

UNIVERSIDAD DE LA REPUBLICA ORIENTAL DEL URUGUAY

28/6-I

ANALES

DE LA

FACULTAD DE QUIMICA



Año 1977

ESTUDIO ECOLOGICO DE HONGOS Y LEVADURAS AISLADOS DE VEGETALES UTILIZADOS EN LA ELABORACION DE ENSALADAS CRUDAS

LUCY TEIRA * Y GRACIELA CHAIN *

R E S U M E N

La importancia de la presencia de gérmenes (bacterias, hongos y levaduras) en los alimentos, es cada día más notoria. Dadas las condiciones climáticas de nuestro país, la ingestión de ensaladas crudas es abundante durante el verano, por lo cual se eligieron lechugas, berros y escarolas como sustrato en la búsqueda de hongos y levaduras. Se trabajó con los productos lavados y sin lavar, habiéndose encontrado que la carga microbiana inicial es considerablemente alta, disminuyendo notablemente durante el lavado. Los materiales fueron tratados según técnicas standard. Todas las muestras consideradas dieron resultados positivos tanto para hongos filamentosos como levaduriformes. Se encontró una predominancia neta de los géneros *Trichoderma*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria*, *Geotrichum*, *Rhodotorula*, *Torulopsis*. Si bien todos estos géneros están dentro de la flora normal del suelo, nuestro interés se centró en la identificación de especies posibles productoras de micotoxinas.

No debe descartarse el riesgo potencial que puede significar una carga microbiana elevada sobre todo en personas cuyas defensas estén disminuidas.

S U M M A R Y

The importance of the presence of germs (bacteria, fungi and yeasts) in foods is evidently increasing due to our country's climate, the ingestion of raw salads is greatest during the summer time. For this reason, lettuces, watercresses and endives, were studied for detection of fungi and yeasts. The work was done comparatively on washed and not washed vegetable, and the high initial number of microorganisms was seen to decrease remarkably during the washing.

* Cátedra de Microbiología General. Facultad de Química. Montevideo, Uruguay.

The materials were treated according to standard techniques. All the samples studied were found to contain fungi and yeasts. The predominating genera were: *Trichoderma*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria*, *Geotrichum*, *Rhodotorula*, *Torulopsis*.

Even though all these genera are part of the normal soil flora our work was focused on the identification of species capable of producing mycotoxins. The potential hazardousness of a large number of microorganisms should not be overlooked, especially for people whose defenses are diminished.

INTRODUCCION

Cada día es más notoria la importancia de los diferentes microorganismos en los alimentos.

Mucho se ha escrito sobre las enfermedades humanas originadas por la ingestión de vegetales crudos: salmonellosis, disenterías bacilares, gastroenteritis, hepatitis infecciosa, etc. Con el estudio micológico complementamos el trabajo microbiológico efectuado en la Cátedra de Microbiología General, de la Facultad de Química de Montevideo, de vegetales crudos.

Con respecto a los hongos, además del problema que representan como agentes de deterioro, no debe olvidarse el riesgo que implican todas aquellas especies productoras de toxinas, muchas de las cuales no se destruyen por vía digestiva.

Nuestro interés se centró en la identificación de especies productoras de toxinas.

MATERIALES Y METODOS

La obtención de muestras se efectuó en diversos comercios de la ciudad, adquiriendo los productos tal cual llegan normalmente al consumidor.

Los materiales fueron tratados según las técnicas recomendadas por Thatcher (1968). (9)

Las diferentes diluciones fueron sembradas en placas de agar malta a un pH de 4 - 4.5 e incubadas entre 26 y 28°C de 3 a 7 días. De cada material se trabajó con diluciones seriadas, cada dilución por triplicado.

Obtenido el desarrollo de colonias de levaduras, se picaron un número representativo, especialmente las que presentaban diferencias en color, tamaño, forma, velocidad de desarrollo, etc.

En las técnicas de identificación se siguió a Lodder y Kreger Van Rj (1952) (4) y Lodder (1971) (5) para hongos levaduriformes y a Ainsworth (1965) (1) y Barron (1971) (2) para hongos filamentosos.

RESULTADOS

En las 40 muestras estudiadas fueron encontrados resultados positivos tanto para hongos filamentosos como levaduriformes.

De todas las muestras fueron aisladas varias especies.

El lavado con agua corriente, provocó una sensible disminución en el número total de microorganismos, como se visualiza en las Tablas I, II y III, siendo en algunos casos diez veces menor que en los vegetales sin lavar. Aproximadamente, los mismos porcentajes de contaminación fueron observados en lechugas y escarolas, lo cual es lógico, si se considera que las condiciones favorables de desarrollo, en cuanto a terreno, temperatura y humedad son similares; habiéndose encontrado diferencias sensibles en los berros, que crecen en general en terrenos muy irrigados o en bañados.

El número de microorganismos por gramo, varía en general entre un número de 4×10^3 y un máximo de 7×10^4 aproximadamente.

Tabla I

RECuento DE HONGOS FILAMENTOSOS Y LEVADURIFORMES EN 19 MUESTRAS DE LECHUGAS

Muestra	Microorganismos/g		Muestra	Microorganismos/g	
	sin lavar	lavada		sin lavar	lavada
Lechuga 1	7.7×10^3		Lechuga 11	7.4×10^4	
Lechuga 2	4×10^4		Lechuga 12	1.9×10^4	
Lechuga 3	4.4×10^4		Lechuga 13	9×10^3	
Lechuga 4	1.2×10^4		Lechuga 14	4×10^3	
Lechuga 5	8×10^4	2×10^3	Lechuga 15	6×10^3	
Lechuga 6	1.6×10^4		Lechuga 16	4.2×10^4	3×10^2
Lechuga 7	4.6×10^4		Lechuga 17	5×10^3	
Lechuga 8	1.2×10^4		Lechuga 18	1.9×10^4	1×10^2
Lechuga 9	1.1×10^4	4×10^2	Lechuga 19	5×10^3	
Lechuga 10	1.2×10^4	1×10^2			

Tabla II

RECUESTO DE HONGOS FILAMENTOSOS Y LEVADURIFORMES
EN 11 MUESTRAS DE ESCAROLAS

Muestra	Microorganismos/g	
	sin lavar	lavada
Escarola 1	4×10^4	
Escarola 2	3×10^4	
Escarola 3	1×10^4	1×10^3
Escarola 4	3.2×10^4	
Escarola 5	3.3×10^4	
Escarola 6	5.4×10^4	1×10^3
Escarola 7	6×10^3	
Escarola 8	2×10^4	
Escarola 9	1.9×10^4	
Escarola 10	2.7×10^4	
Escarola 11	6.5×10^4	3×10^2

Tabla III

RECUESTO DE HONGOS FILAMENTOSOS Y LEVADURIFORMES
EN 10 MUESTRAS DE BERROS

Muestra	Microorganismos/g	
	sin lavar	lavada
Berro 1	4×10^3	
Berro 2	2.5×10^3	
Berro 3	2×10^4	1×10^2
Berro 4	1.2×10^4	
Berro 5	1.5×10^4	1.2×10^2
Berro 6	8×10^3	
Berro 7	2×10^3	
Berro 8	3×10^3	
Berro 9	8×10^3	
Berro 10	1.2×10^4	1×10^2

En la Tabla IV se muestra el porcentaje de incidencia de las especies encontradas.

Tabla IV
 HONGOS FILAMENTOSOS Y LEVADURIFORMES RECUPERADOS
 DE 40 MUESTRAS DE VEGETALES

(Lechugas - Escarolas - Berros)

Hongos Filamentosos	% de incidencia	Hongos levaduriformes	% de incidencia
<i>Rhizopus nigricans</i>	80 %	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	90 %
<i>Trichoderma viride</i>	75 %	<i>Rhodotorula rubra</i>	75 %
<i>Aspergillus niger</i>	75 %	<i>Torulopsis famata</i>	35 %
<i>Penicillium sp.</i>	75 %	<i>Candida parapsilosis</i>	25 %
<i>Paecilomyces sp.</i>	62.5 %	<i>Candida guilliermondi</i>	20 %
<i>Pullularia pullulans</i>	37.5 %	<i>Candida tropicalis</i>	17.5 %
<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>	37.5 %	<i>Candida krusei</i>	15 %
<i>Alternaria tenuis</i>	37.5 %	<i>Candida rugosa</i>	12.5 %
<i>Mucor mucedo</i>	25 %	<i>Geotrichum sp</i>	12.5 %
<i>Curvularia lunata</i>	12.5 %	<i>Saccharomyces bisporus</i>	10 %
		<i>Torulopsis glabrata</i>	10 %

DISCUSION

Tanto los hongos filamentosos como los levaduriformes hallados sobre los vegetales estudiados, provienen de la naturaleza o del hombre actuando como intermediario.

Si consideramos las especies encontradas tenemos que: *Rhodotorula mucilaginosa* es una de las especies más frecuentemente aislada en nuestro medio, así como *Rhodotorula rubra*.

Torulopsis famata es relativamente frecuente.

La presencia de *Candida parapsilosis* y *Candida tropicalis*, podría indicar el cultivo en terrenos regados con materiales tratados, provenientes de cámaras sépticas, ya que son especies que han sido aisladas numerosas veces del hombre.

En cuanto a los hongos filamentosos, al problema de la posible alteración del alimento, debe sumarse el riesgo que implica su presencia por las micotoxinas, así como las alergias relacionadas con ellos.

Si bien muchos de los hongos mueren en su pasaje a través del tubo digestivo, otros, gracias a sus formas de resistencia (clamidosporos, ascosporos) logran sobrevivir.

Especies termotolerantes y resistentes a la acidez del jugo gástrico, pueden desarrollarse en el tracto digestivo y elaborar sustancias tóxicas en cantidades suficientes como para tener efectos nocivos, sobretodo en personas cuyas defensas estén disminuidas.

Con respecto al género *Paecilomyces* y su estado perfecto *Byssochlamys*, en recuento de totales en productos tratados, se considera un serio problema un total de 10 esporos cada 100 gramos. (9)

No hay referencias con respecto a vegetales frescos, en cuanto a recuentos totales, pero si consideramos que valores de 1×10^3 /g. en productos manufacturados, (8) es índice de mala calidad, los valores obtenidos pueden considerarse peligrosamente elevados.

No debe descartarse la importancia que pueda tener una incidencia alta (62.5%) de la forma imperfecta, de *Byssochlamys*, en vegetales frescos, que serán consumidos muchas veces después de un lavado no muy meticuloso (hoteles, restaurantes, y, en general, todos aquellos lugares donde se preparan cantidades grandes de alimentos) y teniendo en cuenta que durante los meses de verano, la ingestión de ensaladas crudas es en nuestro país muy frecuente.

Si bien se ha escrito mucho sobre el problema de los diferentes microorganismos en vegetales, no sucede lo mismo con respecto a los hongos.

En la actualidad es muy común el transporte de vegetales frescos de un país a otro; una alta contaminación con esporos de hongos, puede representar un rápido deterioro.

Al problema de los mohos biosintetizadores de factores activos por vía oral, debe sumarse el de ciertas especies, que si bien no son productores de micotoxinas, creciendo sobre legumbres, estimulan a los tejidos vegetales, para formar sustancias metabólicas anormales con carácter de toxinas activas si son absorbidas por el tubo digestivo. (10)

Entre los hongos filamentosos detectados, tenemos especies productoras de toxinas, tales como *Alternaria tenuis*, *Aspergillus niger*, *Penicillium* sp., *Trichoderma viride*, *Scopulariospsis brevicaulis*.

Por lo tanto, parece ser bastante justificado el esfuerzo que se efectúe en la prevención de la contaminación y desarrollo de mohos en alimentos, para preservar la salud, además de las razones puramente estéticas.

BIBLIOGRAFIA

- (1) *Ainsworth, G. C. and Sussman, A. S.* (eds.): "The fungi", Vol. I, Academic Press, Vol. I, II, III, London (1965).
- (2) *Barron, G. L.*: "The genera of hyphomycetes from soil. Library of Congress. (1972).
- (3) Centraal Instituut Voor Voednigsonderzock T NO. Publikatie Nr. 719. "El Control de la calidad microbiológica en la industria alimentaria"
- (4) *Lodder and Kreger Van Rij.*: The Yeasts. "A taxonomic study". North Holland Publishing company. Amsterdam. (1952).
- (5) *Lodder J.*: The yeast. A taxonomic study. North. Holland Publishing company. (1971).
- (6) Microorganism in foods. Sampling for microbiological analysis: Principle and specific applications. (1974). University of Toronto Press.
- (7) *Raper - Fennell.*: The genus *Aspergillus*. Williams, Wilkins Company. Baltimore. (1968).
- (8) Rivista italiana d'igiene (1965). Vol. 25, 392 - 423. La disciplina igienica della produzione e del commercio degli insaccati: indagini batteriologiche su di alcuni insaccati cotti e crudi del comercio.
- (9) *Thatcher, F. S., Clark, D. S.*s Microorganisms in foods. Their significance and methods of enumeration. Toronto. Univ. Press. (1968).
- (10) *Wilson, B. J.*: et al. Nature, 227, 521. (1970).