

Presencia masiva de *Penicillium* en harina de maíz distribuidas en Cusco-Perú.

Massive presence of *Penicillium* in cornmeal distributed in Cusco-Peru

Silvia J. Puelles -Yañez ¹, Martha N. Mostajo-Zavaleta ^{1,a}

¹Escuela Profesional de Biología, Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco. Cusco, Perú.

^aORCID: 0000-0002-4350-9283

RESUMEN

Penicillium presenta una gran distribución en la naturaleza, contamina productos alimenticios como cereales, semillas oleaginosas, frutas y otros productos agrícolas, en la etapa de producción y almacenamiento; constituyendo un riesgo potencial para la salud humana, por producir micotoxinas. El objetivo de la investigación fue identificar especies de *Penicillium* contaminantes de harina de maíz para consumo humano, que se expenden en centros de abasto de Wanchaq y Ttio de la ciudad del Cusco. La identificación de especies se realizó por el método de observaciones macroscópicas de colonias y microscópicas de conidios y cuerpos conidiogenos, el muestreo se hizo en todos los centros de expendio de harina de maíz en ambos mercados. Se aislaron 50 cepas de *Penicillium*, de 30 muestras; se determinó 17 especies, las más frecuentes fueron *P. miczynskii* con 18%, *P. citrinum* con 14% y *P. melinii* y *P. corylophilum* con 12% cada una; las especies menos frecuentes fueron *P. citreonigrum*, *P. arenicola*, *E. shearii*, *P. oxalicum*, *P. pinophilum*, *P. olsonii*, *P. commune* y *P. chrysogenum* con 2% cada una. El 66% de muestras de harina de maíz están contaminadas con especies reportadas como productoras de micotoxinas como: *P. citreonigrum*, *P. citrinum*, *P. commune* y *P. islandicum*, *P. miczynskii*, *P. melinii*, *P. corylophilum*, *P. oxalicum*, *P. pinophilum*, y *P. chrysogenum*.

PALABRAS CLAVE: *Penicillium*, micotoxinas, harina de maíz, carcinomas.

ABSTRACT

Penicillium has a great distribution in nature, contaminates food products such as cereals, oilseeds, fruits and other agricultural products, in the production and storage stage; constituting a potential risk to human health, for producing mycotoxin. To identify species of *Penicillium* contaminants corn flour for human consumption that are sold in Wanchaq and Ttio supply centers in the city of Cusco. The species identification was performed by the method of macroscopic and microscopic observations colony and conidiospores and conidiogenous cells, sampling was done in all centers of sale of corn flour in both markets. 50 strains of *Penicillium* were isolated from 30 samples, 17 species were determined, the most frequent were *P. miczynskii* with 18%, *P. citrinum* with 14% and *P. melinii* and *P. corylophilum* with 12% each; and the less frequent species were *P. citreonigrum*, *P. arenicola*, *E. shearii*, *P. oxalicum*, *P. pinophilum*, *P. olsonii*, *P. commune* and *P. chrysogenum* with 2% each. 66% of corn flour samples are contaminated with species reported as producing mycotoxins *P. citreonigrum*, *P. citrinum*, *P. commune*, *P. islandicum*, *P. miczynskii*, *P. melinii*, *P. corylophilum*, *P. oxalicum*, *P. pinophilum*, and *P. chrysogenum*

KEYWORDS: *Penicillium*, mycotoxins, corn flour, carcinomas

INTRODUCCION

El hongo *Penicillium* presenta una gran distribución en la naturaleza, se encuentra contaminando productos alimenticios como cereales, harinas, semillas oleaginosas, frutas, mermeladas y otros productos agrícolas, en la etapa de producción y almacenamiento (Basilico 2001). Uno de los mayores problemas que generan los *Penicillium* radica en la producción de micotoxinas en los alimentos con diferentes efectos tóxicos, constituyendo un riesgo potencial para la salud humana y animal (Boutrif y Canet, 1998).

Se estima que el 25% de los cultivos alimenticios del mundo son afectados por micotoxinas, durante el crecimiento y almacenamiento, debido a productos del metabolismo del crecimiento fúngico (United States Department of Agriculture, 2012).

Las micotoxinas son “metabolitos fúngicos cuya ingestión, inhalación o absorción cutánea reduce la actividad, hace enfermar o causa la muerte en animales (sin excluir las aves) y personas, son muy diversas desde el punto de vista químico, pero todas tienen un peso

molecular relativamente bajo, que les confiere una termo estabilidad notable. Es prácticamente imposible inactivar las micotoxinas importantes en el aspecto clínico hasta un nivel final inocuo mediante cualquier tratamiento térmico que se aplique en la elaboración de alimentos (Mossel y Moreno, 2004).

Algunas especies de *Penicillium* producen micotoxinas como: la citrinina que es neurotóxica, nefrotóxica, produce carcinomas y es inmunosupresor. Los principales efectos tóxicos de la patulina y la ocratoxina A son: neurotoxicidad, afecciones pulmonares, lesiones de hígado y riñón, carcinomas e inmunosupresión (Frisvad, 1981; Kuiper y Scott, 1989).

En el subgénero *Penicillium* se ha descrito la producción de ocratoxina A en *Penicillium brevicompactum*, *Penicillium expansum* y *Penicillium chrysogenum* (Vazquez et.al. 1995)

En el Perú el maíz amiláceo es utilizado para el consumo humano directo, ya sea en grano verde bajo la forma de choclo, grano seco bajo la forma de cancha, hervido como mote o transformado artesanalmente para su consumo en harina, bebidas, entre otros. El maíz amiláceo predomina en las zonas alto andinas del Perú, por lo que puede ser cultivado desde el nivel del mar hasta los 3,900 metros de altura (Huamanchuco, 2003).

Existen más de 1,000 productos derivados total o parcialmente del maíz. Estos productos incluyen alimentos para el hombre como: tortillas, harinas de maíz, masa, varios bocadillos, cereales, espesantes, pastas, jarabes, endulzantes, aceite de maíz, bebidas sin alcohol, cerveza y whisky (Dowswell et al. 1996).

La harina de maíz es un ingrediente infaltable en los hábitos del poblador peruano, empleados para la preparación de tamales, maicillos, sopas, mazamorras, tortillas, pan, pasteles, etc.; es un sustrato adecuado para el crecimiento de *Penicillium*, debido a su alto contenido en glúcidos (Mossel y Moreno 2004), estos mohos empiezan a crecer en el momento de la recolección debido al apilamiento del producto al incrementar la temperatura u humedad relativa, y la proliferación continua durante el almacenamiento, de allí nace la importancia de la determinación de especies del genero *Penicillium* y de reportar especies productoras de micotoxinas, por el riesgo que implica su consumo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material analizado

Se analizaron 30 muestras (1 Kg/ muestra) de harina de maíz (*Zea mays*) procedentes de dos centros de Abasto del distrito de Wanchaq, provincia del Cusco, departamento del Cusco- Perú;

16 muestras procedieron del mercado de Wanchaq y 14 del mercado de Ttio. Los datos de procedencia, mercados y puestos de expendio quedan especificados en la tabla 1. El método estadístico fue muestreo simple por selección (tabla 1)

Tabla 1.
Distribución de muestras en los principales Mercados del Distrito de Wanchaq.

Mercado	Puestos de Expendio Muestreados	Fecha de Muestreo
Wanchaq	16	17 de mayo del 2016.
Ttio	14	19 de mayo del 2016.
TOTAL	30	

Métodos de cultivo y aislamiento.

De 1 kg de muestra se realizó el cuarteo, obteniendo una muestra representativa de 250 gr de harina de maíz, se utilizó el método por dilución y siembra por incorporación (MD), en Agar Oxitetraciclina Glucosa Extracto de Levadura (OGYE), recomendado por International Commission on Microbiological Specifications for Foods (2000). Se realizó las diluciones (10^5) y se sembraron en este medio (2 placas por dilución), que garantiza la formación de micelios y estructuras de reconocimiento de un amplio espectro de agentes. Posteriormente se incubaron las placas con el inóculo a $25^{\circ}\text{C}\pm 0,5$, se hicieron lecturas a los 5 días para el control de las colonias fúngicas y repicado en placas Petri para su aislamiento e identificación.

Identificación de especies del Genero *Penicillium*

El estudio macroscópico se realizó tomando en cuenta la metodología recomendada por Pitt (2001). Para la identificación de se utilizaron tres medios diferenciales: Agar Czapek Extracto de Levadura (CYA), Agar Extracto de Malta (MEA) y Agar 25% Nitrato Glicerol (G25N) bajo las condiciones que se muestran en la tabla 2 (Pitt JI, 1997).

Tabla 2.

Medios de cultivo, temperaturas y tiempo de incubación para el estudio macroscópico del género *Penicillium*

Medios :	CYA*	MEA**	G25N***
	5 °C	---	---
Temperaturas:	25 °C	25 °C	25 °C
	37 °C	---	---
Tiempo	7 días	7 días	7 días

Fuente: Pitt, 1991

Se prepararon una suspensión de esporas con 3ml. de agua previamente esterilizada, que fue homogenizada. Realizar el mismo procedimiento con las cepas restantes. Se sembró tomando el tubo respectivo con la suspensión de esporas, introducir la aguja de siembra e inocular en tres puntos equidistantes. Observación de características Macroscópicas de la colonia: color de la colonia, textura, presencia de plegamientos, márgenes y zonaciones, exudados y coloración. Diámetro de las colonias al séptimo día de incubación. Para el Estudio Microscópico se utilizó cultivo en Cámara Húmeda, se incubaron las placas a 25 °C de 2 - 3 días. Se procedió a la evaluación de la estructura del penicilo, forma y longitud de las fiálides, textura de las paredes de los elementos del conidióforo y la conidia. Se utilizó ocular micrométrico de 16X y objetivo de 40X. Para la conversión de datos cada unidad de medida se multiplicó por 2.5. Los datos obtenidos de los estudios de laboratorio, fueron analizados con el programa PENNAME Versión 1.1 desarrollado por John I. Pitt, CSIRO Food Research Laboratory Australia en 1991

Análisis estadístico

Con los datos obtenidos se construyó una base de datos, que se analizó mediante el programa SPSS versión 8.0 para Windows. Los resultados fueron analizados mediante porcentajes y tablas de frecuencia.

RESULTADOS

En el centro de abasto de Wanchaq las 16 muestras de harina de maíz para consumo humano estuvieron contaminadas con cepas del Genero *Penicillium*. Se aislaron 32 cepas, de las cuales 74.2 % pertenecen al sub genero *Furcatum*, el 12.9 % al sub genero *Aspergilloides*, 9.8% al sub genero *Penicillium* y 3.2. % *Biverticillium*. Se determinó, una cepa de *P. citrinum*, tres cepas de *P. commune*, cinco cepas de *P. miczynskii* , cinco cepas de *P. melinii* , cinco cepas de *P.*

corylophilum , una cepa de *P. oxalicum*, una cepa de *P. chrysogenum*, una cepa de *P. pinophilum*, especies reportadas como productoras de micotoxinas (tabla 3).

Tabla 3.

Determinación de Especies del Género *Penicillium* Según Sub Género para el dentro de abastos de Wanchaq.

Género	Sub Género	Especie	Nº de Cepas
	<i>Aspergilloides</i>	<i>P. decumbens</i>	2
		<i>P. glabrum</i>	2
	<i>Furcatum</i>	<i>P. citrinum</i>	3
		<i>P. corylophilum</i>	3
		<i>P. melinii</i>	5
		<i>P. miczynskii</i>	5
		<i>P. oxalicum</i>	1
		<i>P. raistrickii</i>	2
		<i>P. simplicissimum</i>	3
		<i>P. Shearii</i>	1
	<i>Penicillium</i>	<i>P. chrysogenum</i>	1
		<i>P. commune</i>	1
		<i>P. olsonii</i>	1
	<i>Biverticillium</i>	<i>P. pinophilum</i>	1
	Cepas no determinadas		1
	Número total de cepas		32

De las 14 muestras de maíz provenientes del centro de abastos de Ttio se aislaron un total de 18 cepas, de las cuales 66.7 % pertenecen al sub género *Furcatum*, 16.7 % al sub genero *Biverticillium*, y el 5.5. % pertenecen al sub genero *Penicillium*, y el sub genero *Aspergilloides* también con 5.5 %. Se determinó una cepa de *P. citreonigrum*, cuatro cepas de *P. citrinum*, tres cepas de *P. islandicum*, tres cepas de *P. corylophilum*, una cepa de *P. melinii* y cuatro cepas de *P. miczynskii* (tabla 4).

Tabla 4.Determinación de Especies del Género *Penicillium* en el centro de abastos de Ttio.

Género	Sub Género	Especie	Nº de Cepas
	<i>Aspergilloides</i>	<i>P. citreonigrum</i>	1
		<i>P. citrinum</i>	4
	<i>Furcatum</i>	<i>P. corylophilum</i>	3
		<i>P. melinii</i>	1
		<i>P. miczynskii</i>	4
	<i>Penicillium</i>	<i>P. arenicola</i>	1
	<i>Biverticillium</i>	<i>P. islandicum</i>	3
Cepas no determinadas			1
Número total de cepas			18

De las 48 cepas aisladas en 30 muestras de harina de maíz, se determinaron 17 especies. El 72.9 % cepas pertenecen al Sub Género *Furcatum*, 10.4 % pertenecen al Sub Género *Aspergilloides*, 8.3 % al Sub Género *Penicillium* y 8.3 % de cepas al Sub Género *Biverticillium*, Se puede indicar entonces que *P. miczynskii*, *P. melinii*, *P. corylophilum* y *P. citrinum* son las especies que contaminan con mayor frecuencia la harina de maíz en condiciones ambientales que presenta la ciudad del Cusco, como clima seco y temperatura promedio anual de 12 °C que pertenecen al sub genero *Furcatum*, esto se debe posiblemente a que presentan un crecimiento rápido, lo que hace que estos organismos colonicen el sustrato de harina de maíz en menor tiempo, y produzcan metabolitos secundarios como las micotoxinas que inhiban el crecimiento de otras especies de mohos (tabla 5).

Tabla 5.

Resultados de la determinación de Especies del Género *Penicillium* según Sub Género en Ambos centros de abastos (Wanchaq – Ttio).

Género	Sub Género	Especie	Nº de Cepas	%
	<i>Aspergilloides</i>	<i>P. decumbens</i>	2	4
		<i>P. glabrum</i>	2	4
		<i>P. citreonigrum</i>	1	2
	<i>Furcatum</i>	<i>P. citrinum</i>	7	14
		<i>P. corylophilum</i>	6	12
		<i>P. melinii</i>	6	12
		<i>P. miczynskii</i>	9	18
		<i>P. oxalicum</i>	1	2
		<i>P. raistrickii</i>	2	4
		<i>P. simplicissimum</i>	3	6
		<i>P. Shearii</i>	1	2
	<i>Penicillium</i>	<i>P. chrysogenum</i>	1	2
		<i>P. commune</i>	1	2
		<i>P. olsonii</i>	1	2
		<i>P. arenicola</i>	1	2
	<i>Biverticillium</i>	<i>P. pinophilum</i>	1	2
		<i>P. islandicum</i>	3	6
	Cepas no determinadas		2	4
	Número total de cepas		50	

Se puede observar que la especie más frecuente en muestras de harina de maíz para consumo humano es *P. miczynskii* con 18% seguida de *P. citrinum* con 14% y *P. melinii* y *P. corylophilum* con 12%; y las especies menos frecuentes son *P. citreonigrum*, *P. arenicola*, *E. shearii*, *P. oxalicum*, *P. pinophilum*, *P. olsonii*, *P. commune* y *P. chrysogenum* con 2% cada una (figura 1).

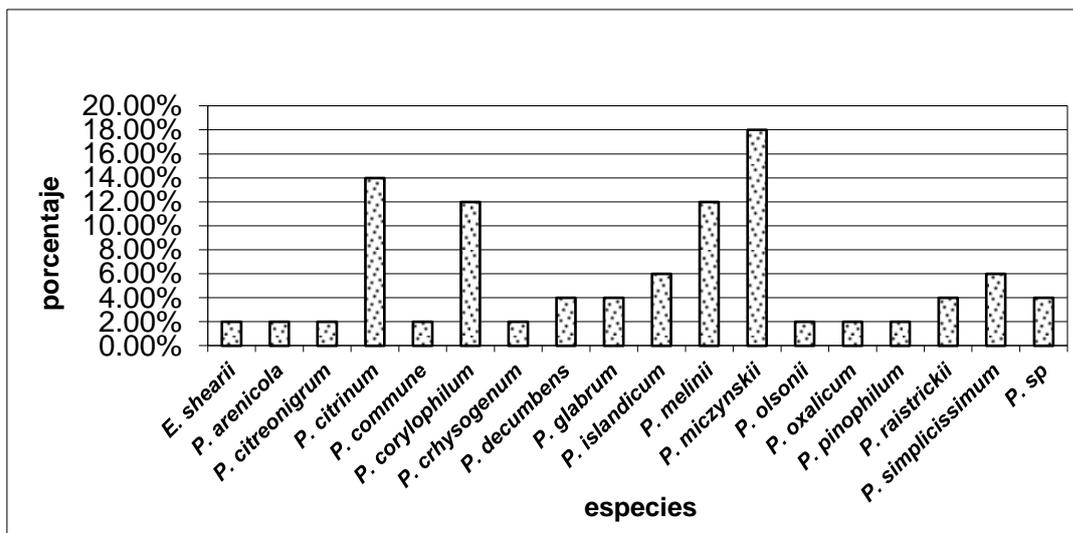


Figura 1. Frecuencia de especies de *Penicillium* en muestras de harina de maíz

DISCUSIÓN

De las 50 cepas aisladas de 30 muestras de harina de maíz, se determinaron 17 especies. El 70 % cepas pertenecen al Sub Género *Furcatum*, 10 % pertenecen al Sub Género *Aspergilloides*, 8 % al Sub Género *Penicillium* y 8 % de cepas al Sub Género *Biverticillium*. Se puede indicar entonces que son 8 especies que contaminan con mayor frecuencia la harina de maíz en las condiciones ambientales que presenta la ciudad del Cusco, como clima seco y temperatura promedio anual de 12 °C (Observatorio meteorológico -UNSAAC. 2016), que pertenecen al sub genero *Furcatum*, esto se debe posiblemente a que presentan un crecimiento rápido, lo que hace, que estos organismos colonicen el sustrato de harina de maíz en menor tiempo, y produzcan metabolitos secundarios como las micotoxinas que inhiban el crecimiento de otras especies de mohos (Martínez. 2003), (tabla 5).

El 66% de muestras están contaminadas con especies reportadas como productoras de micotoxinas como: *P. citreonigrum*, *P. citrinum*, *P. commune* y *P. islandicum*, *P. miczynskii*, *P. melinii*, *P. corylophilum*, *P. oxalicum*, *P. pinophilum*, y *P. chrysogenum*

El 18 % de muestras de harina de maíz están contaminadas con *P. miczynskii* , *P. melinii* y *P. corylophilum* con 12% cada una; *P. oxalicum*, *P. pinophilum* , *P. commune* y *P. chrysogenum* con 2%. , Martínez (2003) las reporta como productoras de ocratoxina A, esta micotoxina es neurotóxica, inmunosupresora, genotóxica, carcinógena y teratogénica de gran actualidad que contamina alimentos de consumo humano, principalmente cereales (), 14 % de las muestras

están contaminadas con *P. citrinum* que produce la citrinina que causa la alteración de la función renal, siendo responsable de la nefropatía y la necrosis tubular del riñón (Salvador, 2006). *P. islandicum* (6%) , *P. citreonigrum* (2%) y *P. commune* (2%), que producen la islandioxina que causa la muerte rápida con severos daños en el hígado y hemorragia, luteoskirina en grandes dosis causa necrosis centrotubular del hígado de ratones acompañado de metamorfosis de hepatocitos (Salvador, 2006).

El 100 % de muestras de harina de maíz procedentes de los dos centros de Abastos del distrito de Wanchaq estuvieron contaminadas con *Penicillium*, a pesar de la rápida rotación del producto (15 días aproximadamente) en los puestos de expendio, debido a que los expendedores minoristas se abastecen en pequeñas cantidades (50 Kg aproximadamente). Por otra parte, la temperatura y humedad relativa registrada en la ciudad del Cusco entre abril y mayo fue de 9,6 a 12,0 °C y una humedad relativa promedio mensual de 51,8 a 72,7 % (Observatorio meteorológico -UNSAAC. 2016) condiciones ambientales no muy favorables para el desarrollo de mohos, sin embargo, en harina de maíz en el presente estudio, todas las muestras estuvieron contaminadas con *Penicillium*, donde se encontraron 17 especies de *Penicillium* de las cuales la especie más frecuente en harina de maíz fue *Penicillium miczynskii*, seguida de *Penicillium citrinum* reportadas por producir ocratoxina A y citrinina considerada altamente nefrotóxica, teratogénica y cancerígena (Martínez, 2003; Salvador, 2006).

CONCLUSIONES

El 100% de muestras de harina de maíz, para consumo humano estuvieron contaminadas con *Penicillium*. El 70 % de cepas pertenecen al Sub Género *Furcatum*, 10 % pertenecen al Sub Género *Aspergilloides*, 8 % al Sub Género *Penicillium* y 8 % de cepas al Sub Género *Biverticillium*. Se determinaron 17 especies, de las cuales la frecuencia más alta está dada por *Penicillium miczynskii* (18%), seguida por *Penicillium citrinum* (14 %), *P. melinii* y *P. corylophilum* con 12% cada una, *P. islandicum* (6%), *P. citreonigrum* (2%) y *P. commune* (2%) reportadas como productoras de micotoxinas.

Autor corresponsal:

Martha N. Mostajo-Zavaleta

Correo electrónico: martha.mostajo@unsaac.edu.pe

BIBLIOGRAFÍA

- Basílico, J.C. (1999). *Micotoxinas en Alimentos. El riesgo sobre la mesa*. Centro de Publicaciones Universidad Nacional del Litoral.
- Boutrif, E. & Canet, C. (1998). Micotoxin prevention and control: FAO programans. *Rev MedVet-Touloues*, 149, 681-694
- Dowswell, C.R. & Paliwal R. (1996). *Maize in Third World*. Ed. Westview.
- Frisvad, J.C. (1981). *Physiological criteria and mycotoxin production as aids in identification of common asymmetric Penicillia*. *Applied and Environmental Microbiology*.
- Huamachuco, D.C. (2013). *La cadena de valor de maíz en el Perú: diagnóstico del estado actual, tendencias y perspectivas*. Lima, Perú: IICA Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura.
- Kuiper, G. T. & Scott, PM. (1989). Assessment of the mycotoxin ochratoxin A. *Biomed Environ Sci*, 2, 179-248.
- Observatorio Metereologico. (2016). *Registro de datos meteorológicos*. Cusco, Perú: Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco.
- International Commission on Microbiological (2000) Specifications for Foods, Ed Reimp.
- Martínez, E. (2003). Estudio de especies micotoxigenas del genero *Penicillium*: *Penicillium verrucosum* Diercky. Departamento de salud y anatomía animal. Barcelona: Facultad de Veterinaria, Universidad de Barcelona.
- Mossel, M. (2003). *Microbiología de alimentos*. Editorial Acriba S.A
- Pitt, J.I. (1997). Toxigenic *Penicillium* species. En: M.P Doyle. *Food Microbiology. Fundamentals and Frontiers*. Washington DC: ASM Press.
- Pitt, J.I. (1991). PENNAME: a computer key to common *Penicillium* species. North Ryde, Australia: CSIRO Division of Food Processing.
- Badui, S. (2006). *Química de los alimentos*. Mexico: Editorial Pearson.
- United States Department of Agriculture. (2012). *Grain inspection, packers and stockyards administration*. Washington: United States Department of Agriculture.
- Vázquez-Belda B, Fente-Sampayo CA, Quinto-Fernández E, Franco-Abuin C. (1995). *Penicillium verrucosum* Diercky. Departamento de salud y anatomía animal. Barcelona: Facultad de Veterinaria, Universidad de Barcelona.