

FLORA FÚNGICA Y NIVELES DE AFLATOXINAS EN FRUTAS Y HORTALIZAS FRESCAS¹

*Rito Herrera²; Martha de Von Chong³; Alexis De La Cruz⁴;
Jenifer Cedeño⁵; Lissete Vargas⁵*

RESUMEN

Las frutas y hortalizas son los principales sustratos orgánicos que permiten el desarrollo y esporulación de hongos en los mercados agropecuarios. Este trabajo consistió en caracterizar la flora fúngica y evaluar los niveles de aflatoxinas totales, mediante el tratamiento de lavado y no lavado en frutas (naranja, guayaba) y hortalizas (repollo, tomate) frescas. Este estudio se realizó en dos supermercados en el distrito de Chitré, provincia de Herrera. El aislamiento de hongos se efectuó en 128 muestras, en un periodo de un mes. Los resultados de los análisis de las muestras estudiadas demuestran que hay una elevada presencia del hongo *Aspergillus niger*, el cual presentó un 58% del total respecto a los otros hongos encontrados, seguidos de *Aspergillus ochraceus* con un 18%, *Aspergillus flavus* con 7%, *A. versicolor* con 6%, *A. sclerotium* con 5%, *Alternaria* sp. con 4% y *Rhizopus* sp. con 2%. La detección de aflatoxinas totales se realizó por medio de ELISA, siendo este un inmunoensayo de enzimas competitivas, en donde los niveles de aflatoxinas de las muestras procesadas se analizaron por tratamiento. Los resultados de cada producto evaluado cumplieron en su mayoría con las tres normas internacionales, a excepción de la guayaba que sobrepasó los niveles permisibles de 4ppb para la UE. El mayor crecimiento fúngico se observó en el supermercado A, para la guayaba bajo el tratamiento de lavado. De igual manera, para las aflatoxinas totales el producto con más concentración fue la guayaba. El hongo de mayor crecimiento fue el *Aspergillus niger*.

Palabras claves: *Aspergillus niger*, *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus flavus*, micotoxinas.

¹Recepción: 25 de julio de 2022. Aceptación: 10 de septiembre de 2022. Universidad de Panamá.

²IDIAP. Centro de Innovación Agropecuaria en Recursos Genéticos-Universidad de Panamá. Ph.D. Microbiología. e-mail: rhv76@yahoo.es. <https://orcid.org/0000-0003-2509-0391>

³Universidad de Panamá, Centro Regional Universitario de Coclé. M.Sc. Microbiología. <https://orcid.org/0000-0002-1087-4196>

⁴Universidad de Panamá, Centro Regional Universitario de Azuero. M.Sc. Microbiología Ambiental. <https://orcid.org/0000-0002-1938-6535>

⁵Universidad de Panamá, Centro Regional Universitario de Coclé. Lic. Téc. Alimentos.



Este trabajo está licenciado bajo una [licencia Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/).

FUNGAL FLORA AND AFLATOXIN LEVELS IN FRESH FRUITS AND VEGETABLES

ABSTRACT

Fruits and vegetables are the main organic substrates, which allow the development and sporulation of fungi in the agriculture markets. This work consisted of characterizing the fungal flora and evaluating the levels of total aflatoxins, through the washed and unwashed treatment in fresh fruits (orange, guava) and vegetables (cabbage, tomato). This study was carried out in two supermarkets in the district of Chitré, province of Herrera. The isolation of fungi was carried out in 128 samples, in a period of one month. The results of the analyzed samples revealed a high presence of the *Aspergillus niger* fungus, which presented 58% of the total compared to the other observed fungi, followed by *Aspergillus ochraceus* with 18%, *Aspergillus flavus* with 7%, *A. versicolor* with 6%, *A. sclerotium* with 5%, *Alternaria* sp. with 4% and *Rhizopus* sp. with 2%. Total aflatoxins detection was performed using ELISA, this being a competitive enzyme immunoassay, where the aflatoxin levels of the processed samples were analyzed by treatment. The results of each evaluated product mostly comply with the three international standards, except for guava that exceeded the permissible levels of 4ppb for the EU. The highest fungal growth occurred in supermarket A, for guava product under washing treatment. Similarly, for total aflatoxins, guava was the product with the highest concentration. *Aspergillus niger* evidenced the fastest fungi growth.

Key words: *Aspergillus niger*, *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus flavus*, mycotoxins.

INTRODUCCIÓN

Los primeros casos de micotoxicosis conocidos fueron debidos al centeno contaminado con *Claviceps purpurea*, en la edad media. En Argentina, Quevedo (1912), describió la acción de los metabolitos tóxicos de un *Aspergillus* del maíz sobre especies animales, primera observación científica de las micotoxicosis en Sudamérica. En 1960 se dio una intoxicación masiva en Inglaterra por la enfermedad "X" de los pavos, la cual provocó la pérdida de 100.000 ejemplares intoxicados por harina de cacahuete. Lo que condujo al descubrimiento de las aflatoxinas, toxinas producidas por el hongo *Aspergillus flavus*, contaminantes alimentarios en zonas húmedas y potentes carcinógenos (Lillehoj, 1991).

En estudios microbiológicos realizados por la Universidad Veracruzana en México, se analizaron 28 muestras de frutas y hortalizas frescas, en un período de un año, aislando



Este trabajo está licenciado bajo una [licencia Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/).

27 especies de hongos fitopatógenos, donde el 51,9% sintetizaban micotoxinas (Trigos et al., 2008). Otra investigación por la Universidad Jorge Besadre Grohmann en diferentes mercados de abastos determinó la presencia de hongos fitopatógenos, obteniendo ocho géneros tales como: *Penicillium* sp., *Candida* sp., *Cladosporium herbarm*, *Rhodotorula* sp., *Rhizopus* sp., *Aspergillus niger*, *Botrytis* sp., *Mucor* sp. De igual manera, en la zona de Comondú, Baja California Sur México; se realizó aislamiento de hongos fitopatógenos en naranja. Identificando morfológicamente los géneros *Aspergillus*, *Fusarium* y *Penicillium* (Ochoa et al., 2007).

En las últimas investigaciones realizadas en Morelia, región oriente de Michoacán, se estudió la infección de hongos fitopatógenos en cultivos de guayabas (*Psidium guajava*), donde se identificó los géneros *Pestalotiopsis* y *Alternaria*; a los cuales se les realizó pruebas de sensibilidad, demostrando eficiencia en ambos géneros (Ávila, 2011).

En la unidad de investigación del Centro Regional Universitario de Azuero se realizaron estudios que comprueban la presencia de las Aflatoxinas B1 en Maíz, producto obtenido en el campo, al igual que las frutas y las hortalizas. También se obtuvieron crecimientos de hongos de los géneros: *Aspergillus* sp., *Fusarium* sp. y *Penicillium* sp.

La importancia de las pérdidas postcosecha de frutas y hortalizas radica en una inversión para su producción, distribución y venta. La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura [FAO, 2003], calcula en 25% las pérdidas postcosecha por consecuencias de manipulación inadecuada, deterioro, plagas y enfermedades, implicando que una cuarta parte de la producción no llegue al consumidor. Además, menciona que las frutas, hortalizas, raíces y tubérculos son menos resistentes y se deterioran rápidamente. Por esta razón, en algunos productos como plátanos, tomates y cítricos, las pérdidas no son menos del 50%, la mitad de lo producido (Wilson y Lawrence, 1985).

Las pérdidas postcosecha en el mundo causadas por hongos, pueden ser del 12% o incluso superior en los países en desarrollo). Muchos patógenos están causando graves daños a la agricultura en pre y postcosecha. De esta manera, la amenaza de las enfermedades postcosecha está en función de la manera en cómo se manejen la mayoría



Este trabajo está licenciado bajo una [licencia Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/).

de los productos hortofrutícolas y de ahí la importancia de entender la naturaleza de los patógenos y la fisiología del producto (Baipai et al., 2007).

Panamá es un país con una elevada producción agrícola, generalmente en tierras altas, donde estos productos son utilizados para el consumo nacional e internacional; debido a las características climatológicas es cada vez mayor la aparición de hongos en las cosechas y en el almacenaje. En la actualidad, falta establecer niveles permisibles de flora fúngica y micotoxinas, representando un agente nocivo para la salud, ya que estos se pueden aspirar en mercados o puntos de esporulación donde pueden causar alergias respiratorias, intoxicaciones sanguíneas o bien micotoxicosis por consumo del producto contaminado.

Las frutas y hortalizas son productos perecederos, susceptibles al ataque de microorganismos antes o después de la cosecha y durante su almacenamiento; tal es el caso de los hongos fitopatógenos, los cuales, de acuerdo con Herrera-Estrella y Carsolio (1998) pueden provocar grandes pérdidas en la producción de frutas y hortalizas. Por otra parte, este tipo de microorganismos son capaces de producir sustancias, como resultado de su metabolismo secundario, como las micotoxinas, que se distribuyen con facilidad en el substrato y pueden llegar a ser perjudiciales, aun cuando se encuentran en concentraciones muy bajas, poniendo en entredicho su inocuidad, ya que un 25% de las cosechas de alimentos a nivel mundial están contaminadas con algún tipo de micotoxinas, lo cual representa un fuerte riesgo para la salud de la población de países que no controlan estos contaminantes (FAO, 2003).

El control de la contaminación por aflatoxinas debe basarse en minimizar el número de frutos susceptibles a la colonización por el patógeno, disminuyendo el daño por insectos y reduciendo el porcentaje de frutos con apertura prematura de la cáscara. En California, debido a la asociación entre la polilla de la naranja y la contaminación por aflatoxinas, el control de las poblaciones de esta plaga es esencial (Palumbo et al., 2014). Por ejemplo, una de las prácticas más efectivas consiste en adelantar la recolección a fin de evitar los daños causados por la tercera generación de la polilla de la naranja.



Este trabajo está licenciado bajo una [licencia Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/).

Finalmente, la industria ha usado distintos métodos para reducir la presencia de aflatoxinas en alimentos contaminados, por ejemplo, el tostado de pistachos en presencia de zumo de limón o ácido cítrico destruye el 90% de aflatoxina B1 (Rastegar et al., 2017). La especie *A. flavus* produce aflatoxinas B1 y B2, mientras que *A. parasiticus* puede producir, además, aflatoxinas G1 y G2. Debido a ello, en California (EE. UU.), el porcentaje de muestras de pistacho que sobrepasan el umbral de 15 µg/kg a causa de la infección por *A. parasiticus* son frecuentemente mayores que los causados por *A. flavus*. La aflatoxina B1 es uno de los cancerígenos más potentes conocidos y está regulada en la Unión Europea independientemente del conjunto de éstas (García López et al., 2018).

Por otra parte, se observan características generales de las micotoxinas, su ingesta, peligro, micotoxicosis y la clasificación de las micotoxinas que abarca aflatoxinas y otras que son de interés, además habla de las normativas de las aflatoxinas totales para el consumo humano en alimentos como lo son: UE, MERCOSUR y AESAN.

Esta investigación tuvo como objetivo la evaluación y detección de flora fúngica y niveles de aflatoxina totales con la técnica de ELISA, tomando en cuenta el lavado y no lavado de frutas (naranja, guayaba) y hortalizas (repollo, tomate) frescas; procedente de dos supermercados en el distrito de Chitré, provincia de Herrera.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación del sitio de estudio:

Se llevó a cabo en dos supermercados del distrito de Chitré, provincia de Herrera, denominados Supermercado A; ubicado en Avenida central, corregimiento de Chitré (cabecera) y Supermercado B; ubicado frente Arcillas de Chitré, corregimiento de Chitré (cabecera). Ambos supermercados son de grandes cadenas a nivel nacional y debido a las políticas de restricción bajo las que se rigen estos supermercados para la autorización a realizar estudios de este tipo, no se podrá dar a conocer sus nombres; ya que marcarían la imagen de estos. El área de estudio específica fueron las frutas y hortalizas frescas tomadas directas de los refrigeradores donde éstas permanecen refrigeradas y listas para el consumo humano.



Este trabajo está licenciado bajo una [licencia Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/).

La identificación de los hongos se realizó en la unidad de investigación y el laboratorio de Microbiología del Centro regional universitario de Azuero, Universidad de Panamá, y en el laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Naturales, Exactas y Tecnología, Centro regional Universitario de Coclé, Universidad de Panamá.

Diseño Experimental

Esta investigación es de carácter descriptivo expo factor, en donde las muestras serán tomadas al azar, los datos obtenidos se procesarán por medio de la estadística descriptiva. Para el mismo se tomó en cuenta las variables: independiente (Crecimiento de hongos y niveles de aflatoxinas) y la dependiente (muestras lavadas y muestras no lavadas).

El ensayo consistió en evaluar cuatro productos, dos frutas (naranja, guayaba) y dos hortalizas (repollo, tomate) con una réplica de cada una, siendo cuatro frutas y cuatro hortalizas por cada supermercado (Supermercado A y Supermercado B), ubicados en el distrito de Chitré, provincia de Herrera, a mediados del mes noviembre y parte de diciembre 2012. Dichas réplicas se tomaron para realizar el tratamiento de lavado durante cinco minutos. Esto nos permitió comparar el crecimiento fúngico entre frutas y hortalizas lavadas y no lavadas. El muestreo se llevará a cabo dos veces por semana, en un periodo de un mes, siendo en total 128 muestras.

Los conteos se dieron en respuesta binomial; es decir, si existía o no existía presencia del hongo en cada uno de los productos sometidos a tratamiento. Debido a lo anterior señalado, el análisis estadístico se llevó a cabo utilizando un análisis de frecuencias con la prueba de Chi-Cuadrada.

Muestreo

Las muestras fueron tomadas al azar directamente de los refrigeradores donde se encontraban las frutas y hortalizas frescas, listas para el consumo humano, en dos supermercados elegidos al azar en el distrito de Chitré, provincia de Herrera, donde serán tomadas una replicas por frutas (naranja, guayaba) y hortalizas (repollo, tomate). Las mismas, se colocaron dentro de bolsas plásticas estériles y se transportaron en una nevera bajo refrigeración de 4° C. Posteriormente, fueron llevadas a la unidad de investigación del



Este trabajo está licenciado bajo una [licencia Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/).

Centro Regional Universitario de Azuero; en donde se procedió a realizar los análisis pertinentes.

Aislamiento de hongos

Una vez obtenida las muestras procedentes de los dos supermercados, se realizó el aislamiento de los hongos presentes en las frutas y hortalizas no tratadas (sin lavar) y tratadas (lavadas con agua potable por cinco minutos); las muestras se aislaron de un raspado superficial, la cual se procedió a sembrar en platos Petri estériles con medio Agar Papa-Dextrosa (PDA) adicionando 10 mg/ml de ampicilina; antibiótico que inhibe el crecimiento de bacterias (Benbow y Sugar, 1999).

Los platos fueron colocados en una incubadora marca J.P Selector, modelo 136630; a 35° C durante 7 días como tiempo límite, monitoreando el crecimiento de la flora fúngica en diferentes tiempos (24hr, 48hr y 72hr). Posteriormente, se observó su crecimiento con ayuda del estereoscopio y microscopio (Rebufel y Olavarría, 1989).

Separación del medio

Las frutas y hortalizas procedentes de los dos supermercados que presentaron crecimiento fúngico (esporas, hifas y micelios), se separaron de su medio original para evitar contaminación con otros géneros de hongos presentes en una misma muestra. Posteriormente, se realizaron los micro cultivos, que consistieron en cortar un trozo de agar aproximadamente de 1 cm de ancho y largo con crecimiento fúngico de colonias diferenciales; luego se colocaron en un plato Petri con medio de cultivo PDA, luego se le colocaba un cubreobjeto para que las hifas de los hongos se adhieran. Finalmente, se procedió a incubar los micro cultivos durante las primeras 72 horas y se realizó la caracterización fenotípica y morfológica (macro y microscópica mediante montaje por disección) bajo el microscopio; de cada uno de los micro cultivos aislados.

Montaje de placas

Luego de las 72 horas de incubación, se retiró el cubreobjeto que se encontraba sobre el micro cultivo con ayuda de una pinza estéril, el mismo fue colocado sobre un portaobjeto el cual contenía una gota de azul de metileno al 1%, que permitía que los



Este trabajo está licenciado bajo una [licencia Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/).

elementos fúngicos se tiñan de un color azul-violeta, el cual facilitó su identificación con el microscopio bajo los objetivos de 10X, 40X y 100X.

Identificación fenotípica con la clave taxonómica

Los hongos presentan una sorprendente variedad de tamaños y formas. Los mohos son hongos filamentosos o micelares, estando compuestos de unas redes llamadas hifas que están entrelazados formando micelio. El micelio y los cuerpos fructíferos de un moho se refieren colectivamente al talo fungal. Las esporas de los hongos son de importancia primordial en la identificación del hongo, por ello, se empleó claves taxonómicas.

Para la identificación de hongos fitopatógenos es necesario la observación de sus estructuras somáticas y reproductivas. Mediante la técnica de cámara húmeda y/o aislamiento es posible inducir la aparición de estas estructuras. La observación de las características de las estructuras producidas y el uso de claves taxonómicas son necesarios para determinar el género y la especie del hongo patógeno. Para la identificación de los hongos basadas en sus estructuras reproductivas se utilizó la clave de Carrillo, 2003.

Inmunoensayo enzimático para el análisis cuantitativo de aflatoxinas (Prueba de ELISA)

La prueba de ELISA fue utilizada para la detección y cuantificación de las aflatoxinas, como se observa en el flujograma de la Figura 1.

Para la confección de la curva patrón, se tomaron cuatro sensibilizadores con anticuerpo anti-aflatoxina a concentraciones de 0 ppb (estándar 1), 5 ppb (estándar 2), 15 ppb (estándar 3) y 50 ppb (estándar 4), se utilizaron 20 micro pozos de fondo rojo (pozos de mezclado) para realizar dicha prueba, cuatro micro pozos para los controles y 16 micro pozos para las muestras; todos estos colocados sobre el soporte de microplaca, con una puntilla nueva para cada micro pozo. Finalmente, se procedió a la lectura de los micro pozos usando el lector StatFax® con un filtro de 650 nanómetros.



Este trabajo está licenciado bajo una [licencia Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/).

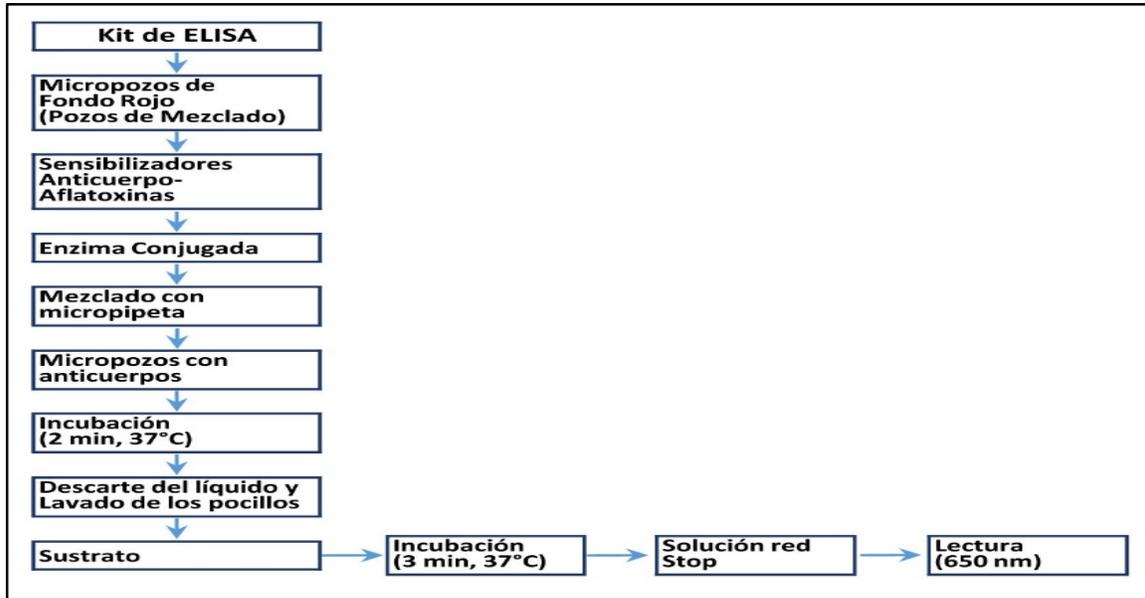


Figura 1. Flujograma de proceso. Inmunoensayo enzimático para el análisis cuantitativo de Aflatoxinas.

Procesamiento para aflatoxinas totales con el Kit de ELISA

Para la determinación de aflatoxinas totales se utilizó el kit Elisa Veratox Aflatoxin (Quantitative Test®) se procedió a pesar 5 g de cada fruta y hortaliza (tratada y no tratada), las mismas fueron trituradas con un homogeneizador Stomacher procesador de alimentos, luego en un vaso químico de 50 ml se mezcló la muestra triturada con 25 ml de metanol al 70% y se dejó reposar por tres minutos, posteriormente se procedió a filtrar la mezcla con papel filtro estéril; obteniendo así la muestra concentrada. Los datos cuantitativos se determinaron a 650 nm mediante el lector StatFax®.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se evaluaron 128 muestras, a partir de estos crecimientos fúngicos se caracterizaron taxonómicamente los hongos *Aspergillus niger* con 58%, *Aspergillus ochraceus* con 18% y *Aspergillus flavus* 7%, siendo estos los que presentaron la mayor cantidad de muestras positivas para el crecimiento de hongos fitopatógenos presentes en frutas y hortalizas, sin embargo, se identificó de igual manera otras especies de hongos con menor crecimiento como *Aspergillus versicolor* con 6%, *Aspergillus sclerotiorum* con 5%, *Alternaria* sp. con 4% y *Rhizopus* sp. 2%.



Este trabajo está licenciado bajo una [licencia Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/).

El análisis de la investigación sobre poblaciones de hongos (fenotipos) en los tratamientos sin lavar, lavado de frutas y hortalizas frescas se realizó por conteos de las muestras positivas en respuesta binomial (presencia o ausencia) del hongo en cada uno de los productos evaluados. La descripción cualitativa se da para los hongos con mayor ocurrencia como lo son: *A. niger*, *A. ochraceus*, *A. flavus*; para ellos se muestra cuadros y gráficas de las muestras positivas y porcentajes en naranja, guayaba, repollo, tomate para los tratamientos de lavado y no lavado en cada muestreo realizado en el supermercado A y B.

Por otra parte, para la detección de las aflatoxinas totales con el kit de ELISA, resultando la guayaba el único producto que sobrepasa los niveles permisibles para consumo humano, establecidos por la UE.

Géneros y especies de la flora fúngica encontrada en frutas y hortalizas frescas.

Estos hongos fueron aislados de frutas y hortalizas frescas preparadas para la distribución y consumo del ser humano en los supermercados. Se lograron identificar tres géneros de hongos: *Aspergillus* con cinco especies (*A. niger*, *A. ochraceus*, *A. flavus*, *A. versicolor*, *A. sclerotium*), *Alternaria* sp. y *Rhizopus* sp.

La distribución total de la flora fúngica encontrada en frutas y hortalizas frescas resultó que el hongo *Aspergillus niger* alcanzó un 58% de crecimiento, siendo el hongo con mayor porcentaje (Figura 2).



Este trabajo está licenciado bajo una [licencia Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/).

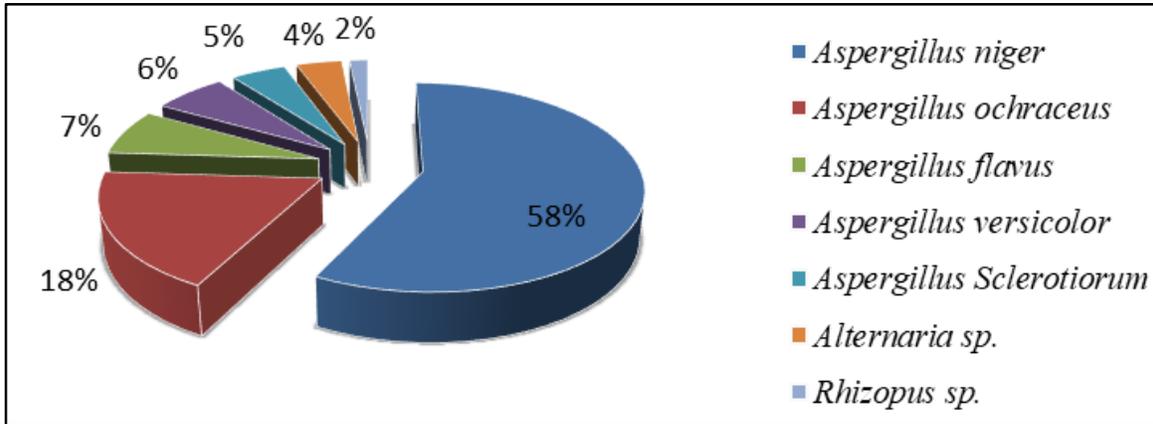


Figura 2. Distribución total de porcentaje de flora fúngica en frutas y hortalizas frescas, en dos supermercados en Chitré.

Los hallazgos encontrados para los hongos en frutas y hortalizas frescas en nuestra investigación se asemejan al estudio realizada por Trigos et al., 2008. En el cual se obtuvieron un total de 27 especies fúngicas, pertenecientes a 18 géneros, de las cuales coincidió con los resultados para los hongos *Alternaria sp.* y *Rhizopus sp.* en todos los hongos encontrados se comprobó que el 100% presentaron patogenicidad en el producto original, de acuerdo con los postulados de Koch; sin embargo, éstas pasaron desapercibidas tanto por vendedores como por consumidores. Finalmente, se corroboró que el 60,9% de dichas especies pueden ser potencialmente productoras de micotoxinas (Trigos et al., 2008).

Crecimiento de *A. niger* por muestreos

Para evaluar la presencia de *A. niger* sobre frutas y hortalizas en cada muestreo se tomó en cuenta las condiciones muy variadas para su desarrollo y crecimiento inmediato, ya que en tres días se observaba la presencia de éste (colonias negras que desarrollan gran cantidad de esporas), lo que influye en la proliferación y propagación de las del patógeno (Guerrero et al., 2003).

La comparación de los tratamientos y supermercados se realizaron con la finalidad de corroborar la eficacia del lavado de cada fruta y hortaliza evaluada, (si disminuye o aumenta en cada supermercado en este caso para el hongo *A. niger*), ya que es importante determinar la calidad microbiológica de cada producto que se consume (Cuadro 1).



Este trabajo está licenciado bajo una [licencia Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/).

Cuadro 1. Distribución de *Aspergillus niger* por tratamiento y producto en dos supermercados de Chitré.

TRATAMIENTO	NARANJA	GUAYABA	REPOLLO	TOMATE	TOTAL
SIN LAVAR: 1	8	14	8	5	35
LAVADO: 2	6	11	10	10	37
SUPERMERCADO					
A	9	14	10	7	40
B	5	11	8	8	32

En la comparación de muestras positivas para el hongo *A. niger* se encontró mayor presencia en la guayaba sin lavar, de igual manera este producto es el de mayor crecimiento en el supermercado A. Sin embargo, en ambos tratamientos y supermercados hubo alta prevalencia del hongo con diferencia mínima entre ellos, señalando los resultados que el tratamiento de lavado con agua potable no es efectivo en la disminución de la presencia de este hongo, ya que en ciertos productos el tratamiento de lavado aumenta la presencia de *A. niger*.

Crecimiento general de *Aspergillus ochraceus*

Para el comportamiento del hongo *A. ochraceus* los resultados indicaron que el crecimiento más elevado se observó en naranja, con un 25%. En la distribución total de este hongo hubo mayor crecimiento en muestras sin lavar procedentes del supermercado A (Cuadro 2).



Este trabajo está licenciado bajo una [licencia Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/).

Cuadro 2. Distribución de muestras positivas y porcentajes para *Aspergillus ochraceus* para tratamiento, supermercado, producto y muestreo.

TRATAMIENTO	POSITIVOS DE 64	Porcentaje
SIN LAVAR	13	20,13
LAVADO	10	15,62
SUPERMERCADO	POSITIVOS DE 64	
A	12	18,75
B	11	17,19
PRODUCTO	POSITIVOS DE 32	
Naranja	8	25,00
Guayaba	5	15,63
Repollo	3	9,37
Tomate	7	21,87
MUESTREOS	POSITIVOS DE 16	
1	2	12,50
2	3	18,75
3	5	31,25
4	3	18,75
5	4	25,00
6	6	37,50
7	0	0,00
8	0	0,00

Crecimiento general de *Aspergillus flavus*

La presencia de este hongo en los productos alimenticios es notoria, ya que es uno de los causantes carcinógenos en la actualidad. El crecimiento de este hongo en frutas y hortalizas nos indica una posible presencia de Aflatoxinas totales ya que no es necesario alta ocurrencia de un hongo para la producción de su micotoxina (Carrillo, 2003). En el Cuadro 3, se observa el comportamiento del hongo *Aspergillus flavus*. El crecimiento más relevante se observó en las muestras lavadas del supermercado B; siendo en la fruta guayaba donde se encontró mayor prevalencia de *A. flavus* con 9%.



Este trabajo está licenciado bajo una [licencia Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/).

Cuadro 3. Distribución de muestras positivas y porcentajes para *Aspergillus flavus* para tratamiento, supermercado, producto y muestreo.

TRATAMIENTO	POSITIVOS DE 64	Porcentaje
SIN LAVAR	3	4,69
LAVADO	6	9,38
SUPERMERCADO	POSITIVOS DE 64	
A	3	4,69
B	6	9,38
PRODUCTO	POSITIVOS DE 32	
Naranja	1	3,12
Guayaba	3	9,37
Repollo	2	6,25
Tomate	3	9,37
MUESTREOS	POSITIVOS DE 16	
1	2	12,50
2	1	6,25
3	0	0,00
4	1	6,25
5	0	0,00
6	2	12,50
7	1	6,25
8	2	12,50

Son suficientes, mínimas cantidades de colonias de *Aspergillus flavus* para su propagación y desarrollo toxigénico, ya que es uno de los hongos menos frecuentes, pero entre los más toxigénico debido a su potencial capacidad de producir metabolito secundario tóxico en fase estacionaria como lo son las aflatoxinas, (Kurtzman et al., 1987) micotoxina en estudio.

El crecimiento de *A. flavus* en tratamiento sin lavar y lavado de cada producto, donde observamos mayor crecimiento en muestras lavadas. Tanto en naranja como en repollo no se registra crecimiento en muestras sin lavar. El mayor crecimiento de *A. flavus* por supermercado se observa en el producto guayaba.



Este trabajo está licenciado bajo una [licencia Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/).

Los demás productos igual presentaron este hongo, pero con menos cantidad. En una investigación realizada por Ochoa et al. (2007) en Baja California Sur, México se muestran resultados similares a nuestra investigación, respecto a la naranja. Se aislaron e identificaron morfológicamente hongos fitopatógenos pertenecientes al género *Aspergillus*, donde se caracterizó *Aspergillus flavus*.

Evaluación de Aflatoxinas totales en frutas y hortalizas

Los controles se dan en ppb, siendo esto la unidad de medida de las concentraciones de aflatoxinas totales, cada uno indica el rango de densidad que se tomara en cuenta para la comparación con las normas internacionales de niveles de aflatoxinas totales en alimentos, ya que en la actualidad no se cuenta con estas en Panamá. En relación con la disminución de densidad óptica, entre menor es el valor de aflatoxinas totales en los controles (ppb) mayor será la concentración de densidad óptica (Cuadro 4).

Cuadro 4. Concentración de Aflatoxinas totales en función de su densidad óptica.

Controles	Densidad Óptica
0 ppb	2,855
5 ppb	1,625
15 ppb	1,158
50 ppb	0,574

Niveles de Aflatoxinas totales en supermercado A y B para frutas y hortalizas lavadas y no lavadas

Las aflatoxinas representan un riesgo muy elevado para la salud pública, por ser un potencial carcinógeno; por lo que se recomienda que se reduzca los niveles de éstas en alimentos (Bennett y Klich, 2003). El problema de las aflatoxinas totales es una preocupación mundial, causando importantes pérdidas humanas y económicas. Aproximadamente el 5-10 % de la producción total mundial de alimentos parece estar irremediablemente pérdida por estas causas (Abbas et al., 2016).

La densidad óptica está estrictamente ligada con la concentración de aflatoxinas totales porque muestra el rango de ppb que se encuentra en cada muestra que resultó positiva (a medida que aumenta la concentración de AFT la densidad disminuye). Las



Este trabajo está licenciado bajo una [licencia Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/).

concentraciones de aflatoxinas totales más elevadas fueron encontradas en el supermercado A en repollo sin lavar (Cuadro 5).

Cuadro 5. Comparación de niveles de Aflatoxinas Totales en el supermercado A, para frutas y hortalizas frescas.

Muestra	Densidad Óptica	Aflatoxinas Totales (ppb)
1T1	2,609	0,3
1T2	2,198	1,5
2T1	2,489	0,6
2T2	2,542	0,4
3T1	2,067	2,1
3T2	2,351	0,9
4T1	2,286	1,1
4T2	2,337	1,0

Nota: Para una mejor muestra de cuadros y gráficas correspondientes a los niveles de aflatoxinas totales encontradas en cada uno de los supermercados (A y B) se abreviaron ciertos términos que se detallan a continuación: (1 = Naranja, 2 = Guayaba, 3 = Repollo, 4 = Tomate, T1 = Tratamiento sin lavar, T2 = Tratamiento de lavado).

En el supermercado A, se observa los niveles de aflatoxinas totales encontrados en frutas y hortalizas frescas, por medio de promedio evaluado por el lector para kit de ELISA en cada uno de los productos y tratamientos. Se evaluó los productos naranjas, guayaba, repollo y tomate siendo 1, 2, 3, 4 respectivamente y los tratamientos 1 y 2, lavado y sin lavar. Las aflatoxinas representan un peligro por consumidor de frutas y hortalizas contaminadas, ya que son sin lugar a duda las micotoxinas más importantes por ser sustancias hepatotóxicas, carcinogénicas, teratogénicas y mutagénicas (Frisvad y Samson, 1991).

En el supermercado B se encontró la mayor concentración de aflatoxinas totales en frutas y hortalizas frescas, en el producto guayaba para el tratamiento lavado (2T2), seguido de la naranja en el tratamiento lavado (1T2). A medida que la densidad disminuyó la concentración de AFT aumentó notoriamente. La guayaba fue el producto donde se encontró mayor la presencia del hongo *Aspergillus flavus* y en el supermercado B este resultado se refleja en los niveles de aflatoxinas totales encontrados, ya que de igual manera fue el producto con mayor concentración de aflatoxinas totales. Esto nos permite



Este trabajo está licenciado bajo una [licencia Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/).

relacionar la presencia de *A. flavus* con la concentración de Aflatoxinas totales en el producto guayaba para el mismo supermercado (Cuadro 6).

Cuadro 6. Niveles de Aflatoxinas Totales en el supermercado B, para frutas y hortalizas frescas.

Muestra	Densidad Óptica	Aflatoxinas Totales (ppb)
1T1	2,479	0,6
1T2	2,104	1,9
2T1	2,283	1,2
2T2	1,597	5,6
3T1	2,424	0,7
3T2	2,170	1,6
4T1	2,203	1,5
4T2	2,177	1,6

Nota: Para una mejor muestra de cuadros y gráficas correspondientes a los niveles de aflatoxinas totales encontradas en cada uno de los supermercados (A y B) se abreviaron ciertos términos que se detallan a continuación: (1 = Naranja, 2 = Guayaba, 3 = Repollo, 4 = Tomate, T1 = Tratamiento sin lavar, T2 = Tratamiento de lavado).

Comparación de aflatoxinas totales encontradas, respecto a normas alimenticias internacionales.

Los resultados en comparación a los niveles de aflatoxinas totales permisibles en alimentos según la Unión Europea, MERCOSUR y AESAN, mostraron que el producto guayaba fue el único que sobrepasó los niveles permisibles de 4 ppb de la UE, con una concentración de 6 ppb (Figura 3).

Por otra parte, los demás productos contienen cantidades menores de aflatoxinas que representan de igual manera un peligro, ya que el consumo constante de bajas concentraciones se acumula hasta llegar a ser perjudiciales en la salud. Las concentraciones obtenidas para las aflatoxinas totales nos permiten observar que independientemente del producto y tratamiento aplicado los niveles de aflatoxinas persisten de tal modo que el agua potable que se les aplica en casa para el consumo diario no ayuda a disminuir los riesgos que representan en la salud pública las aflatoxinas.



Este trabajo está licenciado bajo una [licencia Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/).

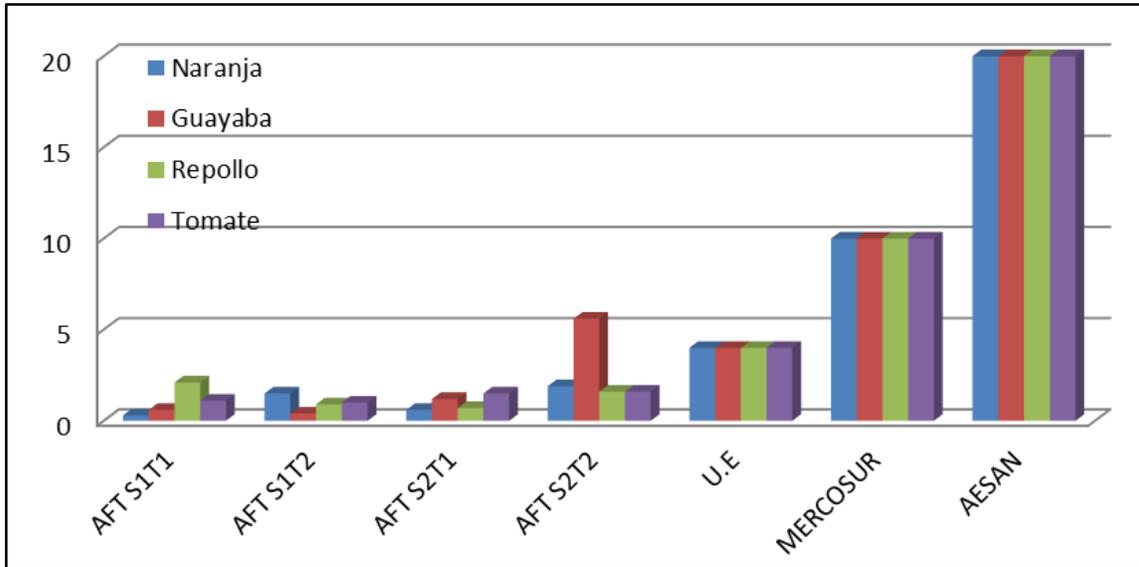


Figura 3. Comparación de Aflatoxinas Totales en frutas y Hortalizas frescas, respecto a las normas de niveles permisibles, en dos supermercados de Chitré.

Es importante mencionar que de los cuatro productos evaluados solo uno sobrepasó los niveles permisibles en una de las tres normativas empleadas para la comparación de los niveles de aflatoxinas totales en alimentos, por lo que se consideró que para todos los productos los niveles fueron bajos.

CONCLUSIONES

- El hongo con mayor ocurrencia en este estudio fue *Aspergillus niger* con un 58%.
- El tratamiento de lavado y el Supermercado A presentaron la mayor ocurrencia de flora fúngica.
- El producto con mayor concentración de aflatoxinas totales fue la guayaba con 6 ppb, en el supermercado B, siendo el único producto que sobrepasó los niveles permisibles de la UE para aflatoxinas totales en alimentos.



Este trabajo está licenciado bajo una [licencia Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/).

REFERENCIAS

- Abbas, K., Bellaloui, N., y Arnold Bruns, H. (2016). Investigating Transgenic Corn Hybrids as a Method for Mycotoxin Control. *Food and Nutrition Sciences*, 7(1). [https://www.scirp.org/\(S\(351jmbntvnsjt1aadkposzje\)\)/reference/ReferencesPapers.aspx?ReferenceID=1661257](https://www.scirp.org/(S(351jmbntvnsjt1aadkposzje))/reference/ReferencesPapers.aspx?ReferenceID=1661257)
- Ávila, L. (2011). Hongos Fitopatógenos Aislados de Cultivar de Guayaba (*Psidium guajava*). Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. México. Automatización. UMNSNH. 11. <http://bibliotecavirtual.dgb.umich.mx/>
- Bajpai, V., Rahman, A., y Chul, K. S. (2007). Chemical composition and anti-fungal properties of the essential oil and crude extracts of *Metasequoia glyptostroboides*. Miki ex Hu. *Industrial Crops and Products*, 26(1), 28-35. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2006.12.012>
- Benbow, J. M., y Sugar, D. (1999). Fruit surface colonization and biological control of postharvest diseases of pear by preharvest yeast application. *Plant Disease*, 83(9), 839-844. <https://apsjournals.apsnet.org/doi/pdf/10.1094/PDIS.1999.83.9.839>
- Bennett, J. W., y Klich, M. (2003). Mycotoxins. *Clinical Microbiology Reviews*, 16(3), 497-516. <https://doi.org/10.1128/CMR.16.3.497-516.2003>
- Carrillo, L. (2003). *Los Hongos de los alimentos y Forrajes*. Universidad Nacional de Jujuy. I edición:1-31. <https://es.scribd.com/document/406421880/Manual-de-Microbiologia-de-los-Alimentos-pdf>
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. (2003). *Manual sobre la aplicación del sistema de análisis de peligros y de puntos críticos de control (APPCC) en la prevención y control de las micotoxinas*. Capítulo 1, 9-14. <https://www.fao.org/3/y1390s/y1390s00.htm>



Este trabajo está licenciado bajo una [licencia Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/).

Frisvad, J. C., y Samson, R. A. (1991). Mycotoxins produced by species of *Penicillium* and *Aspergillus*. Chelkowski J (Ed.) Cereal Grain. Amsterdam, *Elsevier*, 441-476.
<https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=NL9203854>

García López, M., Jaime, R., Camilletti, B., Beltrán, A., Michailides, T., y Morall, J. (2018). Contaminación de aflatoxinas en frutos secos: un problema emergente. *Phytoma*, (302), 38-42.
https://www.phytoma.com/images/pdf/302_frutales_aflatoxinas_frutos_secos.pdf

Guerrero, T. A., Ruiz Sánchez, D., Martínez Chacón, J. F., García, Y., Álvarez Chacón, R., Wong-Chio, M., Vértiz-Chávez, E., y Zavala, J. (2003). Aislamiento de hongos en instalaciones deportivas de la UNAM. *Revista de la Facultad de Medicina UNAM*, 46(3), 93-96. <https://www.medigraphic.com/pdfs/facmed/un-2003/un033d.pdf>

Herrera-Estrella, A., y Carsolio, C. (1998). *Medio ambiente, control biológico y hongos parásitos*. Avance y Perspectiva: 195-204.
<https://www.semanticscholar.org/paper/Medio-ambiente%2C-control-biol%C3%B3gico-y-hongos-Estrella-Carsolio/9a4c43cfeea799a2d3d02a00f750bde0c08b3169>

Ochoa, J. L., Hernández-Montiel, L. G., Latisnare – Barragán, H., León de La Luz, J. L., y Larralde-Corona, C. P. (2007). Aislamiento e Identificación de Hongos Patógenos de naranja *Citrus sinencis* L. -Osbeck cultivada en Baja California Sur, México. *Ciencia y Tecnología Alimentaria*, 5(5), 352-359.
<https://doi.org/10.1080/11358120709487712>

Rastegar, H., Shoeibi, S., Yazdanpanah, H., Amirahmadi, M., Khaneghah, A. M., Campagnollo, F. B., y Sant'Ana, A. S. (2017). Removal of aflatoxin B1 by roasting with lemon juice and/or citric acid in contaminated pistachio nuts. *Food Control*, 71, 279-284. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.06.045>



Este trabajo está licenciado bajo una [licencia Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/).

Rebufel, P., y Olavarría, J. (1989). Metodologías para la identificación de especies de hongos en granos básicos almacenados. Santiago, Chile: Serie La Platina (13), 85-88. <https://hdl.handle.net/20.500.14001/30603>

Trigos, A., Ramírez, K., y Salinas, A. (2008). Presencia de hongos fitopatógenos en frutas y hortalizas y su relación en la seguridad alimentaria. *Revista Mexicana de micología*, 28, 125-129. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-31802008000300015

Wilson, C. L., y Lawrence, P. P. (1985). Potential for biological control of postharvest plant diseases. *Plant Disease*, 69(5), 375-378. https://www.apsnet.org/publications/PlantDisease/BackIssues/Documents/1985Articles/PlantDisease69n05_375.pdf



Este trabajo está licenciado bajo una [licencia Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/).