

5. *PENICILLIUM*

Los penicilios son mohos comunes que desarrollan sobre los más diversos sustratos: granos, paja, cueros, frutas, etc. Su identificación en base a las características morfológicas fue caótica hasta que Pitt (1980) normalizó las condiciones de cultivo y Frisvad (1981) consideró la formación de los metabolitos secundarios en la descripción de las especies. La importancia de estos mohos en la alimentación humana y animal se debe a que, además de causar deterioro, producen toxinas (Pitt & Leistner 1991).

MORFOLOGÍA

Este género se caracteriza por formar conidios en una estructura ramificada semejante a un pincel que termina en células conidiógenas llamadas fiálides. En la figura 5.1 se esquematizan los tipos de conidióforos del género *Penicillium*, cuyas ramificaciones se ubican formando verticilos. Si hay sólo un verticilo de fiálides el pincel es monoverticilado. Las ramificaciones de un pincel poliverticilado son ramas, rúmulas, métulas y fiálides. Los conidios generados en fiálides suelen llamarse fialoconidios para indicar su origen. En la fiálide, al dividirse el núcleo, se extiende simultáneamente el extremo apical que luego se estrangula separando a la espora recién formada. Se llama conectivo a la porción de pared que une entre sí a los conidios permitiendo la formación de cadenas, y en algunas especies se aprecia claramente con el microscopio óptico (Webster 1986).

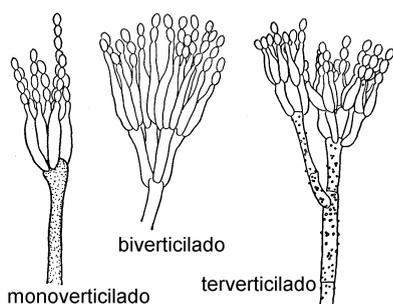


Figura 5.1. Aspecto de penicilios.

Los filamentos o hifas alcanzan un diámetro entre dos o tres micrómetros y tienen septos con un poro central que no es visible al microscopio óptico. Las paredes del estípite, las ramas o las métulas pueden ser lisas, rugosas o equinuladas. La pared de las fiálides es siempre lisa. Las fiálides pueden tener forma de ánfora o bien ser casi cilíndricas con la porción apical en forma de cono. El tamaño máximo de las fiálides es de 15 μm y la parte terminal no supera los 3 μm de largo. Los conidios son esféricos o elipsoidales, unicelulares, hialinos que en masa se ven de color verde, verde azulado, verde aceituna o gris. La pared de los conidios es lisa o rugosa según las especies (Webster 1986).

El género *Penicillium* está subdividido en grupos o subgéneros de acuerdo a la morfología de los pinceles aunque también se tiene en cuenta la velocidad de crecimiento. La serie *Monoverticillata* (Bridge *et al.* 1992) o subgénero *Aspergilloides* (Pitt & Hocking 1997), comprenden a todos los penicilios monoverticilados. En ellos el estípite suele tener mayor diámetro en la zona donde se implantan las fiálides, sin llegar a ser una vesícula como en el género *Aspergillus*.

La serie *Terverticillata* o subgénero *Penicillium*, comprende a las especies que tienen tres, a veces cuatro, niveles de ramificaciones y son de crecimiento relativamente rápido sobre Czapek-Glicerol (cap.3). Las especies con pinceles biverticilados, generalmente simétricos, cuyas colonias son de crecimiento lento sobre Czapek-Glicerol se agrupan en la serie *Biverticillata symmetrica*, o subgénero *Biverticillium*, pero a veces suele haber algunos pinceles terverticilados. Las fiálides son delgadas, con el ápice alargado y alcanzan la misma longitud que las métulas. Si los pinceles son biverticilados o irregulares, a veces junto a monoverticilados, con las fiálides en forma de ánfora y más cortas que las métulas, se las reúne en el subgénero *Furcatum* que comprende especies de las series *Biverticillata asymmetrica* y *Divaricata*. Las colonias de este subgénero crecen relativamente rápido en Czapek-Glicerol (Bridge *et al.* 1992, Pitt & Hocking 1997).

Las cepas de *Penicillium* con reproducción oxuada corresponden a los géneros teleomórficos *Eupenicillium* que forma cleistotecios con pseudoparénquima constituido por células de pared engrosada,

y *Talaromyces* que presenta los ascos rodeados de hifas entrelazadas formando la delgada pared del gimnotecio (Pitt & Hocking 1997). *Eupenicillium* y *Talaromyces* tienen además otros anamorfos en los géneros *Torulomyces* el primero y *Geosmithia*, *Merimbla* y *Paecilomyces* el segundo (Pitt *et al.* 2000). Los esquemas de las especies más frecuentes se encuentran en la clave del capítulo 10.

IDENTIFICACIÓN

Es importante poder diferenciar los penicilios de los otros hongos que forman esporas en conidióforos ramificados. El más parecido es el género *Paecilomyces* que tiene fiálides con el ápice muy alargado, conidios elípticos y colonias de tonos pardos pero nunca verdes. El género *Geosmithia* se originó al separar de *Penicillium* las especies que forman colonias blancas a beige, esporas casi cilíndricas y fiálides rugosas y cilindroides que se estrechan súbitamente en el ápice. Las especies de *Gliocladium* tiene fiálides con el extremo curvado y esporas mucosas que se aglomeran, mientras que los penicilios originan xerosporas en fiálides con un eje de simetría. También las especies de *Trichoderma* forman conidios mucosos que se reúnen en cabezuelas con tonos verdes. El género *Scopulariopsis* produce colonias pardas y esporas en anélides (Pitt & Hocking 1997).

PENNAME (Pitt 1991) era una clave que permitía identificar los penicilios comunes con ayuda de una computadora. Usaba las características macromorfológicas de las colonias sobre Czapek-Levadura, Malta-Glucosa y Czapek-Glicerol luego de 7 días a 25°C, y la posibilidad de crecer a 5 ó 37°C. También se necesitaba conocer las características micromorfológicas observadas en un microcultivo. PENIMAT (Bridge *et al.* 1992) era también un programa para identificar penicilios, pero solamente los terverticilados. Se requerían los datos fisiológicos como: alcalinización de los medios con ácidos orgánicos, creatina, urea o tween 80, crecimiento en presencia de nitrito, creatina o ácido acético, hidrólisis de caseína o almidón, producción de ureasa, pigmentación en Czapek con 4% de oxalato de amonio y formación de algunos metabolitos secundarios. Pero ambos programas están desactualizados pues en el afán de estabilizar la nomenclatura y mejorar la taxonomía, cada año se proponen nombres nuevos además de la reactivación de viejas denominaciones mediante la neotipificación. Pitt *et al.* (2000) dan una lista de todas las especies aceptadas en el "International Workshop on *Penicillium* and *Aspergillus*" reunido en Holanda en 1997, que contiene 50% más de especies de penicilios que las descritas por Pitt en 1980.

CULTIVOS

En los estudios taxonómicos las cepas son sembradas y observadas bajo condiciones de laboratorio normalizadas empleando medios como Czapek-Levadura, Malta-Glucosa o Czapek-Glicerol (cap. 3), sin embargo hay variabilidad aunque mínima, según la fuente del agar, agua o extracto de levadura, así como con el volumen de medio vaciado en las placas (Okuda *et al.* 2000). La aparición de los cleistotecios o gimnotecios en el término de una a tres semanas y el aspecto de los ascosporos son los principales elementos para identificar a los teleomorfos. Hay que considerar también los errores ocasionales por cambios imprevistos de la temperatura de incubación o de la composición del medio, por lo que las pruebas deben ser repetidas al menos una vez (Pitt 1980).

Las colonias de *Penicillium* son circulares si no hay impedimento alguno para su crecimiento, con un borde neto muchas veces sin fructificación y mostrando el color del micelio. Éste es generalmente blanco, pero en algunas especies es amarillo, anaranjado, púrpura o pardo claro. La superficie de la colonia madura, o sea con sus conidios formados, puede ser: aterciopelada, ligeramente algodonosa o con pequeños haces (fascículos) de conidióforos. En unos pocos casos los haces miden varios milímetros (coremios) con el extremo constituido por las cadenas de esporas (Pitt 1980).

Los medios como Malta-Sacarosa, Creatina-Sacarosa, Creatina-Diclorán y Sacarosa-Diclorán (cap. 3) permiten aislar y diferenciar penicilios, incubando a 25°C durante una semana. El agregado de 0,5% de ácido acético glacial al medio favorece el aislamiento de *P. roqueforti* (Frivvad *et al.* 1992). Algunas

especies son tolerantes a 100 µg de cicloheximida/mL de Malta-Glucosa, por ejemplo *P. glabrum*, *P. brevicompactum*, *P. griseofulvum*, *P. olsonii* y *P. aurantiogriseum*, los que crecen al 30-70% de la velocidad de crecimiento de los testigos (Seifert & Giuseppin 2000).

AMBIENTE

Los penicilios crecen sobre los alimentos preparados o sus materias primas, ya sean de origen vegetal o animal, si hallan la actividad del agua y los nutrientes necesarios. En el cuadro 5.1 se resumen datos sobre los límites de temperatura y a_w entre los que desarrollan algunas especies.

Cuadro 5.1. Temperatura y actividad del agua necesarias para el crecimiento de algunas especies de *Penicillium* (Corry 1987, Lacey 1989)

| ESPECIES | TEMPERATURA °C | | ACTIVIDAD DEL AGUA | |
|---------------------------|----------------|---------|--------------------|--------|
| | RANGO | ÓPTIMO | MÍNIMA | ÓPTIMA |
| <i>P. aurantiogriseum</i> | -2 a 32 | 23 | 0,81 - 0,83 | 0,98 |
| <i>P. brevicompactum</i> | 12 - 30 | 23 | 0,80 - 0,82 | 0,99 |
| <i>P. citrinum</i> | <5 - 37 | 26 - 30 | 0,80 - 0,84 | |
| <i>P. commune</i> | 0 - 37 | 25 | 0,85 | |
| <i>P. digitatum</i> | 6 - 37 | 20 - 25 | 0,90 | 0,99 |
| <i>P. expansum</i> | -3 a 35 | 25 - 26 | 0,82 - 0,83 | 0,99 |
| <i>P. islandicum</i> | 10 - 42 | 31 | 0,83 - 0,86 | |
| <i>P. roquefortii</i> | <5 - 35 | 25 | 0,83 | 0,99 |
| <i>P. verrucosum</i> | 0 - 31 | 20 | 0,80 | |

La baja temperatura de almacenamiento disminuye la velocidad del deterioro de las frutas infectadas por *P. expansum*, pero no lo previene. Los granos de cereales pueden contener *P. aurantiogriseum* aún antes de la cosecha, especialmente en las épocas húmedas, pero la mayor contaminación ocurre en los depósitos donde se mantienen las esporas desde una cosecha anterior (Lacey 1989). La esporulación a una baja actividad del agua permite a los hongos completar su ciclo de vida sobreviviendo a las condiciones adversas, para ser luego diseminados por insectos y ácaros. *P. aurantiogriseum* esporula a una actividad del agua de 0,86 si la temperatura es 16 ó 30°C, pero a 23°C a una actividad próxima a 0,83 (Magan & Lacey 1988).

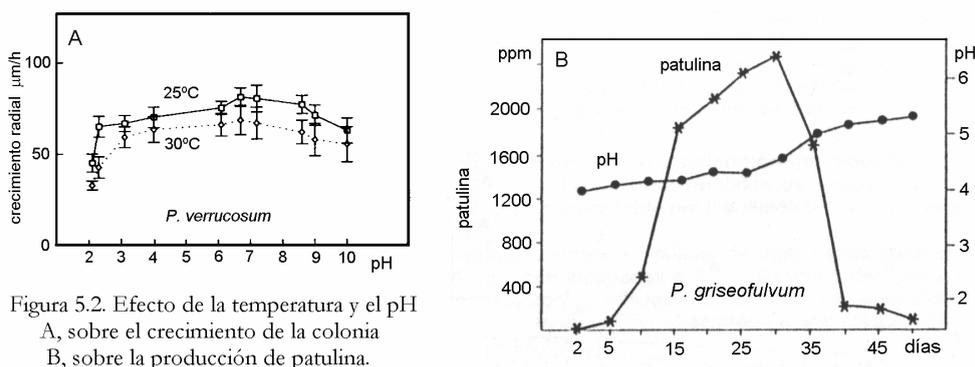


Figura 5.2. Efecto de la temperatura y el pH A, sobre el crecimiento de la colonia B, sobre la producción de patulina.

La figura 5.2 muestra el efecto del pH y la temperatura sobre el crecimiento de *P. verrucosum* (Wheeler *et al.* 1991) y del pH sobre la producción de patulina por *P. griseofulvum* (Sanchis *et al.* 1992). *P. verrucosum* y *P. crustosum* no crecen a 37°C. Los penicilios como los aspergilos no son afectados por la luz y esporulan fácilmente en la obscuridad. *P. aurantiogriseum* y especialmente *P. roqueforti* pueden tolerar

altas concentraciones de CO₂ por lo que suelen colonizar granos en silos sellados pero, la combinación de 80% CO₂ y <1% O₂ en la atmósfera del silo inhibe el desarrollo fúngico (Lacey 1989).

MICOTOXINAS

Las especies de penicilios producen varios metabolitos secundarios, entre ellos ácido ciclopiazónico, ácido penicílico, cicloclorotina, citroviridina, citrinina, griseofulvina, ocratoxina A, patulina, penitrem A (Pitt & Hocking 1997). Todas estas sustancias son originadas por los hongos para afianzarse en su ambiente natural inhibiendo a otros organismos que compiten por el sustrato. Las micotoxinas tienen diversa estructura química, su peso molecular es relativamente bajo y se difunden en el medio. Algunas existen en cantidades significativas en el ambiente natural como para influir en la salud del hombre y otros animales, pero es prácticamente imposible inactivarlas por los tratamientos térmicos que se aplican corrientemente en la elaboración y conservación de los alimentos (Samarajewa 1991).

Para conocer la capacidad de producir micotoxinas de una cepa, se la suele sembrar en arroz con agua (1+2 en peso) o en medio YES (extracto de levadura 2% y sacarosa 15%) con una incubación de 7 - 12 días a 25°C. Se puede emplear cloroformo para extraer las toxinas (Betina 1985). En el caso de ocratoxina A, ácido penicílico y citrinina, que son sustancias ácidas, se las suele reextraer por partición con una solución de bicarbonato de sodio para eliminar impurezas (Steyn *et al.* 1991).

OCRATOXINA A

Esta toxina (fig. 4.4) es formada por dos especies de penicilios: *P. verrucosum* cuya colonia sobre Sacarosa-Diclorán (cap. 3) o el mismo medio sin inhibidores, tiene el reverso pardo oscuro y forma citrinina (Pitt 1987) y *P. nordicum* con el reverso de la colonia de color crema pálido en dicho medio. Las cepas de *P. verrucosum* contaminan cereales y a veces quesos, las de *P. nordicum* están presentes sobre quesos y carnes (Larsen *et al.* 2001). Cada conidio contiene 0,4-0,7 pg de ocratoxina A (Skaug *et al.* 2001). La actividad del agua para la producción de ocratoxinas es 0,87-0,90 según la temperatura (Corry 1987).

P. verrucosum se encuentra casi exclusivamente en los cereales de las zonas templadas. Debido a que las ocratoxinas son solubles en grasa y no se excretan fácilmente, se acumulan en los depósitos lipídicos de los animales, especialmente cerdos, y pasa al hombre cuando consume al animal afectado (Pitt 1997). El proceso de malteado no degrada totalmente la toxina en la cebada muy contaminada, un tercio de la cantidad inicial de toxina persistía en un lote de cerveza preparado con malta que contenía 52 µg de ocratoxina A/kg (Baxter *et al.* 2001). La toxicidad y la técnica de análisis se describen en el capítulo 4 porque también es producida por aspergilos.

PATULINA

La patulina es una lactona tóxica (fig. 5.3) producida por *P. griseofulvum*, común en cereales y nueces, *P. expansum*, frecuente en manzanas, *P. gladioli* y *P. sclerotigenum* asociado a rizomas y bulbos, *P. claverigenum*, *P. vulpinum*, *P. concentricum*, *P. coprobium*, *P. glandicola*, *P. formosanum* y *P. carneum*. La mayoría de las especies productoras de patulina crecen a la temperatura de refrigeración (Frisvad *et al.* 2000). A lo largo de los años este compuesto recibió varios nombres según la fuente, entre otros clavacina, claviformina, expansina (Moss & Adak 1986).

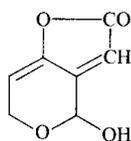


Figura 5.3. Patulina.

La patulina es estable en medio ácido y puede alcanzar altas concentraciones en manzanas (>100 mg/kg) y jugos (>250 mg/kg) (Trucksess 2001). El tratamiento con carbón activado por vapor, reduce

hasta un 70% del contenido de patulina en jugo de manzana de 12°Brix a 55°C (Leggott *et al.* 2001). La pasta de manzana pierde hasta el 80% de la toxina por centrifugación (Bissessur *et al.* 2001).

El nivel de ingestión diaria tolerable es 0,4 µg/kg de peso corporal y el límite de seguridad está en 50 µg toxina/kg de producto (Beretta *et al.* 2000). Esta toxina inhibe el desarrollo de los cultivos de *Bacillus subtilis* (Moss & Adak 1986). La mayoría de la toxina administrada a los animales de experimentación es eliminada dentro de las 48 horas por heces y orina, solamente un 2% es metabolizada y aparece asociada a los eritrocitos. Tiene una gran afinidad por los grupos sulfhidrilos inhibiendo la actividad de muchas enzimas. Es mutagénica y la dosis oral letal (DL₅₀) es 29-48 µg/kg de peso corporal en ratón y 30-55 µg/kg de peso corporal en rata (Wouter & Speijers 1989).

La patulina se investiga en mermeladas y jugos de peras y manzanas. La limpieza de los extractos de jugos de frutas por pasaje a través de un cartucho de copolímeros macroporoso y la cromatografía líquida a través de columna de fase reversa permiten recuperar casi la totalidad de toxina (Trucksess 2001).

Un método para el análisis cromatográfico en capa fina de jugos es el siguiente (AOAC 1995).

- *Extracción:* Tratar 50 mL de muestra con 50 mL de acetato de etilo en ampolla de decantación, guardar la capa superior y extraer dos veces al remanente con igual volumen del solvente. Reunir los extractos y añadir 20 g de sulfato de sodio anhidro. Decantar, lavar el sulfato de sodio con dos porciones de 25 mL de acetato de etilo y agregar al extracto. Evaporar en baño de agua hirviente hasta tener un volumen menor de 25 mL y ajustar con acetato de etilo. Diluir hasta 100 mL con benceno.
- *Purificación:* Colocar lana de vidrio en un tubo cromatográfico, agregar una mezcla de 15 g de gel de sílice 60 (0,063-0,2 mm) y benceno. Dejar decantar y drenar el solvente sin bajar el tope del adsorbente. Agregar el extracto de la muestra y drenar de igual manera, descartar el líquido. Eluir con 200 mL de benceno-acetato de etilo (75+25). Evaporar el solvente, disolver en una pequeña cantidad de cloroformo y transferir cuantitativamente a un tubo con tapa. Evaporar a sequedad y disolver el residuo en 500 µL de cloroformo.
- *Cromatografía:* En placa de gel de sílice G60 sembrar dos puntos con 5 µL del extracto y otro con 10 µL. Colocar 1, 3, 5, 7 y 10 µL del testigo y además 5 µL sobre una de las manchas con 5 µL del extracto. Hacer la corrida con tolueno-acetato de etilo-ácido fórmico (5+4+1).
- *Revelado:* Rociar con solución acuosa de clorhidrato de 3-metil-2-benzotiazolinona-hidrazona al 0,5% y secar 15 minutos a 130°C. La patulina aparece como una mancha fluorescente pardo amarillento con luz UV de 360 nm, con un R_f aproximadamente de 0,5 y una mancha visible amarillo.
- *Fluorodensitometría:* Explorar las manchas de la muestra y los testigos, con excitación a 360 nm y filtro de 420 nm. Calcular la concentración de la toxina en base a las respuestas del densitómetro, los volúmenes sembrados, la dilución de la muestra y la concentración de los testigos.
- *Registro y valoración:* Fotografiar con un filtro que elimina toda luz UV. Guardar la imagen en la computadora y analizar el área e intensidad de las manchas con el programa adecuado. Expresar el resultado como µg/kg de muestra, en base a los valores obtenidos, los volúmenes sembrados, la dilución de la muestra y la concentración del testigo.
- *Testigo:* Contiene 10 µg de patulina por mL de cloroformo. La patulina tiene la máxima absorción a 275 nm, un coeficiente de extinción de 14.600 en cloroformo-alcohol absoluto (1+1) y peso molecular de 154.
- *Confirmación:* Hacer corridas con cloroformo metanol (95+5) o cloroformo-acetona (9+1), en los cuales la patulina presenta R_f aproximado de 0,4 y 0,5 respectivamente.

CITRININA Y ÁCIDO PENICÍLICO

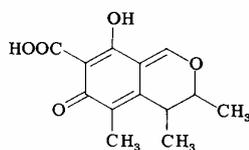


Figura 5.4. Citrinina.

La citrinina (fig. 5.4) es un metabolito de *P. citrinum*, un moho ubicuo mesófilo, y de las especies psicrotróficas *P. verrucosum* y *P. expansum*, que incorporado a la dieta de animales monogástricos puede causarles la muerte por degeneración renal. También es formado por algunos *Aspergillus* y *Monascus*. En aves de corral produce además diarrea acuosa. La dosis letal (DL_{50}) por vía oral en ratón es 110 mg/kg de peso corporal (Pitt & Leistner 1991).

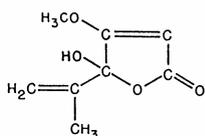


Figura 5.5. Ácido penicílico.

El ácido penicílico (fig. 5.5) es una lactona mutagénica con una dosis oral letal (DL_{50}) en ratón de 600 mg/kg de peso corporal. Las especies productoras de ácido penicílico son *P. aurantiogriseum*, común en granos, frutas, hortalizas y carnes, y *P. simplicissimum*, un mesófilo poco frecuente. Las especies productoras de ácido penicílico crecen a 5°C (Pitt & Hocking 1997). La exposición a los vapores de amoníaco exalta la fluorescencia celeste de la toxina en la placa de gel de sílice (Ciegler & Kurtzman 1970).

La citrinina se busca en arroz, extracto de tomate, mermeladas y jugos de peras y manzanas. El ácido penicílico se puede investigar en cereales, quesos y jugos de manzanas. A continuación se da un esquema para el análisis de estas micotoxinas (Steyn *et al.* 1991).

- **Extracción:** Extraer 50 mL de muestra con 250 mL de acetonitrilo + solución acuosa de cloruro de potasio al 4% y ácido sulfúrico al 2% (9+1). Filtrar.
- **Desengrasado:** Tratar 50 mL de filtrado con igual volumen de isooctano. Descartar el isooctano.
- **Partición:** Extraer con 50 mL de cloroformo y descartar la fase acuosa. Reextraer con 50 mL de NaHCO al 5% y acidificar a pH 2. Extraer el extracto acidificado por partición con igual volumen de cloroformo. Evaporar el solvente y transferir con cloroformo a un tubo con tapa, llevar a sequedad y disolver en 200 μ L de metanol.
- **Cromatografía:** Usar placas de gel de sílice G60, preparadas o rociadas con solución de ácido oxálico al 4% y activadas una hora a 110°C. Sembrar 5 y 10 μ L junto a 1, 3, 5, 7 y 10 μ L de la solución testigo. Correr con tolueno - acetato de etilo - ácido fórmico 90% (6+3+1) ó cloroformo - acetona (9+1).
- **Reveladores:** Observar con luz ultravioleta 366 nm. Exponer a los vapores de amoníaco y apreciar los cambios. Luego rociar con solución etanólica de cloruro de aluminio al 20% y calentar 5 minutos a 105°C.
- **Fluorodensitometría:** Comparar las manchas fluorescentes de la muestra con las del testigo y calcular la concentración. El límite de detección de citrinina es 3 ng/g.

OTRAS TOXINAS

El ácido ciclopiazónico (fig. 4.6) es una sustancia de *P. commune* y *P. griseofulvum* que se encuentra en diversos granos (Frisvad *et al.* 2000). *P. camemberti*, un hongo domesticado derivado de *P. commune* (Pitt *et al.* 1986), produce ácido ciclopiazónico sobre quesos luego de una incubación de 5 días a 25°C y el uso de una atmósfera modificada disminuye mucho su formación pero no la inhibe (Taniwaki *et al.* 2001). La toxicidad y la técnica de análisis se encuentran en el capítulo 4 pues también es formado por aspergilos.

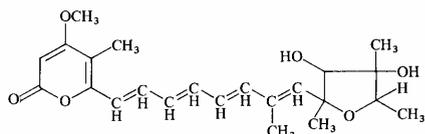


Figura 5.6. Citroviridina.

La citroviridina (fig. 5.6) es una neurotoxina consistente en un anillo lactona conjugado con un furano, cuya dosis letal (DL_{50}) por vía oral para ratón es 20 mg/kg de peso corporal. En el hombre provoca el

beriberi cardíaco agudo. Es un metabolito de *P. citreonigrum* y *Eupenicillium ochrosalmoneum*, especies poco comunes que suelen contaminar arroz y maíz respectivamente (Pitt & Hocking 1997) y *P. smithii* presente en el mantillo forestal (Seifert & Frisvad 2000).

La cicloclorotina (= islanditoxina, fig. 5.7) es un péptido cíclico que contiene cloro, hepatotóxico, producido por *P. islandicum*. La dosis oral letal (DL₅₀) en ratón es 3,6-6,5 mg/kg de peso corporal. Se encuentra en arroz y otros cereales junto a los compuestos antraquinoides eritroskirina (fig. 5.7) y luteoskirina (fig. 5.8). Esta última tiene una dosis oral letal (DL₅₀) en ratón de 220 mg/kg de peso corporal (Pitt & Leistner 1991). La roquefortina C de *P. roqueforti*, sustancia de baja toxicidad, también es formada por *P. expansum*, *P. crustosum*, *P. carneum*, *P. paneum*, *P. crustosum*, *P. chrysogenum* (Seifert & Frisvad 2000).

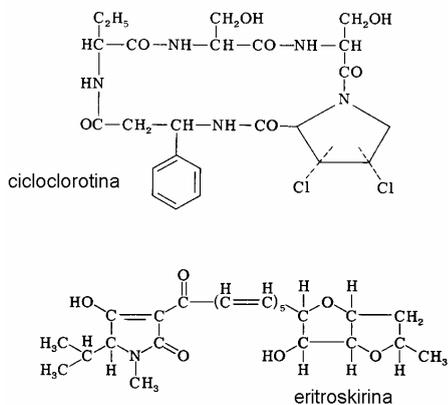


Figura 5.7. Cicloclorotina y eritroskirina.

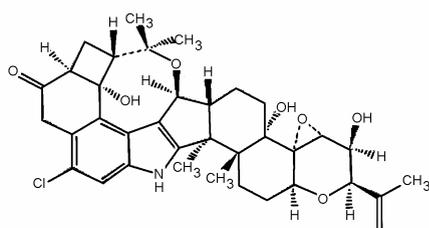
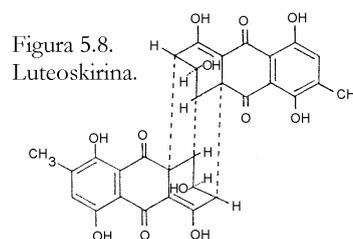


Figura 5.9. Penitrem A.

La neurotoxina penitrem A (fig. 5.9) es producida por *P. crustosum*, a niveles de actividad del agua por sobre 0,92 con un valor óptimo de 0,995. Este hongo, presente en frutas, hortalizas y carnes, crece entre -2 y 30°C, con un rango de pH de 2,2 a 10,0. La dosis oral letal (DL₅₀) en ratón es 1 mg/kg de peso corporal. Otras especies productoras son *P. glandicola* y *P. janczewskii*, este último uno de los penicilios más xerófilos hallado en granos y embutidos curados pues germina a una actividad del agua de 0,78 a 25°C (Pitt & Hocking 1997). Los verruculógeno

(fig. 4.8) y fumitremórgeno B (fig. 4.7) metabolitos de *P. simplicissimum* y *P. mononematosum* son también neurotoxinas productoras de temblores que pueden causar la muerte de los animales. Otra especie que forma verruculógeno es *P. paxilli* (Frisvad *et al.* 2000).

El ácido secalónico D (fig. 4.11) es una xantona dimérica formada por *P. oxalicum* y *P. mononematosum* (Frisvad *et al.* 2000). En el polvo de las zonas de almacenamiento de granos se ha encontrado hasta 4,5 mg de toxina/kg (Pitt & Hocking 1997). Este compuesto teratogénico es producido además por otros mohos como *Aspergillus ochraceus*, *Claviceps purpurea* y *Phoma terrestris*. La dosis oral letal (DL₅₀) en ratón es 400 mg/kg de peso corporal (Terao & Ohtsubo 1991).

La griseofulvina (figura 5.10) formada por *P. griseofulvum*, *P. aethiopicum*, *P. coprophilum*, *P. janczewskii*, *P. raistrickii*, es neurotóxica y hay sido considerada más bien un antibiótico tóxico que una micotoxina pues la dosis letal (DL₅₀) para ratas es 500 mg/kg de peso corporal (Pitt & Hocking 1997).

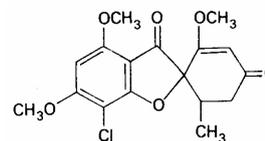


Figura 5.10. Griseofulvina

Viomeleína y xantomegnina (fig. 5.11) son pigmentos naftoquinónicos formados por *P. viridicatum* a temperaturas de refrigeración con una humedad del 20-26 % y también por *P. aurantiogriseum*, otro moho psicrotrofo. Una dieta con >450 mg/kg puede producir la muerte de ratones (Pitt & Leistner 1991). Otros mohos como *Trichophyton rubrum*, *Microsporium cookei*, *Aspergillus sulphureus* y *A. melleus* también forman estos pigmentos (Scudamore *et al.* 1986).

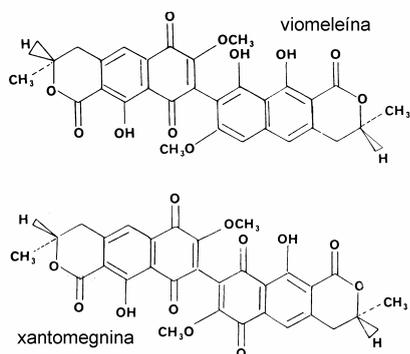


Figura 5.11. Pigmentos naftoquinónicos.

La rubratoxina B (fig. 5.12) provoca irritación gastrointestinal. La DL_{50} oral de este metabolito de *P. purpurogenum* es de 60 y 120 mg/kg de peso corporal para patitos y ratón respectivamente (Davis & Diener 1987). La rugulosina (fig. 5.13), producida por *P. rugulosum* tiene una dosis letal oral media (DL_{50}) de 44 mg/kg de peso corporal en ratas hembras (Saito *et al.* 1971).

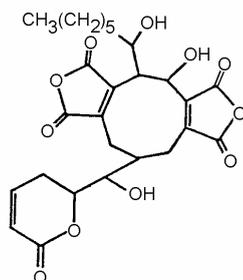


Figura 5.12. Rubratoxina B.

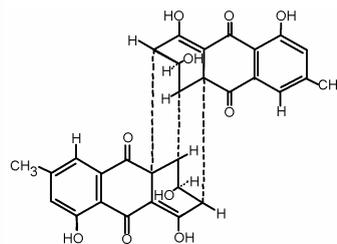


Figura 5.13. Rugulosina.

REFERENCIAS

- Baxter ED *et al.* 2001. Behavior of ochratoxin A in brewing. *Journal of the American Society of Brewing Chemists* 59: 98-100.
- Beretta B *et al.* 2000. Patulin in apple-based foods: occurrence and safety evaluation. *Food Additives and Contaminants* 17: 399-406.
- Betina V. Thin-layer chromatography of mycotoxins. *Journal of Chromatography* 334: 211 - 276, 1985
- Bissessur J *et al.* 2001. Reduction of patulin during apple juice clarification. *Journal of Food Protection* 64: 1216-1219.
- Bridge PD, Kozakiewicz Z, Paterson RRM. 1992. PENIMAT: a computer assisted identification scheme for terverticillate *Penicillium* species. *Mycological Papers* 165: 1-59.
- Bullerman LB. 1974. A screening medium and method to detect several mycotoxins in mold cultures. *Journal of Milk and Food Technology* 37: 1-13.
- Ciegler A, Kurtzman CP. Penicillic acid production by blue-eye fungi on various agricultural commodities. *Applied Microbiology* 20: 761-764.
- Corry JEL. 1987. Relationships of water activity to fungal growth. pp. 51-99 en: *Food and Beverage Mycology*. Beuchat LR, editor. Van Nostrand Reinhold, New York.
- Davis ND, Diener UL. 1987. Mycotoxins. pp. 517-570 en: *Food and Beverage Mycology*. 2º ed. Beuchat LR, editor. Van Nostrand Reinhold, Nueva York.
- El-Banna AA, Pitt JI, Leistner L. Production of mycotoxins by *Penicillium* species. *Systematic and Applied Microbiology* 10: 42-46, 1987
- Filtenborg O, Frisvad JC. A simple screening-method for toxigenic moulds in pure cultures. *Lebensm. Wiss. Technol.* 13: 128-130, 1980
- Frisvad JC. 1981. Physiological criteria and mycotoxin production as aids in identification of common asymmetric *Penicillia*. *Applied and Environmental Microbiology* 45: 68-579.
- Frisvad JC, Filtenborg O. 1983. Classification of terverticillate *penicillia* based on profiles of mycotoxins and other secondary metabolites. *Applied and Environmental Microbiology* 46: 1301-1310.
- Frisvad JC *et al.* 1992. New selective media for the detection of toxigenic fungi in cereal products, meat, and cheese. pp. 275-284 en: *Modern Methods in Food Mycology*. Samson RA *et al.*, editores. Elsevier, Amsterdam.
- Lacey J. 1989. Pre- and post-harvest ecology of fungi causing spoilage of foods and other stored products. *Journal of Applied Bacteriology, Symposium Supplement* 11S - 25S.
- Larsen TO *et al.* 2001. Biochemical characterization of ochratoxin A-producing strains of the genus *Penicillium*. *Applied and Environmental Microbiology* 67: 3630-3635.
- Leggott NL *et al.* 2001. The reduction of patulin in apple juice by three different types of activated carbon. *Food Additives and Contaminants* 18: 825-829.

- Magan N, Lacey J. 1988. Ecological determinants of mould growth in stored grain. *International Journal of Food Microbiology* 7: 245-256.
- Moss MO, Adak GK. 1986. Microorganisms and microbiological rapid methods in the bioassay of mycotoxins. pp. 141-145 en: *Spoilage and Mycotoxins of Cereals and Other Stored Products*. Flannigan B, editor. CABI Internadonal, Wallingford.
- Okuda T *et al.* 2000. Media and incubation effects on morphological characteristics of *Penicillium* and *Aspergillus*. pp. 83-99 en: *Integration of Modern Taxonomic Methods for Penicillium and Aspergillus Classification*. Samson RA, Pitt JI, editores. Harwood Academic Publishers, Australia.
- Paterson RRM, Bridge PD. 1994. *Biochemical Techniques for Filamentous Fungi*. CAB International, Wallingford, Oxon.
- Pitt JI. 1980. The genus *Penicillium* and its teleomorphic states *Eupenicillium* and *Talaromyces*. Academic Press, London.
- Pitt JI. 1987. *Penicillium viridicatum*, *Penicillium verrucosum* and the production of ochratoxin A. *Applied Environmental Microbiology* 53: 266-269.
- Pitt JI. 1991. PENNAME: a computer key to common *Penicillium* species. CSIRO Division of Food Processing, North Ryde, Australia.
- Pitt JI. 1997. Toxigenic *Penicillium* species. pp. 406-418 en: *Food Microbiology. Fundamentals and Frontiers*. Doyle MP *et al.* ASM Press, Washington.
- Pitt JI, Hocking AD. 1997. *Fungi and Food Spoilage*. 2^o ed. Blackie Academic & Professional, London.
- Pitt JI, Leistner L. 1991. Toxigenic *Penicillium* species. pp. 81-99 en: *Mycotoxins and Animal Foods*. Smith JE, Henderson RS, editores. CRC Press, Boca Ratón, Florida.
- Pitt JI *et al.* 1986. *P.commune*, *P. camemberti*, the origin of white cheese moulds and the production of cyclopiazonic acid. *Food Microbiology* 3: 363-371.
- Pitt JI *et al.* 2000. List of accepted species and their synonyms in the family Trichocomaceae. pp. 9-49 en: *Integration of Modern Taxonomic Methods for Penicillium and Aspergillus Classification*. Samson RA, Pitt JI, editores. Harwood Academic Publishers, Australia.
- Saito M *et al.* 1971. Yellowed rice toxins: luteoskyrin and related compounds, chlorine-containing compounds and citrinin. pp. 299-380 en: *Microbial Toxins. Volume 6: Fungal Toxins*. Ciegler A *et al.*, eds. Academica Press, Nueva York.
- Samarajeewa U. In situ degradation of mycotoxins by physical methods. En: Smith & Henderson, eds. *Ibid.* 1991: 785 - 796
- Scott PM, Laurence JW, Van Walbeek W. Detection of mycotoxins by thin-layer chromatography: application to screening of fungal extracts. *Applied Microbiology* 20: 839 - 842, 1970
- Seifert KA, Frisvad JC. 2000. *Penicilium* on solid wood products. pp. 285-298 en: *Integration of Modern Taxonomic Methods for Penicillium and Aspergillus Classification*. Samson RA, Pitt JI, editores. Harwood Academic Publishers, Australia.
- Seifert KA, Giuseppe S. 2000. Cycloheximide tolerance as a taxonomic character in *Penicillium*. pp. 259-263 en: *Integration of Modern Taxonomic Methods for Penicillium and Aspergillus Classification*. Samson RA, Pitt JI, editores. Harwood Academic Publishers, Australia.
- Steyn PS, Thiel PG, Trinder DW. 1991. Detection and quantification of mycotoxins by chemical analysis. pp. 165-221 en: *Mycotoxins and Animal Foods*. Smith JE, Henderson RS, editores. CRC Press, Boca Ratón, Florida.
- Skaug MA *et al.* 2001. Ochratoxin A in airborne dust and fungal conidia. *Mycopathologia* 151: 93-98.
- Ueno Y. Biochemical mode of action of mycotoxins. En: Smith & Henderson, eds. *Ibid.* 1991: 437 - 453
- Schwabe M *et al.* 1992. Comparison of the latex agglutination test and the ergosterol assay for the detection of moulds in foods and feedstuffs. *Food & Agricultural Immunology* 4: 19-25.
- Scudamore KA *et al.* 1986. Natural occurrence of fungal naphthoquinones in cereals and animal feedstuffs. *International Biodeterioration* 22 supplement: 71 - 81.
- Taniwaki MH *et al.* 2001. Growth of fungi and mycotoxin production in cheese under modified atmospheres. *International Journal of Food Microbiology* 68: 125-133.
- Webster J. 1986. *Introduction to Fungi*. 2^o ed. Cambridge University Press.
- Wheler KA *et al.* 1991. Influence of pH on the growth of some toxigenic species of *Aspergillus*, *Penicillium* and *Fusarium*. *International Journal of Food Microbiology* 12: 141-150.
- Wouters MFA, Speijers GJA. 1989. Patulina. WHO Food Additives Series 35.