

Rev. Cienc. Tecnol.

Año 8 / Nº 8 / 2006 / 35-38

EVALUACIÓN DE LA FLORA FÚNGICA PRESENTE EN LA YERBA MATE ESTACIONADA EN GALPONES CALEFACCIONADOS

Marucci, Raúl S.; Kanzig, Rodolfo G., Sartori, Patricia

Laboratorio de Análisis Micológico y Micotoxinas en Alimentos, Facultad de Ciencias Exactas,
Químicas y Naturales, UNaM. Av. Mariano Moreno 1375, CP: 3300, Tel/Fax: 54-3752-427687
Posadas, Misiones, Argentina. rmarucci@fceqyn.unam.edu.ar

EVALUATION OF YERBA MATE FUNGAL FLORA, WITH MATURATION IN CALEFACTIONATED PLACES

ABSTRACT

The aim of this work was to identify fungal flora in yerba mate at different periods of time in the process of storing carried out in heated storehouses with mechanical air circulation, to study the evolution of contaminating microorganisms under the influence of temperature and humidity controlled by means of electronic systems. These places have a capacity of 2,500 tons and are built on a foundation of masonry 1 m high and pipes for hot air distribution in their interior produced by a sanitary boiler. Walls are 7 meters high, and ceilings are built of galvanized foil with inner insulation.

Moisture and temperature control showed a strong decrease in microbiological counts compared with those taken from studies carried out with traditional storing. So, 50 % of the samples showed yeast belonging to *Rhodotorula* and predominantly *Saccharomyces*. The other 50% corresponded to *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Fusarium*, *Mucor* and *Penicillium*.

KEYWORDS: fungal, yerba mate, maturity.

RESUMEN

En el presente trabajo se aisló e identificó la flora fúngica contaminante de la yerba mate con distintos períodos de estacionamientos en galpones calefaccionados con circulación mecánica del aire, controlando la temperatura y humedad mediante sistemas electrónicos. Estos galpones están contruidos sobre una base de material de 1 m de altura y en su interior se distribuye la cañería por la que circula el aire caliente producido por una caldera sanitaria. Las paredes y techos de los mismos son de chapa galvanizada con aislamiento interior. El control sobre la humedad y temperatura mostró una marcada disminución en los valores del recuento con respecto a los obtenidos en estudios realizados en el estacionamiento tradicional. El 50% de las muestras desarrollaron levaduras de los géneros *Rhodotorula* y de *Sacharomices* con predominio de esta última, el 50% restante y en orden decreciente correspondieron a los géneros: *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Fusarium*, *Mucor* y *Penicillium*.

PALABRAS CLAVES: Hongos, yerba mate, estacionamiento.

INTRODUCCIÓN

La yerba mate produce una bebida estimulante, largamente consumida en Argentina como en Brasil, Paraguay y Uruguay. La forma más difundida es el mate (infusión de yerba mate en mate de madera o porongo).

La elaboración tradicional del *Ilex paraguariensis* requiere una serie de transformaciones que involucran cambios fisicoquímicos y organolépticos a través de un lapso de tiempo. El procesamiento clásico de este producto involucra generalmente etapas como: 1) Tarefa: cosecha manual de la hoja verde. 2) Sapecado: tratamiento térmico brusco de la hoja verde a temperaturas de 350-450°C durante aproximadamente dos minutos. 3) Se enfría a temperatura ambiente durante dos horas. 4) Prosecado: nuevo calentamiento de la hoja sapecada y enfriada a una temperatura de 100 a 110°C durante tres minutos. 5) Secado: la yerba mate es sometida a temperatura de 110°C por circulación de aire caliente hasta alcanzar una humedad al menos de 5%. 6) Canchado: fragmentación grosera de las hojas y ramas secas colocadas en bolsas de aproximadamente 50 kgr, de arpillera natural o sintética. 7) Estacionamiento: almacenamiento en amplios locales convenientemente ventilados de seis a veinticuatro meses. 8) Molienda: transformación y acondicionamiento por trituraciones, zarandeos, mezclas y envasado

Grupos de investigación han estudiado los cambios fisicoquímicos en relación con las distintas etapas del proceso, en especial el estacionamiento, con el fin de acelerarlos y reducir el tiempo total de la elaboración del producto. Estos estudios han demostrado que la acción microbiana directa no aporta a las cualidades de una buena yerba mate ya que los mecanismos actuantes son de origen enzimático foliar [1;2]. Las condiciones de almacenamiento no son controladas en forma minuciosa por lo que, dadas las características climatológicas imperantes en la zona noreste del país, es frecuente observar en las hojas un aumento de la humedad que, con las altas temperaturas, favorecen la proliferación de microorganismos contaminantes [3;4]. En esta etapa del proceso existe mayor riesgo de desarrollo fúngico, lo que ha obligado a mejorar el sistema de estacionamiento, incorporando nuevas tecnologías en lo que se refiere a construcción de los locales y control de estas dos variables para que el producto adquiera las características organolépticas, color y sabor deseado.

MATERIALES Y MÉTODOS

El muestreo se realizó al azar de distintos galpones y sectores de las estibas totalizando 38 muestras que se

colocaron en bolsas de papel de 1 kg.

Para determinar el contenido de humedad en las muestras previa homogeneización se pesaron 10 gr empleando un Desecador Infrarrojo "Mettler LP 16" a 130°C durante 10 minutos

En la preparación de las diluciones se tomaron alicuotas de 10 g de cada uno de los paquetes, se adicionaron 90 ml de agua peptonada al 0,1% realizando una homogeneización manual durante 5 minutos. Se filtraron los homogenatos a través de gasa estéril obteniéndose una dilución de 10^{-1} , a partir de la cual se preparó la de 10^{-2} .

Las muestras se procesaron utilizando técnicas y medios de cultivos recomendados por especialistas en el tema. Se sembraron por duplicado, 100 µl de cada dilución en medios de cultivo OGYE (Agar Oxytetraciclina-Glucosa-Extracto de Levadura) y DRBC (Agar Dichloran-Rosa de Bengala- Cloramfenicol); mediante diseminación en superficie con espátula de Drigalski. Las placas se incubaron en estufa a $26 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 3 a 5 días [5].

A los 5 días se procedió al recuento total de las colonias y la caracterización de los principales géneros de hongos filamentosos y levaduras desarrollados. El conteo de colonias se realizó a "ojo desnudo" y para la identificación de las cepas se observaron características macro-microscópicas de las colonias. Se promediaron los duplicados obtenidos del recuento en OGYE y DRBC expresándose los resultados en Unidades formadoras de Colonias por gramo (UFC/g).

La identificación genérica de las cepas de hongos filamentosos se realizó en base a la macro-micromorfología de las colonias comunicadas por diversos investigadores dedicados al estudio de la taxonomía fúngica. Sus cuerpos de fructificación se clasificaron por las características que presentaban; los cuales se observaron directamente de las placas de OGYE y/o DRBC mediante el empleo del objetivo de 10X de un microscopio, enfocando los bordes de las colonias donde el micelio está más distendido. Las cepas que no fructificaron a los 3-5 días se dejaron crecer hasta que se constató la presencia de micelio aéreo adulto. En estos casos, la identificación se realizó mediante la observación microscópica por el método de la cinta adhesiva [6].

Para la clasificación genérica de las levaduras contaminantes de alimentos se empleó la metodología de identificación basada en características de crecimiento de las cepas aisladas en diversos medios de cultivo. Las cepas de levaduras aisladas en medios de mantenimiento, se repicaron en: 1) Agar Extracto de Malta (MEA), incubado a 25°C, para la observación de la macro-micromorfología de las colonias; 2) Agar MEA, incubado

a 37°C, mide el crecimiento a temperaturas elevadas; 3) Agar MEA+Acido acético para cepas resistentes; 4) Agar MEA+ 50% Glucosa, para medir crecimiento a actividad acuosa reducida; 5) Agar harina de Maíz, para cepas del género *Cándida* ; 6) Agar Czapeck, para medir la habilidad de utilizar al nitrato como única fuente de nitrógeno. El examen de las placas se realizó a los 3-7 días. Se registraron la presencia o ausencia de crecimiento, el tamaño el y color de la colonia en los diversos medios de cultivo [7, 8].

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La contaminación fúngica de cereales, oleaginosas y demás productos agrícolas se observa principalmente durante el período de almacenamiento donde las condiciones de humedad y temperatura favorecen el desarrollo de los hongos saprófitos contaminantes; alterando las características organolépticas de los productos estacionados y frecuentemente imposibilitan la comercialización ocasionando graves daños económicos.

En el proceso de elaboración de la yerba mate los aspectos técnicos no varían sustancialmente salvo en los distintos tipos de estacionamiento: tradicional y acelerado [1]. En el estacionamiento tradicional el producto se coloca en bolsas de arpillera de cincuenta kilogramos de capacidad en galpones comunes por un período no menor a ocho meses. El estacionamiento acelerado acorta los tiempos a uno o dos meses y se realiza en galpones con control de temperatura y humedad. [8, 9, 10]. Con el propósito de mejorar las condiciones del almacenamiento y lograr un producto de calidad, se diseñaron galpones con paredes de chapa, cubiertos en su parte interior con material aislante y circulación mecánica de aire caliente generado por una caldera sanitaria. Para el control de la humedad y temperatura se instalaron sensores electrónicos. En la Tabla N° 1 se puede observar los valores del recuento que son significativamente menores a los encontrados en los otros tipos de estacionamiento, con la característica de que no guarda relación directa con los contenidos de humedad y tiempo de estacionamiento. La distribución por género de la flora contaminante fue la siguiente: en el 50% de las muestras desarrollaron levaduras de los géneros *Rhodotorula* y de *Sacharomices* con predominio de esta última, el 50% restante y en orden decreciente correspondieron a los géneros: *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Fusarium*, *Mucor* y *Penicillium*. Los valores de los recuentos para ambos medios de cultivo de cada una de las muestras se promediaron y son los que se detallan en la siguiente tabla.

TABLA N° 1: Tiempos de estacionamiento, contenido de humedad y el recuento fúngico de las muestras estudiadas.

Muestra N °	Días de Estacionamiento	Humedad %	Unidades Formadoras de Colonias(UFC/g)
1	16	6,71	200
2	160	4,10	600
3	16	6,86	1000
4	160	6,01	200
5	16	4,79	500
6	16	6,75	200
7	16	4,76	1000
8	78	6,68	200
9	78	6,67	1200
10	648	6,21	1000
11	648	7,03	400
12	830	7,51	300
13	830	7,61	300
14	682	7,10	800
15	317	4,44	200
16	317	6,04	200
17	54	4,82	200
18	317	5,36	900
19	134	4,49	200
20	134	4,42	200
21	317	5,25	200
22	287	4,27	700
23	103	5,08	700
24	287	5,42	100
25	226	5,64	200
26	226	5,47	100
27	226	5,40	100
28	78	6,39	600
29	230	4,58	700
30	47	5,81	1000
31	38	6,08	1500
32	290	5,17	800
33	290	4,96	400
34	47	7,13	400
35	106	6,16	1500
36	137	6,09	300
37	137	6,25	1200
38	137	6,50	1000

CONCLUSIONES

El presente estudio trata de demostrar que, controlando la variables temperatura y humedad, se mejoran las condiciones del estacionamiento y disminuye el desarrollo de microorganismos contaminantes que alteran la calidad del producto con la consiguiente pérdida económica [9].

Los valores de los recuentos son inferiores a los obtenidos en los trabajos realizados en los otros tipos de estacionamiento [10,11]. Se destaca el desarrollo en un número importante de muestras de levaduras con contenido de humedad inferior al 5,50% y elevados días de

estacionamiento como también la presencia de dimorfismo celular en algunas de ellas, esto se puede atribuir a influencia de los valores de temperatura y humedad dentro de los galpones.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Kanzig, R.; Novo, M.; Schmalco, M.

Métodos de procesamiento de yerba Mate (*Ilex paraguariensis*). Revista del CIDET, UNaM II: p. 15-28. 1985.

2. Fanti, O.; Kohan, T.

Fijación de oxígeno en la yerba mate canchada sin estacionar. Rev. Invest. Agrop, 7: p. 185-199. 1970.

3. Spegazzini, C.

Hongos de la Yerba Mate. Anales Mus. Nac. de Hist Nat. XVIII, p. 111-141. 1908.

4. Nowacki, M.

Algunos hongos parásitos de erva mate no Parana. Arqu. Biol. e Tec. IX, p. 83-85. 1954.

5. Pitt, J. I.; Hocking, A. D.

Methods for isolation, Enumeration and Identification (Cap. 4), in Fungi and Food Spoilage, Academic Press, London. P. 21-55. 1997.

6. Pitt, J. I.; Hocking, A. D.

Primary Keys and Miscellaneous Fungi (Cap. 5), in Fungi and Food Spoilage, Academic Press, Cambridge, London. P. 59-170. 1997.

7. Pitt, J. I.; Hocking, A. D.

Yeasts (Cap 10), in Fungi and Food Spoilage, Blackie Academic & Professional, Cambridge, London. P. 439-465. 1997.

8. Pitt, J. I.; Hocking, A. D.

The ecology of Fungal Food spoilage (Cap 2), in Fungi and Food Spoilage, Academic Press, Cambridge, London. P. 3. 1997.

9. Vaamonde, G.; Cabral, D.

Micología de Alimentos. Universidad de Buenos Aires. Buenos Aires, 1995.

10. Tonón, S. A.; Marucci, R.

Flora fúngica contaminante de Yerba Mate estacionada. Presencia de hongos productores de aflatoxinas. La Alimentación Latinoamericana, 206, p. 23-32. 1995.

11. Marucci, R. S. y col.

Evolución de la micoflora contaminante de la Yerba mate durante el proceso de estacionamiento acelerado en cámara piloto, en el XIV Congreso Latinoamericano de Microbiología. Asunción, Paraguay, 1998.