

DISTRIBUCIÓN DE LA MICROFLORA Y CEPAS AFLATOXIGÉNICAS EN MUESTRAS DE CACAHUETE PROCEDENTES DE MERCADO

Santamarina, M.P., Sanchís, V., Fernández, G. y Hernández, E. *

RESUMEN

En el presente trabajo se analiza la flora fúngica de 102 muestras de cacahuete (*Arachis hypogea*), mediante aislamiento e identificación. Así mismo se estudia la influencia que ejerce la cáscara y los tipos de tratamiento que sufre el grano desde su recolección hasta su venta, sobre la microflora.

La microflora está compuesta por los géneros *Aspergillus* y *Penicillium* fundamentalmente, siguiéndole en importancia los Mucorales, *Fusarium* y Levaduras.

Parece ser que tanto las muestras con cáscara, como aquellas que han sufrido algún tipo de tratamiento térmico, presentan menor carga fúngica.

Se ha aislado un total de 387 cepas de *Aspergillus flavus*, de las cuales 79 (correspondientes al 20.4%), han presentado capacidad productora de aflatoxina en condiciones de laboratorio.

SUMMARY

Distribution of the mycoflorae and aflatoxigenic strains in peanut samples coming from market place.

In the presente work, the fungal florae of 102 peanut samples have been analyzed after their isolation and identification. Moreover it has been studied the influence of the pod and the type of treatment given to the grain during the period from harvesting till it gets to consumer, on the mycoflorae contents in the grain.

The fungi present in the peanut samples belong mainly to the genera *Aspergillus* and *Penicillium* followed by the Mucorales; *Fusarium* and several Yeasts.

It seems that the podded samples, as well as those that have received any kind of heating treatment, show the lowest fungal contents.

A total of 387 strains of *Aspergillus flavus* have been isolated, 79 of which (corresponding to a 20.4% of the strains), had aflatoxin producing capability in laboratory conditions.

* Cátedras de Microbiología de las E.T.S.I. Agrónomos de Valencia y Lérida.

INTRODUCCION

A lo largo de la historia han ido apareciendo enfermedades asociadas al consumo de alimentos enmohecidos poniendo en evidencia sus efectos tóxicos. Una de las primeras conocidas fue el ergotismo, debido al consumo de granos infectados con *Claviceps purpurea*. Otras enfermedades fúngicas importantes son la Leucopenia tóxica alimentaria de Rusia, la enfermedad del arroz amarillo en Japón, la aflatoxicosis de muchas regiones del mundo y la Estaquibotriotoxicosis en U.R.S.S. y Europa Oriental.

En 1960, la enfermedad de los pavos de Inglaterra que causó la muerte de millares de pavipollos, hizo cambiar la actitud adoptada frente a los mohos y sus toxinas. El origen de la enfermedad radicaba en las tortas de prensado de cacahuete que se mezclaban con el alimento, siendo *Aspergillus flavus* el hongo responsable.

Vista la importante producción mundial de cacahuete y su empleo básicamente en alimentación, nos ha parecido interesante realizar un estudio de muestreo sobre cacahuetes, escogiéndose para este fin tres mercados de la ciudad de Valencia.

MATERIAL Y METODOS

Se analizan 102 muestras de cacahuete en sus distintas formas de presentación (crudo, tostado, frito, con y sin cáscara).

Los recuentos se realizan mediante siembra por agotamiento en superficie sobre medio nutritivo y la infección se determina al colocar en el medio los granos previamente esterilizados superficialmente con hipoclorito sódico al 2% y lavados dos veces con agua destilada estéril.

El medio utilizado en ambos casos es Patata glucosada Rosa de Bengala Agar (PDA-Rosa de Bengala), adicionado de clorhidrato de tetraciclina 30 mg/l.

El medio para la determinación de las cepas toxigénicas ha sido el Coconut Medium Agar (CMA).

En la identificación de las especies aisladas en este trabajo se han seguido los criterios autorizados.

RESULTADOS Y DISCUSION

1.-Flora fúngica

La contaminación por mohos en cacahuets comerciales es muy variable, estando representada fundamentalmente por los géneros *Aspergillus* y *Penicillium*.

De acuerdo con muchos autores (PORTEN y GARREN 1968, PORTER y WRIGHT y 1961 y HANLIN 1970), el género *Penicillium* es uno de los más abundantes, en nuestro trabajo. Este género se distribuye de la siguiente manera:

– El 74,5% pertenecen a la Sección Biverticilados asimétricos, de ellos los que han presentado mayores frecuencias han sido

Subsección Velutina: *P. corylophilum*, *P. citrinum* y *P. cianeofulvum*.

Subsección Funiculosa: *P. pallitans*.

Subsección Fasciculata: *P. ochraceum*, *P. cyclopium*, *P. viridicatum*, *P. puberulum* y *P. martensii*.

– El 15,5% pertenecen a la sección Biverticilados, simétricos destacando, *P. purpurogenum*, *P. rubrum* y *P. rugulosum*.

– El 10% pertenecen a la sección Monoverticilados, siendo los más frecuentes *P. decumbens* y *P. implicatum*.

Respecto al género *Aspergillus*, es destacable la abundancia de las especies *A. flavus* y *A. parasiticus* por su capacidad potencial de producir aflatoxina en cacahuete (NAGARAJAN y BHAT 1972, HESSELTINE y Cols. 1970).

Otras especies frecuentemente aisladas han sido *A. niger*, el grupo *A. glaucus* representado por *A. amstelodami*, *A. chevalieri* y *A. glaucus*, en menor proporción *A. ochraceus*, *A. terreus*, *A. fumigatus*, *A. candidus*, *A. fischeri*, *A. flavipes* y *A. cavatus*.

Se ha aislado también *Fusarium moniliforme*, *Curvularia lunata*, *Trichoderma viride*, *Thielavia sp*, *Cladosporium herbarum*, *Alternaria sp* etc.

2.-Influencia del tratamiento sobre la micoflora.

Se investiga la influencia de los tratamientos a que se somete el fruto del cacahuete para su comercialización, sobre la contaminación de las muestras.

Las especies *Aspergillus flavus* y *A. parasiticus*, presentan valores de infección muy similares, como puede observarse en la tabla 1.

Estudiando más detalladamente la infección por *A. flavus*, observamos que los porcentajes de infección de los granos son para cacahuete fritos del 13,5%; para c. crudos del 11,7%, valores bastante elevados, mientras que en tostados este valor es del 6,5%. Estas diferencias son estadísticamente significativas. Vemos como esta pauta se repite a lo largo de toda la tabla para los distintos géneros.

En general el número de granos contaminados por los distintos hongos analizados siempre es menor en las muestras que han sufrido el proceso de tostado 37,4%. Aumenta la infección en las formas crudas

59,4% y alcanza su máximo en las fritas 82,8%. Se exceptúan los casos de contaminación por *Fusarium* y *Levaduras*. El género *Fusarium* solo se presenta en muestras crudas y desaparece en las que han sufrido algún proceso térmico y en cuanto a *Levaduras* son las crudas las que menos porcentaje de muestras contaminadas presentan y fritos y tostados tiene valores muy similares.

– Cepas aflatoxigénicas

Un total de 29 muestras de las 102 estudiadas presentan cepas de *A. flavus* productoras de aflatoxina, tabla 2, destacando los cacahuete crudos con 14 de las 38 muestras 36,8% y ligeramente menor las muestras fritas y tostadas con porcentajes de alrededor del 23%.

TABLA 1
INFLUENCIA DEL TIPO DE TRATAMIENTO EN LA INFECCION FUNGICA DE LOS GRANOS DE CACAHUETE

		CACAHUETE CRUDO	CACAHUETE TOSTADO	CACAHUETE FRITO	GENERAL	
Número de muestras		38	43	21	102	
I N F E C C I O N a	<i>A. flavus</i>	X = 11.7 σ = 17.6	X = 6.5 σ = 10.6	X = 13.5 σ = 16.4	X = 9.9 σ = 14.9	MS ^g
	<i>A. niger</i>	X = 16.6 σ = 16.5	X = 1.8 σ = 3.6	X = 9.6 σ = 8.5	X = 8.9 σ = 12.8	MS
	<i>Aspergillus</i> sps.	X = 7.1 σ = 12.1	X = 5.1 σ = 12.1	X = 12.7 σ = 12.5	X = 7.4 σ = 13.0	MS
	<i>Penicillium</i>	X = 23.0 σ = 23.8	X = 12.4 σ = 18.2	X = 24.9 σ = 17.8	X = 18.9 σ = 21.0	MS
	<i>Mucorales</i>	X = 4.5 σ = 7.5	X = 1.1 σ = 2.2	X = 13.4 σ = 14.6	X = 4.9 σ = 9.3	MS
	<i>Fusarium</i>	X = 4.9 σ = 11.0	X = 0.0 σ = 0.0	X = 0.0 σ = 0.0	X = 1.8 σ = 7.1	MS
	Levaduras	X = 3.3 σ = 8.1	X = 16.7 σ = 17.1	X = 29.7 σ = 31.9	X = 14.4 σ = 21.1	MS
	GLOBAL	X = 59.4 σ = 28.6	X = 37.4 σ = 27.1	X = 82.8 σ = 15.3	X = 55.1 σ = 30.7	

a.-Porcentaje de granos infectados.

g.-Significación de los resultados: Muy significativo, MS (\geq 99%); Significativo, S (95-98%); No significativo, NS (< 95%).

TABLA 2
PRESENCIA DE CEPAS TOXIGENICAS EN DISTINTOS TIPOS DE
CACAHUETES COMERCIALES

	NUMERO DE MUESTRAS	MUESTRAS CON CEPAS TOXIGENICAS	
		N.º	%
CRUDO	38	14	36.8
TOSTADO	43	10	23.3
FRITO	21	5	23.8
TOTAL	102	29	28.4

TABLA 3
RELACION ENTRE CEPAS TOXIGENICAS Y TIPOS DE TRATAMIENTO
EN CACAHUETES

	NUMERO DE CEPAS ENSAYADAS	CEPAS TOXIGENICAS	
		N.º	%
CRUDO	180	50	27.8
TOSTADO	152	20	13.2
FRITO	55	9	16.4
TOTAL	387	79	20.4

Se han ensayado, para determinar la capacidad productora de aflatoxina, un total de 387 cepas, que se distribuyen según se puede observar en la tabla 3. El número de cepas testadas de cacahuete crudo ha sido de 180 de las cuales 50 resultan ser productoras de toxina, lo que representa el 27,8%, valor superior al de los otros dos grupos.

Estos resultados están de acuerdo con la idea de que los procesos de tostado y frito reducen la carga fúngica de las muestras, aunque posteriormente pueda producirse una nueva contaminación (LEE; CUCULLU; FRANZ y PONS 1969).

3.-Influencia de la cáscara sobre la micoflora.

El número de granos infectados por hongos es más elevado en las muestras descascaradas, como se puede observar en la tabla 4. El análisis estadístico realizado muestra diferencias muy significativas del orden del 99%, entre los dos grupos establecidos con y sin cáscara.

Así pues observamos como en la contaminación por *Aspergillus flavus*, el porcentaje de infección es del 4,3 en las formas con cáscara, frente al 14,9 en las formas sin cáscara. En las muestras sin cáscara el

70% de los granos presentan contaminación mientras que en las muestras con cáscara solo el 39% de los granos están contaminados.

A la vista de estos resultados es lógico pensar que de alguna forma la cáscara impide o reduce la invasión de la semilla por los mohos.

TABLA 4
INFLUENCIA DE LA CASCARA EN LA INFECCION FUNGICA DE LOS GRANOS DE CACAHUETE

		CACAHUETES CON CASCARA	CACAHUETES SIN CASCARA	GENERAL	
Número de muestras		49	53	102	
I N F E C C I O N a	<i>A. flavus</i>	X = 4.3 σ = 9.5	X = 14.9 σ = 17.1	X = 9.8 σ = 14.9	MS ^g
	<i>A. niger</i>	X = 4.9 σ = 8.6	X = 12.6 σ = 14.8	X = 8.9 σ = 12.8	MS
	<i>Aspergillus</i> sps.	X = 4.9 σ = 10.9	X = 9.7 σ = 14.3	X = 7.4 σ = 13.0	MS
	<i>Penicillium</i>	X = 16.9 σ = 24.6	X = 20.7 σ = 17.0	X = 18.9 σ = 21.0	MS
	<i>Mucorales</i>	X = 1.9 σ = 5.4	X = 7.7 σ = 11.1	X = 4.9 σ = 9.3	MS
	<i>Fusarium</i>	X = 3.3 σ = 9.6	X = 0.4 σ = 2.8	X = 1.8 σ = 7.1	MS
	Levaduras	X = 7.7 σ = 13.0	X = 20.6 σ = 25.0	X = 14.4 σ = 21.1	MS
	GLOBAL	X = 39.1 σ = 28.4	X = 69.9 σ = 25.9	X = 55.1 σ = 30.7	

a.-Porcentaje de granos infectados.

g.-Significación de los resultados: Muy significativo, MS ($\geq 99\%$); Significativo, S (95-98%); No significativo, NS ($< 95\%$).

- Cepas aflatoxigénicas

Se estudia la posible relación que ejerce la cáscara sobre la presencia de *A. flavus* productores de toxina en las 102 muestras analizadas, tabla 5.

De las 102 muestras estudiadas 29 tienen cepas toxigénicas que se distribuyen de la siguiente manera: el 24,5% de las muestras con cáscara presentan cepas productoras y el 32% de las muestras sin cáscara, en general 28,4% de las muestras son portadoras de cepas toxigénicas.

De las 387 cepas estudiadas, 149 proceden de granos de cacahuete con cáscara, siendo 23 de ellas toxigénicas lo que equivale al 15,4%, las otras 238 proceden de c. sin cáscara, siendo 56 de ellas productoras de toxina, lo que equivale al 23,5%. En términos generales el 20,4% de las cepas son productoras de toxina, tabla 6.

Se observa que las muestras descascaradas presentan mayor número de muestras con cepas toxigénicas. Sin embargo las diferencias son pequeñas y no son estadísticamente significativas.

TABLA 5
PRESENCIA DE CEPAS TOXIGENICAS EN CACAHUETES
CON Y SIN CASCARA

	NUMERO DE MUESTRAS	MUESTRAS CON CEPAS TOXIGENICAS	
		N.º	%
CACAHUETES con CASCARA	49	12	24.5
CACAHUETES sin CASCARA	53	17	32.1
TOTAL	102	29	28.4

TABLA 6
RELACION ENTRE CEPAS TOXIGENICAS Y PRESENCIA O
AUSENCIA DE CASCARA

	NUMERO DE CEPAS ENSAYADAS	CEPAS TOXIGENICAS	
		N.º	%
CACAHUETES con CASCARA	149	23	15.4
CACAHUETES sin CASCARA	238	56	23.5
TOTAL	387	79	20.4

BIBLIOGRAFIA

- HANLIN, R.T. (1970). *Ibid* 40, 341.
- HESSELTINE, C.W. y Cols. (1970). Production of various aflatoxins by strains of the *Aspergillus flavus* series. In Herzberg. (ed) p. 202-210.
- LEE, L.S., A.F. CUCULLU, A.O. FRANZ Y W.A. PONS (1969). Destruction of aflatoxins in peanuts during dry and oil roasting. *J. Agr. Food. Chem.* Vol. 17: 451-453.
- NAGARAJAN, V. y R.V. BATH. (1972). Aflatoxin production peanut varieties by *Aspergillus flavus* Link and *Aspergillus parasiticus* Speare. *Applied Microbiology*. Vol. 25: 319-321.
- PORTER, D.M. y K.H. GARREN. (1968). *Tropical Science*, 10, 100.
- PORTER, D.M. y F. SCOTT-WRIGHT. (1971). *Phytopath.* 61: 1149.