

MICROBIOTA Y AFLATOXINAS EN MANTEQUILLA DE CACAHUATE

REBECA MARTINEZ FLORES*
ROCÍO ALVAREZ ROMERO*
GENOVEVA GARCÍA AGUIRRE*

RESUMEN

Cuarenta y tres muestras de mantequilla de cacahuete comprada a granel fueron analizadas para determinar aflatoxinas, así como para conocer los mohos contaminantes. En 96% de las muestras, se detectaron aflatoxinas, en niveles que van de trazas a 16.67 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Los mohos predominantes fueron especies de *Aspergillus* y *Penicillium*.

Palabras clave: microbiota, mohos micotoxígenos, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Absidia*, biodeterioro.

ABSTRACT

Forty-three peanut butter samples purchased from bulk lots were analyzed for aflatoxin contamination and contaminating mold counts. Ninety-six percent of the samples were aflatoxin contaminated, with levels varying from trace amounts to 16.67 $\mu\text{g}/\text{kg}$. The predominating molds were species of *Aspergillus* and *Penicillium*.

Key words: mycobiota, mycotoxigenic molds, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Absidia*, biodeterioration.

INTRODUCCIÓN

Varias especies de los géneros *Aspergillus* y *Penicillium* se han aislado de un gran número de alimentos y productos agrícolas como cacahuete, maíz, trigo, semillas de algodón, sorgo, leche, productos elaborados y alimentos balanceados (Busby y Wogan, 1984; Farag *et al.*, 1981 a, b., 1985a, b; Sanchis *et al.*, 1986). Algunas de las especies aisladas se reportan como productoras de diversas micotoxinas.

De las micotoxinas conocidas hasta ahora que contaminan en forma natural diversos alimentos, las aflatoxinas están consideradas como las más importantes; estas toxinas, producidas por *Aspergillus flavus* y *A. parasiticus* pueden causar diversas respuestas patológicas en animales y humanos. La aflatoxina B1, la más potente, está considerada como cancerígena, teratógena, mutágena y muy tóxica para la mayoría de las especies animales. Además, las aflatoxinas han estado

* Departamento de Botánica, Instituto de Biología, UNAM, Apartado postal 70-233, Del. Coyoacán, 04510 México, D.F.

relacionadas con enfermedades en humanos como carcinomas hepatocelulares primarios y el síndrome de Reye en algunos países en los que estas enfermedades son frecuentes (Enomoto y Saito, 1982; Newberne y Butler, 1969; Peers y Linsell, 1973; Shank *et al.*, 1972).

Debido a los efectos perjudiciales que inducen en los animales y principalmente a sus efectos cancerígenos, en muchos países, se han realizado programas de monitoreo locales, y en ocasiones internacionales, para determinar los niveles de aflatoxinas en alimentos destinados al consumo humano y animal.

Un producto sujeto a inspecciones constantes en todo el mundo, es el cacahuate, debido a que es muy susceptible de contaminarse con aflatoxinas (Robertson *et al.*, 1965).

Jelinek *et al.* (1989), en su trabajo sobre la presencia de micotoxinas en alimentos para humanos y para animales a nivel mundial, analizan, entre otras, la información obtenida en el programa de monitoreo de contaminación de alimentos FAO/WHO/UNEP; para cacahuate y sus productos, los datos de inspecciones extensas proporcionados por FAO/WHO/UNEP, totalizan 185 000 muestras reportadas por Australia, Brasil, Canadá, Estados Unidos, Guatemala, Irlanda, Japón, México, Reino Unido, Suiza y la Unión Soviética; los resultados en la mayoría de las medianas y percentiles 90º indicaron que los niveles de aflatoxinas fueron inferiores a 20 µg/kg, con la excepción de 1 500 muestras analizadas en años y programas específicos. México para 1980 reportó en 29 muestras contaminadas con una mediana de 42.5 µg/kg y percentil 90º, 700 µg/kg. Los autores concluyen que en muchos de los países participantes los programas para controlar aflatoxinas en cacahuate han sido efectivos, que la contaminación con aflatoxinas del cacahuate puede presentarse en todo el mundo y que se necesita intensificar los esfuerzos para desarrollar y mantener control en los suplementos mundiales de cacahuate.

La mantequilla de cacahuate es importante desde el punto de vista nutricional, ya que es rica en proteínas y carbohidratos (Robles, 1980) y ha sido considerada como un complemento proteico en los alimentos para niños desnutridos (WHO/FAO/UNICEF, 1962) por lo que también está sujeta a inspecciones continuas.

Por lo anterior, es importante saber si la mantequilla de cacahuate que consume la población humana en el Distrito Federal está contaminada con aflatoxinas y si es así, cuáles son los niveles de contaminación. El objetivo de este estudio fue cuantificar las aflatoxinas presentes en la mantequilla de cacahuate que se vende a granel en el D.F. y determinar la microbiota presente.

MATERIALES Y MÉTODOS

Mantequilla de cacahuate. Se analizaron cuarenta y tres muestras (de 100 g c/u), adquiridas en catorce establecimientos localizados en San Pedro Atocpan, Milpa Alta, Distrito Federal.

Micobiota. Para determinar la cantidad de hongos presentes en las muestras, se siguió la técnica descrita por Warcup (1950) para suelo, y el medio de cultivo utilizado fue papa, dextrosa, agar, tergitol, aureomicina (PDTA). Las muestras fueron incubadas durante ocho días a 26°C (Tuite, 1969) y purificadas en diversos

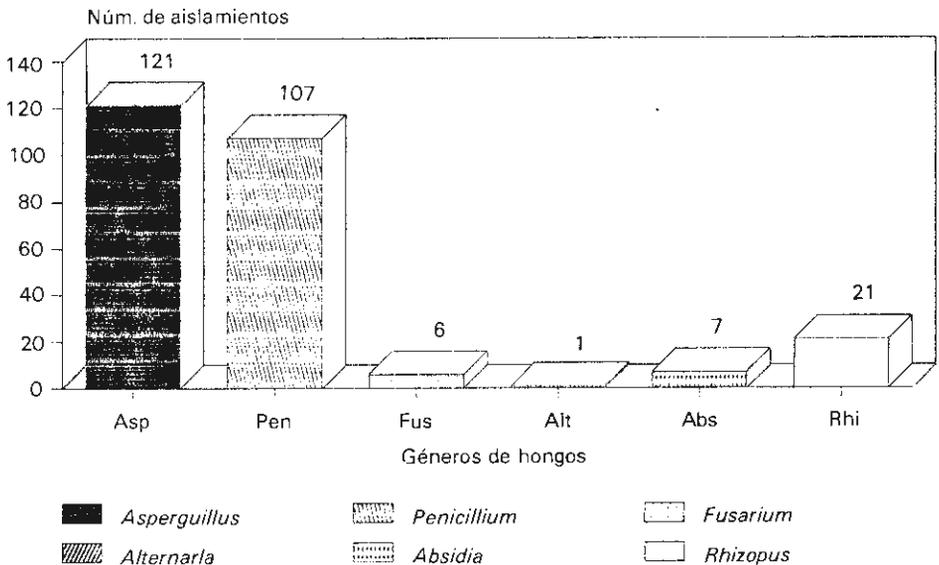


Fig. 1. Mohos aislados de mantequilla de cacahuete.

medios de cultivo como: solución de czapek, agar (Cz) para *Aspergillus* y *Penicillium*; papa, dextrosa, agar (PDA) para *Fusarium*, *Alternaria*, *Absidia* y *Rhizopus*.

Identificación. Los hongos fueron identificados por género y especie mediante el uso de claves especializadas, con énfasis en los géneros *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium* (Barnett y Hunter, 1972; Raper y Fennell, 1965; Pitt, 1979; Booth, 1971).

Determinación de aflatoxinas. La técnica, usada para determinación de aflatoxinas y su confirmación, fue la aprobada por la Asociación Oficial de Químicos Analíticos (AOAC) para cacahuete y sus productos (Método BF) Association of Official Analytical Chemists, 1984.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De las cuarenta y tres muestras de mantequilla de cacahuete analizadas se obtuvieron 107 aislamientos de *Penicillium*, 121 de *Aspergillus*, 6 de *Fusarium*, 1 de *Alternaria*, 7 de *Absidia* y 21 de *Rhizopus* (Fig. 1).

Con relación a las muestras estudiadas, 76.7% estuvieron contaminadas con *Aspergillus*, 79% con *Penicillium*, 9.3% con *Fusarium*, 37.2% con *Rhizopus*, 2.3% con *Alternaria* y 11.6% con *Absidia*.

La presencia de *Aspergillus* y *Penicillium* en más del 75% del total de muestras es preocupante, ya que los dos géneros son micotoxígenos importantes, por lo que es necesario conocer las especies para sugerir la existencia de un riesgo sanitario potencial.

De *Fusarium*, otro género importante en la producción de toxinas, se identificó

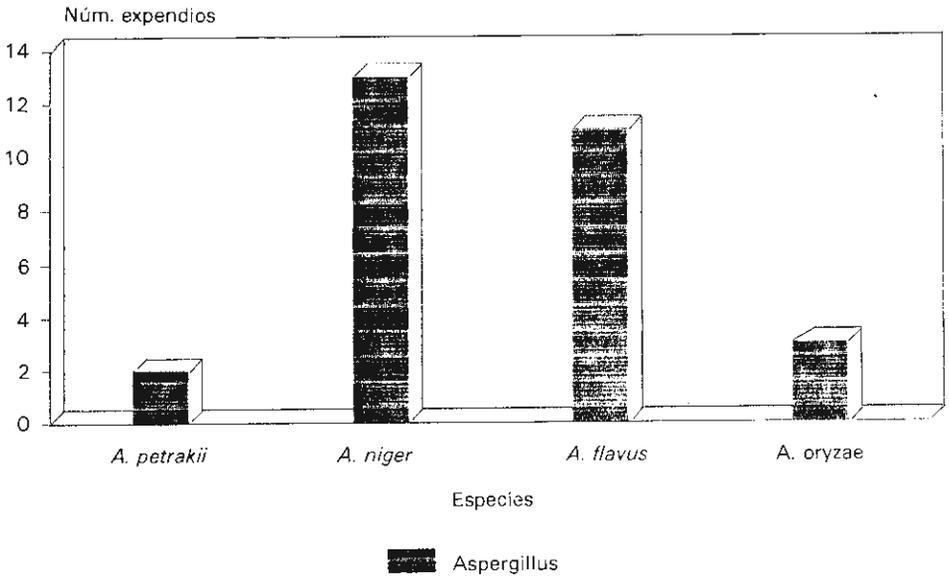


Fig. 2. Número de expendios contaminados con especies de *Aspergillus*.

F. oxysporum Schlecht que a pesar de no estar reportado como productor importante de micotoxinas en condiciones naturales, y en condiciones de laboratorio no ha sido capaz de producir zearalenona o tricotecenos, en 1980, Joffe indujo diferentes reacciones de sensibilidad en piel de conejo, debido a esto, esta especie podría ser considerada como un riesgo sanitario potencial.

Los géneros *Rhizopus* y *Absidia*, también aislados, no se reportan como productores de micotoxinas, no obstante se les considera indicadores de biodeterioro tanto de materia prima como de productos elaborados. *Alternaria*, que además de indicador de degradación ha sido reportado como productor de diversos metabolitos tóxicos para animales e incluso para el hombre (Griffin y Chu, 1983), fue aislado en un porcentaje bajo.

En la figura 2 se presenta el número de expendios en los que se obtuvieron muestras contaminadas con *Aspergillus*. *A. flavus* Link fue aislado de las muestras de 11 expendios, *A. oryzae* (Ahlburg) Cohn de las de cuatro y *A. niger* Van Tieghem de 13; las dos últimas son especies indicadoras de biodeterioro. Además, en opinión de Wicklow, *A. oryzae* es la forma domesticada de *A. flavus* y se usa ampliamente en Oriente, principalmente Japón, en la elaboración de diversos alimentos fermentados (Beuchat, 1978). *A. petrakii* Vörös fue aislado de las muestras de dos expendios, no está reportada como productora de micotoxinas ni como causante de degradación (Raper y Fennell, 1965), pero constantemente se aísla de algunos productos agrícolas analizados en nuestro laboratorio (García y Martínez, 1985) y forma parte del grupo *A. ochraceus* por lo que deberá estudiarse con más cuidado.

En la figura 3 se presenta la suma total del número de aislamientos de *A. flavus* obtenidos en las muestras de cada expendio. A pesar del número reducido de

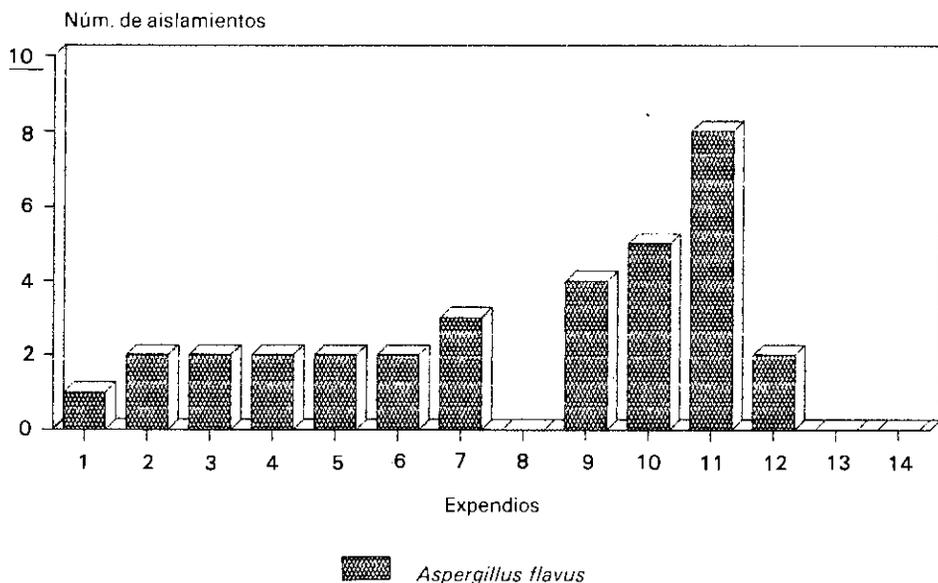


Fig. 3. *Aspergillus flavus* Link aislado de mantequilla de cacahuete.

aislamientos por expendio (0-8), 8 en el expendio 11, en el que fueron más abundantes, de las muestras de los otros expedios se obtuvieron de 1 a 5 aislamientos. Con base en estos datos, la presencia de esta especie sugiere que puede existir un riesgo micotoxigénico si el producto no se maneja adecuadamente.

Del género *Penicillium* se identificaron 16 especies de las cuales 12 se reportan como productoras de diversas micotoxinas, aunque sólo en cinco se encontró en forma natural: *P. citrinum* Thom, *P. melinii* Thom, *P. chrysogenum* Thom, *P. expansum* Link ex Gray y *P. puberulum* Bain. Se reporta *P. viridicatum* Westling como productora de micotoxinas en condiciones de laboratorio utilizando como sustrato al cacahuete (Stoloff, 1976).

En el cuadro 1 se observa el número de aislamientos de cada especie así como las reportadas como productoras de micotoxinas en forma natural.

El número de aislamiento de *Penicillium* presentes en las muestras de cada expendio se observan en la figura 4. En todas las muestras de todos los expendios fue aislado este género, lo que es preocupante, ya que, como se mencionó, la mayoría de las especies identificadas son productoras de micotoxinas en condiciones naturales.

Además del riesgo micotoxigénico, *Aspergillus* y *Penicillium* puede representar otro de biodeterioro.

Del total de muestras analizadas, en 19 (44%) fueron determinadas aflatoxinas, en 8 las concentraciones fueron trazas (menos de $1 \mu\text{g}/\text{kg}$) y en 11 la aflatoxina B1 de 0.71 hasta $16.06 \mu\text{g}/\text{kg}$. Solamente en una muestra fueron detectadas las cuatro aflatoxinas (Cuadro 2), B1, 16.06 , B2, 16.67 , G1, 16.06 y G2, $4.78 \mu\text{g}/\text{kg}$, niveles considerados altos por la mayor parte de los países en los que existen

legislaciones sanitarias para micotoxinas en alimentos y para consumo humano y para diversos tipos de ganado (Krogh, 1977; Schuller *et al.*, 1983).

Los resultados de esta inspección son preocupantes ya que 44% del total de las

CUADRO 1
ESPECIES DE *PENICILLIUM* AISLADAS DE
MANTEQUILLA DE CACAHUATE

| Subgénero | Núm. de Aislamientos | Especies |
|-----------------------|----------------------|--|
| <i>Furcatum</i> | 12 | <i>P. citrinum</i> Thom* |
| | 5 | <i>P. oxalicum</i> Carrie y Thom |
| | 3 | <i>P. janthinellum</i> Biourge |
| | 2 | <i>P. melinii</i> Thom* |
| | 1 | <i>P. waksmanii</i> Zeleski |
| <i>Penicillium</i> | 1 | <i>P. arenicola</i> chalabuda |
| | 1 | <i>P. brevicompactum</i> Dierckx |
| | 8 | <i>P. chrysogenum</i> Thom* |
| | 17 | <i>P. crustosum</i> Thom |
| | 8 | <i>P. echinulatum</i> Raper y Thom ex Fassatiava |
| | 18 | <i>P. expansum</i> Link ex Gray* |
| | 1 | <i>P. olivicolor</i> Pitt |
| | 8 | <i>P. puberulum</i> Bain* |
| <i>Biverticillium</i> | 10 | <i>P. viridicatum</i> Westling |
| | 1 | <i>P. variabile</i> Sopp |
| | 11 | <i>P. pinophilum</i> Hegcock |

* Especies en las que se han encontrado producción de micotoxinas en forma natural.

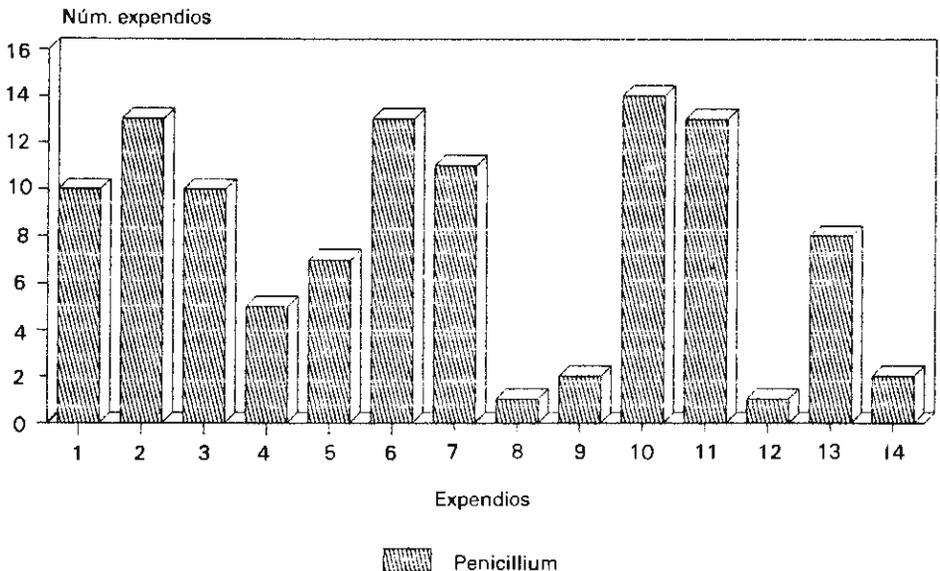


Fig. 4. Género *Penicillium* aislado de mantequilla de cacahuete.

CUADRO 2
NIVELES DE AFLATOXINAS
DETECTADAS EN MUESTRAS
DE MANTEQUILLA DE
CACAHUATE

| Clave | Aflatoxinas ($\mu\text{g}/\text{kg}$) | | | |
|-------|---|-------|-------|------|
| | B1 | B2 | G1 | G2 |
| 07-2 | 0.71 | ND | ND | ND |
| 13-2 | 8.05 | ND | ND | ND |
| 02-3 | 4.78 | ND | ND | ND |
| 06-3 | 5.89 | ND | ND | ND |
| 07-3 | 8.06 | ND | ND | ND |
| 01-4 | 4.78 | ND | ND | ND |
| 05-4 | 16.06 | 16.67 | 16.06 | 4.78 |
| 08-4 | 12.17 | ND | ND | ND |
| 10-4 | 2.72 | ND | ND | ND |
| 11-4 | 4.78 | ND | ND | ND |
| 13-4 | 4.92 | ND | ND | ND |

ND= No detectables.

muestras estuvieron contaminadas, y de éstas 52% con niveles superiores a 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de aflatoxina (2.72-16.06 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de aflatoxina B1) lo que podría tener repercusiones sanitarias, particularmente porque la mantequilla de cacahuete la consume directamente la población humana del Distrito Federal y los niños, los más susceptibles según la literatura, son los que aparentemente prefieren su consumo. Sería conveniente establecer programas de muestreo continuos y constantes para el cacahuete y sus productos en este país, ya que los niveles regulatorios para alimentos en la mayoría de los países del mundo son de 5 a 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (van Egmond; 1987).

LITERATURA CITADA

- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. 1984. *Official methods of analysis*. Chap. 26. (26.001-002; 008-012; 028; 034-036) Assoc. Off. Analytical Chem, Arlington. 1141 p.
- BARNETT, H. L. Y B. H. HUNTER. 1972. *Illustrated genera of imperfect fungi*. Burgess, Mineápolis. 241 pp.
- BEUCHAT, L. R. 1978. Traditional fermented food products. En: L. R. Beuchat (ed.) *Food and beverage mycology*. Avi Publ. Co., Westport, Connecticut. p. 224-253.
- BOOTH, C. 1971. *The genus Fusarium*. Commonw. Mycol. Inst. Kew, Surrey. 273 pp.
- BUSBY, W. F., JR. Y G. N. WOGAN. 1984. Aflatoxin. En: C. E. Searle (ed.) *Chemical carcinogens*. Amer. Chem. Soc. Washington. pp. 983-1000.
- ENOMOTO, M. Y M. SAITO. 1972. Carcinogens produced by fungi. *Annual Rev. Microbiol.* 26: 279-312.
- FARAG, R. S., F. A. KHALIL, R. A. TAHA Y A. ABOUL-ENIEN. 1981a. Chemical studies on the unsaponifiable matter of the cottonseed and peanut oils infected by *Aspergillus flavus*. *Grasas y Aceites* 32: 87.
- FARAG, R. S., A. M. YOUSSEF, K. A. SABET, M. M. FAHIM Y F. A. KHALIL. 1981b. Chemical studies on corn embryos infected by varios fungi. *J. Amer. Oil Chem. Soc.* 58: 722.
- FARAG, R. S., S. M. MOHSEN, F. A. KHALIL Y A. E. BASYONY. 1985a. Effect of fungal infection on the chemical composition of wheat, soybean and sesame seeds. *Grasas y Aceites* 36: 357.
- FARAG, R. S., S. M. MOHSEN, F. A. KHALIL Y A. E. BASYONY. 1985b. Studies on protein, amino acid and carbohydrate contents of wheat kernels, soybean ad sesame seeds infected by fungi. *Bull. Fac. Agric. Cairo Univ.* 36: 141.
- GARCIA, A. G. Y R. F. MARTINEZ. 1985. *Aspergillus flavus* y aflatoxinas en el maíz del Distrito Federal. *Revista Mex. Micol.* 1: 189-199.

- GRIFFIN, F. C. Y F. S. CHU. 1983. Toxicity of the *Alternaria* metabolites alternariol methyl ether, altenuene, and tenuazonic acid in the chicken embryo assay. *Appl. Environ. Microbiol.* 1420-1422.
- JELINEK, F. C. A., A. E. POHLANDY G. WOOD. 1989. Worldwide occurrence of mycotoxins in food and feed- an update. *J. Assoc. Off. Analytical Chem.* 72: 223-230.
- JOFFE, A. Z. 1980. III-3 *Fusarium* as field, storage and soil fungi under semiarid conditions in Israel. *En: Y. Ueno (ed.) Trichotecenes chemical, biological and toxicological aspects.* Elsevier, Amsterdam. pp. 95-101.
- KROGH, P. 1977. Mycotoxin tolerances in foodstuffs. *Pure and Appl. Chem.* 49: 1719-1721.
- NEWBERNE, P. M. Y W. H. BUTLER. 1969. Acute and chronic effects of aflatoxin B1 on the liver of domestic and laboratory animals: a review. *Cancer Res.* 29: 236-256.
- PEERS, F. G. Y C. A. LINSELL. 1973. Dietary aflatoxins and human liver cancer a population study based in Kenya. *Brit. J. Cancer* 27: 473-484.
- PITT, J. I. 1979. *The genus Penicillium and its teleomorphic states Eupenicillium and Talaromyces.* Academic Press, Nueva York, 634 pp.
- RAPER, K. B. Y D. I. FENNELL. 1965. *The genus Aspergillus.* Williams and Wilkins, Baltimore, 686 pp.
- ROBLES, S. R. 1980. *Producción de oleaginosas y textiles.* Limusa, México, D. F. 258 pp.
- ROBERTSON, J. A., JR., L. S. LEE, A. F. CUCULLU Y L. A. GOLDBLATT. 1965. Assay of aflatoxin in peanuts and peanut products using acetone- water for extraction. *J. Amer. Oil Chem. Soc.* 42: 467-471.
- SANCHIS, V., N. SALA, A. PALONES, P. SANTAMARIMA Y P. A. BURDASPAL. 1986. Occurrence of aflatoxin and aflatoxigenic molds in food and feed in Spain. *J. Food Prot.* 49: 445.
- SCHULLER, P. L., H. P. VAN EGMOND Y L. STOLOFF. 1983. Limits and regulations of mycotoxins. *Prac. Int. Symp. Mycotoxins* 111-129.
- SHANK, R. C., N. BHAMARAPRAVAIT, J. E. GORDON Y G. N. WOGAN. 1972. Dietary aflatoxins and human liver cancer IV. Incidence of primary liver cancer in two municipal populations in Thailand. *Food Cosmet. Toxicol.* 10: 171-179.
- STOLOFF, L. 1976. Occurrence of mycotoxins in food and feed. *En: J. V. Rodricks (ed.) Mycotoxins and other fungal related food problems.* American Chemical Society, Washington, pp. 23-50.
- VAN EGMOND, H. P. 1987. Current limits and regulations on mycotoxins. MYC 87/9.2. Joint FAO/WHO/UNEP. *Second International Conference on Mycotoxins*, Bangkok, Thailand, Sept. 28-Oct. 3, 1987. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Roma.
- TUITE, J. 1969. *Plant pathological methods in fungi and bacteria.* Burgess, Mineapolis, 239 p.
- WARCUP, J. H. 1950. The soil- plate method for isolation of fungi from soil. *Nat.* 166: 117-118.
- WICKLOW, D. T. 1984. Adaptation in wild and domesticated yellow-green Aspergilli. *En: H. Kurata y Y. Ueno (eds.) Toxigenic fungi.* Elsevier, Amsterdam, p. 78-85.
- WHO/FAO/UNICEF. 1962. *There's a fungus among us (A note on the peanut toxicity problem).* World Health Organization Nutrition Document R. 3/Add, Roma, 23 p.