

MICROHONGOS FILAMENTOSOS Y LEVADURIFORMES ASOCIADOS A PIMIENTA NEGRA (PIPER NIGRUM L.)

M. Alicia Toro, S.M.*

S.R. Díaz, A. & M.P. Piazze, F.**

* Cátedra de Micología, Facultad de Medicina,

Universidad de Valparaíso. Casilla 92-V Valparaíso.

** Universidad Técnica Federico Santa María, Carrera de Control de alimentos, Sede Viña del Mar.

Palabras clave: Microhongos, pimienta.

Key words: Microfungi, pepper.

RESUMEN

Se investigó la presencia de microhongos filamentosos y levaduriformes en pimienta negra comercial, entera y molida, (*Piper nigrum* L.), destinada al consumo humano. Se colectaron 30 muestras en total (13 entera y 17 molida) entre Agosto de 1991 y Marzo de 1992, aplicándose 2 metodologías: el método de dilución y el de siembra directa en agar agua.

Por el método de dilución y siembra en PDA, se aislaron 1.388 cepas distribuidas en 20 géneros y 40 especies, los géneros de mayor frecuencia fueron: *Aspergillus* (63,68%) en pimienta entera (PE), con una dominancia de *A. fumigatus* y *A. flavus* y un 26,74% en pimienta molida (PM). El género *Penicillium* fue el segundo en importancia en PE (17,43%) y levemente mayor en PM (21,19%), *P. aurantiogriseum* complex, se aisló en porcentajes menores del 1%. El género *Scopulariopsis* fue escaso en PE, mientras en PM fue dominante (37,7%) con la presencia de solo 2 especies (*S. brevicaulis* y *S. koningii*). El género *Fusarium* y los *Mucorales* fueron poco representados, mientras las levaduras solo se destacaron en PE (10,27%).

Por el método, de siembra directa en agar agua, el género *Aspergillus* mantuvo una alta frecuencia, predominando al igual que en el método de dilución *A. fumigatus* y *A. flavus*.

Entre la micota aislada, se detectaron hongos potencialmente toxicogénicos, los cuales podrían constituir un riesgo en salud, considerando que la pimienta es utilizada en la preservación y palatabilidad de los alimentos.

INTRODUCCION

La pimienta es una de las especias de origen vegetal utilizadas para aromatizar y mejorar el sabor de

SUMMARY

[*Filamentous microfungi and yeasts associated to black pepper (Piper nigrum L.)*]

The presence of filamentous microfungi and yeasts was studied in commercial black pepper in grain and dust, (*Piper nigrum* L.), for human consumers. Samples (30) were collected (13 in grain and 17 in dust), during August 1991 and March 1992, by means of two methodologies: Dilution plate and direct plate in Agar-water.

1388 strains belonging to 20 genera and 40 species, were isolated by the dilution plate. The most prevalent genera were: *Aspergillus* (63,68%) in grain pepper (PE) with a dominance of *A. fumigatus* and *A. flavus* and in dust pepper (PM) (26,74%)

Penicillium was the second in importance in PE (17,43%) and slightly higher in PM (21,19%), *P. aurantiogriseum* complex was isolated in minor percentages, less than 1%. The genera *Scopulariopsis* was scarce in PE, while in PM was dominant (37,7%) with the presence of two species (*S. brevicaulis* and *S. koningii*).

Fusarium and *Mucorales* were less frequent, while yeast were detected only in PE (10,27%).

The genera *Aspergillus* holds the highest frequency in direct plate with Agar-water, standing out *A. fumigatus* and *A. flavus* the same as in dilution plate.

Fungi potentially toxicogenic were detected in the mycota isolated, so they could represent a hazard in public health, considering pepper as a condiment used in the preservation and palatability of food.

los alimentos. Es recolectada en regiones tropicales y subtropicales, en especial, Tailandia, India, Indonesia, Brasil. (Moreau & Moreau, 1978; Frisvad et al., 1986; Gerhardt, 1975; Magaña et al., 1989 y Vargas et al.,

1990). Es un producto frecuentemente secado al sol de manera artesanal y sometido a factores climáticos y a fermentaciones naturales no siempre deseadas, representando así un sustrato favorable a la contaminación microbiana (Moreau & Moreau 1978).

Las técnicas culinarias actuales aplicadas en la elaboración de los alimentos, se caracterizan por una limitada cocción y en algunos casos, éstos no se someten a ningún tipo de procesamiento.

Se sabe que esta especia presenta una cantidad significativa de bacterias que actuarían como contaminantes (Muller, 1981; Frazier, 1976; Brock, 1987; López & Witting, 1987), pero también de hongos, los cuales no sólo pueden dañar el alimento, otorgándole aspectos y sabores desagradables, sino ser capaces de producir micotoxinas (López, 1988, 1989; Weinacker & Bittner, 1990; Caretta, 1990; Dragoni, 1985; Baur & Parker, 1984; Frisvad, 1988; Vargas et al., 1990).

Considerando que la pimienta en todas sus formas es un producto de importación (Magaña et al., 1989) y ante la escasa información disponible en nuestro medio sobre su microbiota asociada, hemos creído necesario detectar la presencia de microhongos filamentosos y levaduriformes, destacando en especial las cepas consideradas potencialmente toxicogénicas, debido a que este producto se destina al consumo humano.

MATERIALES Y METODOS

Se analizó un total de 30 muestras de pimienta negra destinadas al consumo humano, 13 entera (PE) y 17 molida (PM), obtenidas de igual número de envases comerciales de celofán, entre Agosto de 1991 y Marzo de 1992 y adquiridas en distintos locales comerciales (supermercados y almacenes) de la ciudad de Valparaíso.

Para determinar el número de hongos filamentosos y levaduriformes en cada tipo de muestra, se utilizaron 2 metodologías:

1).- Método de dilución. Con el objeto de remover las esporas fúngicas presentes en la especia, ya sea en entera como molida, se preparó una solución madre de agua peptonada (0,11g de peptona en 117 ml de agua destilada estéril). Se distribuyeron 90 ml de agua peptonada al 0,1% en un matraz de Ehrlenmeyer y el resto se depositó en 3 tubos de ensayo a razón de 9 ml, esterilizándose en autoclave a 121 °C durante 15 minutos, a 1 atmósfera de presión.

Se agregaron 10 g de la muestra al matraz con 90 ml de agua peptonada (10^{-1}), se agita manualmente por 3 minutos. De ésta dilución se pipetea 1 ml a un tubo de

ensayo con 9 ml de agua peptonada (10^{-2}), se agita y se repite este procedimiento sucesivamente hasta llegar a la dilución (10^{-4}).

a).- Análisis Cuantitativo. Se procedió a sembrar las 3 diluciones en el siguiente medio de cultivo: Agar Papa Dextrosa Standard, adicionado con cloranfenicol (250 mg/l) y dichloran (0,0020 g/l), con el objeto de controlar el desarrollo bacteriano y la reducción del tamaño de las colonias fúngicas, respectivamente.

Se ajustó el pH a 5,6 y se distribuyó en placas de petri estériles a razón de 15 ml por placa; 0,1 ml de la dilución respectiva se deposita sobre la placa de petri con el método descrito, se homogenizó con un asa de Drigalsky. Todas las siembras fueron realizadas en duplicado (6 placas por cada tipo de muestra, entera y molida, que equivalen a 2 placas por dilución). Las placas se incubaron a 27 °C y a los 7 días se contaron las unidades formadoras de colonias (u.f.c.), seleccionándose aquellas con 30-300 u.f.c., para efectuar el recuento.

b).- Análisis Cualitativo. Después de un período inicial de 7 días de incubación las placas se mantuvieron por 30 días a temperatura ambiente.

Mediante la observación macroscópica (Lupa estereoscópica) y microscópica (preparaciones teñidas con azul de algodón), se seleccionaron las colonias para su aislamiento y posterior identificación en base a los patrones morfológicos de los grupos fúngicos ya sea en sus estados anamorfos o teleomorfos.

Las colonias de *Aspergillus* y *Penicillium* se sembraron en Agar Malta (AM) y Agar Czapek (ACz), aplicando los criterios de Raper & Fennell, 1965; Christensen, 1981; Christensen, 1982; Pitt, 1979; entre otros.

Para el género *Scopulariopsis*, se utilizó la monografía de Morton & Smith, (1963).

Para algunos Mucorales se efectuaron pruebas de crecimiento a diferentes temperaturas para establecer su correcta identificación, usándose PDA y AM, empleándose las monografías y criterios de O'Donnel, 1979; Zycha et al., 1969; Benny, 1991. En las levaduras se siguió el criterio de Kreger van Rij, 1984.

2).- Método directo de Siembra: se utilizó un set doble de placas con Agar Agua para depositar ambos tipos de muestra (entera y molida) empleando 5 sectores equidistantes en las placas. Las temperaturas de incubación fueron para un set a 27 °C y para otro 37 °C; esta última para establecer la condición de termotolerancia. Ambas placas fueron selladas con scotch para mantener la humedad.

El análisis cualitativo se basó en la misma metodología empleada en el punto 1 b.

3) Como prueba de significación se usó el test χ^2 .

RESULTADOS

Por el método de dilución se aislaron un total de 1388 cepas (en PE y PM) distribuidas en 20 géneros y 40 especies de microhongos filamentosos y levaduriformes (Tabla 1).

El género de mayor frecuencia fue *Aspergillus* con un 63,68 % en PE y un 26,75 % en PM. Las especies dominantes fueron *A.fumigatus* y *A. flavus* en ambos tipos de muestras (Tabla 1).

Penicillium fue el segundo género en importancia con un 17,43 % en PE y un 21,19 % en PM. Entre las especies dominantes se destaca *P. glabrum* y *P. simplicissimum*, con diferencia en ambos tipos de pimienta (Tabla 1). *Scopulariopsis*, presentó un porcentaje bajo de aislamiento en PE, pero fue el género dominante en PM con un 37,70 %, seguido de *Aspergillus*.

Respecto a las levaduras se aprecia un porcentaje de aislamiento de un 10,27 % en PE, que no se refleja en PM (Tabla 1).

El porcentaje de aislamiento totales entre ambos tipos de pimienta difiere significativamente para los taxa: *Aspergillus*, *Scopulariopsis* y levaduras ($p < 0,001$) (Gráfico 1).

La Tabla 2, señala los géneros obtenidos mediante la siembra directa de los 2 tipos de muestra incubadas a 27 y 37 °C, con un total de 115 y 82 aislamientos respectivamente. Al igual que en el método de dilución, el género *Aspergillus* mantiene las frecuencias más altas, con pocas diferencias de porcentaje a ambas temperaturas y tipos de sustratos.

El nivel de contaminación en ambos tipos de pimienta no fue elevado (salvo en 1 muestra); en PE solo 2 muestras presentaron niveles > 20.000 u.f.c/g con un promedio de las restantes que osciló alrededor de las 4000 u.f.c./g, mientras en PM, 3 muestras fueron superiores a 20.000 u.f.c./g, una presentó el nivel más alto con 300.000 u.f.c/g y un promedio de las restantes que no superó las 6.000 u.f.c/g.

DISCUSION

Nuestros resultados señalan la predominancia del género *Aspergillus* en este sustrato, confirmando los datos en la literatura (Magaña et al., 1989; Moreau & Moreau, 1978; Vargas et al., 1990). *A. fumigatus*, fue la

especie más común, la cual es considerada como toxicogénica e incluida en las categorías econutricionales de saprotrofo y biotrofo oportunista de mamíferos y aves (Caretta, 1990; Dragoni, 1985).

La dominancia del género *Aspergillus*, confirmada con ambas metodologías de siembra, permite apreciar la termotolerancia del género en especial en PM (Tabla 2).

La abundancia de *A. flavus*, en ambos tipos de muestras y la producción de abundantes esclerocios en un buen número de las cepas aisladas, indicaría la probabilidad de que estas tengan capacidades toxicogénicas, debido a que diversos estudios han relacionado la presencia de estas estructuras con la producción de aflatoxinas (Wicklow & Donahue, 1984, Cotty, 1989; Waked et al., 1982).

Los cultivos y procesamientos de la pimienta en áreas cálidas, favorecen el desarrollo de especies de *Aspergillus* (común en zonas tropicales) y parece indudable que esta semilla constituye uno de los sustratos ideales para el desarrollo de los principales taxa que lo integran.

La abundancia de especies de *Penicillium* en ambos tipos de muestras, ha sido también registrada en la literatura (Williams, 1990; Arora et al., 1991; Magaña et al., 1989). Las probables cepas toxicogénicas detectadas tales como *P. aurantiogriseum complex*, *P. echinulatum* y *P. italicum*, comunes en otros alimentos, fueron aisladas con muy baja frecuencia, lo que induce a pensar que este tipo de sustrato no es su hábitat adecuado por la alta competencia u otros factores. Lo conflictivo de la taxonomía del género ha llevado a que muchos investigadores al identificarlo solo a nivel genérico, limitan conocer la dominancia de algunas especies toxicogénicas en los diversos alimentos. *P. aurantiogriseum*, ha sido descrito en la lista de taxa comunes en la pimienta (Williams, 1990).

Scopulariopsis brevicaulis y *S. koningii*, han sido consideradas como especies relativamente xerofílica y capaces de crecer a bajas concentraciones de oxígeno. La dominancia de *Scopulariopsis* sobre *Aspergillus* en PM, puede deberse a la mejor capacidad de tolerar las sustancias inhibitorias antifúngicas liberadas en esta especie al ser molida (Morozumi et al., 1989), o el preferir los tejidos internos de esta semilla como sustrato.

Entre los *Mucorales*, se destaca la presencia de *A. corymbifera*, calificada como débil patógeno oportunista para el hombre y los mamíferos (Lunn, 1977). *Gilbertella persicaria*, fue un hallazgo interesante, por ser una especie común en la India y considerada por lo tanto alóctona para Chile.

Tabla 1
Aislamientos de microhongos filamentosos y levaduriformes en pimienta entera y molida:
Método de Dilución (en PDA + CAF + DiCl.)

Especies o Categorías	ENTERA		MOLIDA	
	Nº	%	Nº	%
<i>Absidia corymbifera</i> (Cohn)				
Sacc & Trotter	5	0,81	5	0,65
<i>Alternaria tenuissima</i> (Kunze ex Pers Wilts)	0	0	1	0,13
<i>Arthrographis kalrae</i> (Tewari & Macpherson)				
Sigler & Carmichael	3	0,49	52	6,72
<i>Aspergillus candidus</i> Link	0	0	13	1,68
<i>A. flavus</i> Link	99	16,1	54	6,98
<i>A. fumigatus</i> Fres	208	33,9	58	7,49
<i>A. glaucus</i> Link ex Gray	42	6,84	19	2,45
<i>Eurotium amstelodami</i> Mangin	24	3,91	36	4,65
<i>A. niger</i> van Tieghem	7	1,14	7	0,90
<i>A. nidulans</i> (Eidam) Vuill	1	0,16	3	0,39
<i>A. sydowii</i> (Bain & Sart) Thom & Church	0	0	2	0,26
<i>A. tamarii</i> Kita	8	1,30	6	0,78
<i>A. terreus</i> Thom	2	0,33	3	0,39
<i>A. versicolor</i> (Vuill) Tiraboschi	0	0	6	0,78
<i>Botrytis cinerea</i> Pers ex Fries	0	0	4	0,51
<i>Cladosporium cladosporioides</i> (Fres.) de Vries	0	0	3	0,39
<i>C. herbarum</i> (Pers) Link ex Gray	0	0	5	0,65
<i>C. sphaerospermum</i> Penz	0	0	1	0,13
<i>Exosporiella</i> sp.	0	0	1	0,13
<i>Fusarium solani</i> (Mart) Sacc	8	1,30	18	2,33
<i>Gilbertella persicaria</i> (= <i>Choanophora persicaria</i>) (Eddy) Hesseltine	1	0,16	0	0
<i>Humicola grisea</i> Traen	0	0	1	0,13
<i>Mucor circinelloides</i> van Tiegh f. <i>circinelloides</i>	0	0	1	0,13
<i>M. racemosus</i> Fres f. <i>racemosus</i>	2	0,33	2	0,26
<i>Paecilomyces varioti</i> Bain	2	0,33	1	0,13
<i>Penicillium aurantiogriseum</i> complex Dierckx	2	0,33	6	0,78
<i>P. canescens</i> Sopp	0	0	11	1,42
<i>P. chrysogenum</i> Thom	6	0,98	8	1,03
<i>P. corylophilum</i> Dierckx	0	0	1	0,13
<i>P. echinulatum</i> Fassatiava	1	0,16	0	0
<i>P. glabrum</i> (Wehmer) Westling	40	6,51	12,4	16,02
<i>P. italicum</i> Wehmer	2	0,33	2	0,26
<i>P. simplicissimum</i> (Oudemons) Thom (= <i>P. janthinellum</i>)	39	6,35	3	0,39
<i>P. spinulosum</i> Thom	14	2,28	2	0,26
<i>P. waksmanii</i> Zaleski	0	0	7	0,90
<i>Penicillium</i> spp.	3	0,49	0	0
<i>Rhizopus oryzae</i> Wet & Prinsen Geerligs	1	0,16	0	0
<i>Scopulariopsis brevicaulis</i> (Sacc) Bainier	5	0,81	212	27,4
<i>S. koningii</i> (Oud) Vuillemin	0	0	80	10,3
<i>Verticillium</i> sp.	0	0	2	0,26
Micelio sin fructificar	21	3,42	11	1,42
LEVADURAS				
<i>Cryptococcus uniguttulatus</i> Phaff & Fell	2	0,33	0	0
<i>Dekkera intermedia</i> van der Walt	46	7,49	0	0
<i>Rhodotorula glutinis</i> Harrison	3	0,49	1	0,13
<i>R. rubra</i> (Demme) Lodder	10	1,63	2	0,26
<i>Sporobolomyces</i> sp.	2	0,33	0	0
TOTAL	614		774	

Tabla 2

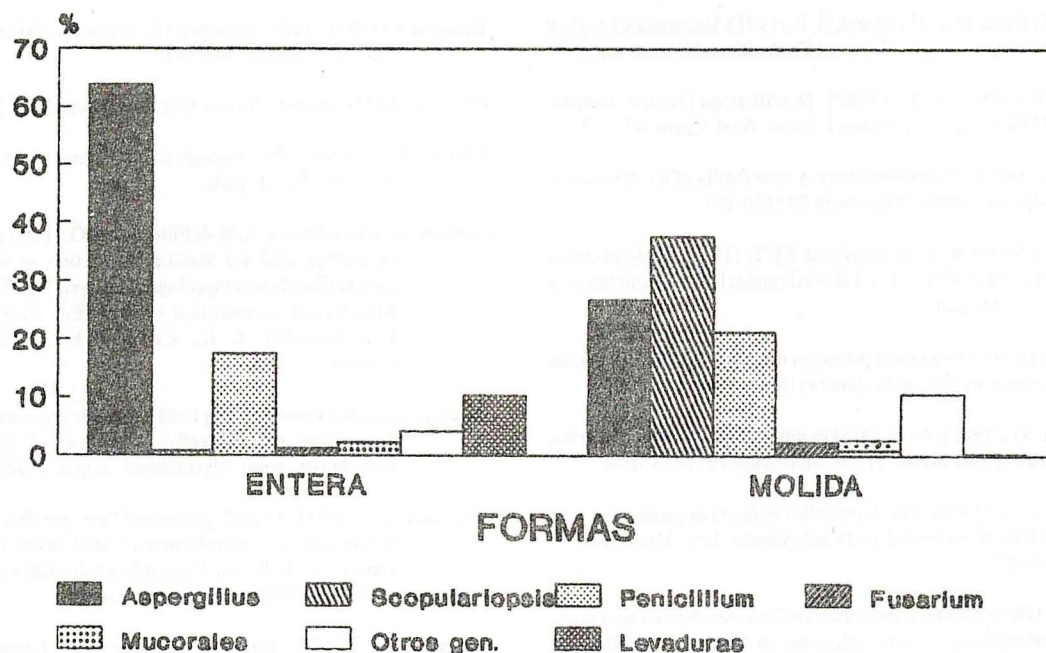
Aislamientos de géneros fúngicos en pimienta entera y molida, según temperatura: Método Agar-agua.

Géneros	N° Aislamientos 27° C				N° Aislamientos 37° C			
	Entera	%	Molida	%	Entera	%	Molida	%
<i>Aspergillus</i>	20	60.6	54	65.9	20	64.5	41	80.3
<i>Penicillium</i>	4	12.1	14	17.1	1	3.23	3	5.9
Mucorales	7	21.2	6	7.3	8	25.8	2	3.9
<i>Alternaria</i>	-	-	3	3.7	-	-	-	-
<i>Scopulariopsis</i>	-	-	3	3.7	-	-	2	3.9
<i>Fusarium</i>	1	3.0	2	2.4	-	-	1	2.0
<i>Chaetomiun</i>	1	3.0	-	-	1	3.2	2	3.9
<i>Humicola</i>	-	-	-	-	1	3.2	-	-
Totales	33		82		31		51	

* En Mucorales se incluyen las siguientes especies: *Absidia corymbifera*, *Gilbertella persicaria*, *Mucor racemosus*, *Mucor* sp. y *Rhizopus oryzae*.

Grafico 1.

GENEROS FUNGICOS DOMINANTES EN DOS FORMAS DE PIMIENTA NEGRA.



Las pocas especies de levaduras aisladas y solo frecuentes en la PE, no tiene una clara explicación, salvo que su presencia se vea favorecida por la competencia con otros microorganismos. En la literatura consultada no encontramos referencia de estos organismos en la pimienta, seguramente por el tipo de metodología empleado. Las levaduras son ampliamente conocidas por sus efectos benéficos e industriales, pero bajo determinadas circunstancias pueden actuar como contaminantes, a pesar de ello, la mayoría de las veces pasan desapercibidas y no son consideradas como una problemática mayor en la industria alimenticia, salvo excepciones (Fleet, 1992).

Nuestros resultados cuantitativos difieren de los publicados por (Arora et al., 1991; Magaña et al., 1989; Moreau & Moreau, 1978); en el sentido que ellos detectaron recuentos que sobrepasaron los 10^9 u.f.c/g (Arora et al., 1991), mientras que los nuestros no superaron las 10^3 u.f.c/g. Esta diferencia puede ser atribuida a nuestra metodología, al tipo de procesamiento de las muestras en su elaboración o a la elevada contaminación microbiana presente, en especial por bacilos gram negativos. La ausencia de desarrollo fúngico en 2 muestras, podrían ser causada por estas bacterias (López & Witting di Penna, 1987).

Aunque un considerable número, de especies

han sido detectadas creciendo sobre la pimienta entera y molida, su cantidad parece guardar más relación con el proceso de elaboración y envasado en ambientes húmedos. Al ser triturada se expone una mayor superficie al ambiente, el pericarpio que soporta la mayor contaminación primaria es reemplazado casi en su totalidad por el endospermio, cuyos tipos de componentes permitirían el desarrollo de una mayor diversidad de especies, como en nuestro caso (Weinacker & Bitter, 1990).

El hallazgo en la pimienta de especies potencialmente toxicogénicas y la confirmación de la presencia de micotoxinas, ha sido registrada por Magaña et al. (1989), lo cual nos indicaría un posible riesgo para la salud. El alto contenido de especies de *Aspergillus* (y otros géneros) potencialmente patógenas para el hombre, la convierten también en un reservorio de propágulos de dispersión, los que al ser inhalados por los trabajadores que manipulan estos productos y los consumidores habituales, podrían generar estados alérgicos o incluso frente a deficiencias inmunitarias, ser la fuente y la causa de alguna micosis profunda. (Caretta, 1990, Dragoni, 1985).

REFERENCIAS

- Arora, K. D.; Mukelji K. G.; Marth H. E. (1991). Handbook of Applied Mycology, vol. 3 : Food and Feeds. Marcel Dekker Inc. N. Y.
- Baur, F. J. & Parker W. A. (1984). The Aflatoxin Problem. Industry FDA, USA. Cooperation J. Assoc. Anal. Chem. 67 : 3-7.
- Benny, G. L. (1991). *Gilbertellaceae* a new family of the *Mucorales* (*Zygomycetes*). Mycologia 83 :150-157
- Brock, T. D.; Smith D. W. & Madigan M. T. (1987). Biología de los Microorganismos. 4. a. Edición Prentice Hall Hispano America S. A. México.
- Caretta, G. (1990). I funghi nella patologia umana ed animale. Atti dello Congresso Nazionale Simua :19-45.
- Christensen, M. (1981). A synoptic key and evaluation of species in the *Aspergillus flavus* group. Mycologia 72 :1056-1084.
- (1982). The *Aspergillus ochraceus* group; two new species from western soils and synoptic key. Mycologia 74: 210-225.
- Cotty, P. J. (1989). Variance and Cultural Characteristics of two *Aspergillus flavus* Strains Pathogenic on Cotton. Phytopathology 79: 808-814.
- Dragonì, I. (1985). Muffe, Alimenti e Micotossicosi. Atti dello Congresso Nazionale Simua: 146-147.
- Fleet, G. (1992). Spoilage Yeasts. Crit. Rev. Biotechnol. 12:1- 44.
- Frazier, W. C. (1976). Microbiología de los Alimentos. 2a. Edición. Editorial Acribia . España.
- Frisvad, J. C.; Kristensen, A. B. & Filtenborg, O. (1986). Comparison of method used for surface disinfection of food and feeds commodities before mycological analysis. In: Methods for the Mycological examination of food. Eds. King, A. D.; Pitt, J. I.; Beauchat, L. R.; Correy, J. E. L., Plenum Press, London.
- & Filtenborg, O. (1988). Specific mycotoxin producing *Penicillium* & *Aspergillus*. Mycoflora of different food. Proc. Japan. Assoc. Mycotocol. Suppl. 1: 163-166.
- (1988). Fungal species and their specific production of mycotoxins. In: Introduction to food borne fungi. 3a. Ed. Samson. R.A. & van Reenen-Hoekstra, E.S. (ed). Centraal-bureau voor Schimmelcultures, Baarn
- Gerhardt, U. (1975). Especies y Condimentos. Editorial Acribia, España.

- Kreger van Rij, N.I.W.** (1984). *The yeast a taxonomic study*. Elsevier Science Publishers B.V. Amsterdam.
- López, L.** (1988). Micotoxinas y Micotoxicosis. *Bol. Micol.* 4 : 1-26.
- (1989). Micotoxinas y Micotoxicosis. II Sterigmatocistina, patulina, zearalenona, tricotecenos y otros metabolitos tóxicos. *Alimentos* 14 : 53-63.
- & **Witting di Penna, E.** (1987). Procesamiento de alimentos y calidad. Efectos sobre la calidad microbiológica. *Alimentos* 12 : 36-42.
- Lunn, J.A** (1977) CMI descriptions of pathogenic fungi and bacteria; Set 53, Nº 521-530. CMI, Kew, Surrey.
- Magaña, M. P.; Jodral, V. M.; Pozo, L. R.** (1989). Mycoflora and *Aspergillus flavus* in pepper on sale in Spain. *Microbiologie Aliments Nutrition* 7 : 31.-314.
- Moreau, C. & Moreau, M.** (1978). La Contamination des épices ses conséquences dans les industries alimentaires. *Industries alimentaires et agricoles* 95 : 497-503
- Morozumi, S.; Wauke, T.; Kudoh, Y.; Hitokoto, H.** (1989). Antifungal effects of commercial food & spices and their components. In: *Mycotoxins & phycotoxins* 88 (ed. Notari, S.; Hashimoto, K.; Ueno, Y) Amsterdam, Netherlands, Elsevier Science Publishers B.V. 155-160.
- Morton, F.J.C. & Smith, G.** (1963). *Scopulariopsis, Microascus* and *Doratomyces*. *Mycol. Papers* 86 : 1-96.
- Muller, G.** (1981). *Microbiología de los Alimentos Vegetales*. Editorial Acribia Zaragoza.
- O'Donnell, K.L.** (1979) *Zygomycetes in culture*. Dept. of botany, University of Georgia, Athens, Georgia, 30602. Ed. Melvin S. Fuller.
- Pitt, J.I.** (1979). The genus *Penicillium* and its Teleomorphic state *Eupe- nicillium* and *Talaromyces*. Academic Press. London.
- & **Fennell, D.I.** (1965) The genus *Aspergillus*. Williams and Wilkins Co. Baltimore.
- Vargas, S. ; Hughes, W. T. & Giannini, M. A.** (1990) *Aspergillus* in pepper. *Lancet* 336: 881 (Correspondence).
- Waked, M.Y. & Nouman, K.A.** (1982) The relationship of sclerotia formation to aflatoxin content of cottonseed infected with *Asper- gillus flavus* Link. *Meded. Fac. Landbouwwet. Rijksuniv. Gent* 47 : 201-209.
- Weinacker, K. & Bittner, S.** (1990) *Especies naturales, condimentos, aromatizantes*. *Alimentos* 4: 17-22.
- Wicklow, D.T. & Donahue, J.** (1984) Sporogenic germination of sclerotia in *Aspergillus flavus* and *A. parasiticus*. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 82: 621-624.
- Williams, A.P.** (1990) *Penicillium & Aspergillus* in the food microbiology laboratory. In: *Modern concepts in Penicillium and Aspergillus* classification in Samson, R. A. & Pitt, J. I. (eds) Plenum Press. N.Y.
- Zycha, H.; Siepmann, R. & Linnemann, G.** (1969) *Mucorales. Eine Beschreibung Aller Gattungen Und Arten Dieser Pilzgruppe*. Ed. Verlag Von J. Cramer.