . - p. 115-129 In : *Food biotechnology* = ISSN 0890-5436. - (2011)vol.25:n°2.
 El Sheikha Aly, Métayer Isabelle, Montet Didier

Otros aplicaciones

- **Diferenciación de tratamientos post-cosecha y/o de zonas geográficas con PCR-DGGE sobre muestra de cacao**
- **Diferenciación con PCR-DGGE de itinerario técnico, orgánico y convencional (café y banana).**

Agradecimiento



Gracias por su atención

