

DETECCIÓN DE PATULINA EN MANZANA 'GOLDEN DELICIOUS' Y EN PRODUCTOS DERIVADOS ELABORADOS INDUSTRIAL Y ARTESANALMENTE COMERCIALIZADOS EN MÉXICO

Hermosillo Moreno G., Quezada-Viay M. Y.; Moreno-Lara J., Pascual Bustamante, S., Trejo Márquez M.*

Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Laboratorio de Postcosecha de Productos Vegetales, Centro de Asimilación Tecnológica, Jiménez Cantú s/n, San Juan Atlamica, C.P. 54729, Cuautitlán Izcalli, Edo. De México, México. *Correo electrónico: andreatrejo@unam.mx

RESUMEN

El objetivo del estudio fue la detección de Patulina en manzana 'Golden Delicious' comercializada en la central de abastos de la Ciudad de México, las bodegas de Atizapán y el mercado del Carmen de Cuautitlán Izcalli, edo. de México; así como en productos derivados de manzana elaborados industrial y artesanalmente. Se hizo un muestreo de las manzanas de acuerdo a la procedencia y tipo de venta: a granel o en caja y se almacenaron en cámara húmeda bajo refrigeración (5°C) durante 60 días. La presencia de *Penicillium spp* se realizó mediante su siembra en agar papa dextrosa y la detección de Patulina por cromatografía en capa fina y por el método espectrofotométrico. Estadísticamente se observó un efecto significativo debido a la procedencia y el tipo de venta, donde la mayor frecuencia de *Penicillium spp* fue a granel y en la central de la Ciudad de México y en el mercado del Carmen, misma tendencia que se dió en la presencia de Patulina en lo que respecta al tipo de venta. Las concentraciones determinados por cromatografía y por el método espectrofotométrico, superaron los límites permitidos por la FDA y Codex Alimentarius de 50 µg/kg. Los productos comerciales y artesanales no presentaron Patulina.

ABSTRACT

The aim of this study was the detection of Patulin in 'Golden Delicious' apples from the central supply of Mexico City, Atizapan's grocery store and Carmen's market in Cuautitlán Izcalli, Mexico State and for commercial and artisan apple sub products. Apples' sampling were done according to the origin and type of sale: in bulk or box and products'. The apples were placed in moist chamber under refrigeration (5°C) during 60 days. *Penicillium* presence was determined by seeding into potato dextrose agar and Patulin detection was determined by thin-layer chromatography and spectrophotometric method.

Statistically, there were a significant effect, due to the source and type of sale, where the highest frequency of *Penicillium spp* were presented in bulk in the central supply of Mexico City and in Carmen's market The same effect occurred in the presence of Patulin just in the type of sale. The concentrations exceeded the limits allowed by the FDA and Codex Alimentarius which is 50 ug/kg. Commercial and artisan products did not present Patulin.

Palabras claves: Micotoxina, Patulina, *Penicillium*

Key words: micotoxin, Patulin, *Penicillium*

Área: Frutas y Hortalizas

INTRODUCCIÓN

La manzana es una de las especies de fruta dulce de mayor difusión a escala mundial. En México la producción de manzana más alta particularmente es en Chihuahua el cual aporta más de las dos terceras partes de la producción. Las variedades que mayormente destacan son: 'Golden Delicious', 'Red Delicious' y 'Rome Beauty' (SAGARPA-UNIFRUT, 2013).

La manzana 'Golden Delicious' es un fruto con piel amarillenta y con lenticelas aparentes de color pardo, es una fuente discreta de vitamina C, es rica en fibra y dentro de su contenido mineral sobresale el potasio; sin embargo en la manzana es probable que se generen ciertas fisiopatías y enfermedades. Entre éstas se encuentra la podredumbre de almacén provocada por *Penicillium expansum*, cuyas manifestaciones externas típicas son lesiones ligeramente deprimidas cuyo tejido podrido tiene una textura aguanosa y de coloración clara. El patógeno infecta a través de heridas de la fruta durante la cosecha o por el contacto directo de frutas contaminadas con frutas sanas. Cuando la fruta se deteriora, favorece la producción de la micotoxina Patulina (Anderson, 2005), la cual se produce bajo condiciones sub-óptimas y de estrés, entre 0 y 25 °C, siendo el óptimo a 25 °C (Soriano del Castillo, 2007), por lo que el hongo para sobrevivir, necesita utilizar los metabolitos resultantes (Valle, 2010). Los efectos ocasionados por Patulina pueden ser: edemas cerebral y pulmonar con procesos hemorrágicos y daños capilares en el hígado (Soriano *et al.*, 2002).

El hongo productor de la micotoxina puede desarrollarse en el interior de la manzana, no siendo evidente su presencia a simple vista, por lo que se ha reportado la contaminación con Patulina en jugos y papillas de manzana elaboradas con frutos contaminados (Anguiano, 2012). La Patulina pertenece a la corta lista de micotoxinas reguladas en varios países. En México no existe una reglamentación sobre la incidencia de esta toxina en el alimento.

Debido a que la Patulina demuestra ser un peligro a la salud, el objetivo del presente trabajo es la identificación de la presencia de *Penicillium* como productor de Patulina y determinar su contenido en manzana 'Golden Delicious' comercializada en la central de abasto de la Ciudad de México, bodegas de Atizapán y mercado del Carmen de Cuautitlán Izcalli y en sus productos derivados elaborados industrial y artesanalmente.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestreo de Material Biológico. Se utilizaron manzanas de la variedad 'Golden Delicious' seleccionadas al azar, adquiridas en la central de abastos de la Ciudad de México, bodegas de Atizapán y el mercado del Carmen de Cuautitlán Izcalli, estado de México basándose en la Directiva Europea DIRECTIVA 2003/78/CE por la que se fijan los métodos de toma de muestras y de análisis para el control oficial del contenido de Patulina en los productos alimenticios. Los frutos fueron

almacenados por 8 semanas en cámara húmeda en 12 lotes comprendido por 5 unidades de manzana cada uno y clasificados de acuerdo al tipo de venta: en caja o a granel siendo un total de 120 unidades por centro de distribución, bajo condiciones de refrigeración (5°C) y fueron evaluados visualmente cada tercer día. Los productos a base de manzana evaluados fueron: jugo, mermelada, deshidratados, sidra y refresco de manzana.

Aislamiento y purificación de *Penicillium*. Una vez que se observó crecimiento micelar o presencia de esporas del hongo sobre la superficie de la manzana, se tomó una muestra y se sembró por medio de punción en una caja Petri en agar papa dextrosa. Posteriormente se dejó incubar a 25 °C por 5 días. Para obtener la muestra purificada, se aisló nuevamente bajo las mismas condiciones.

Determinación de Patulina por TLC. La extracción de la micotoxina se realizó con acetato de etilo y posteriormente se determinó por el método de cromatografía en capa fina (AOAC Official Method 974.18). Para el revelado de las placas cromatográficas se realizó por aspersión con 3-metil-2-benzotiazolinona hidrozona (MBTH) y llevadas a la luz UV, observándose la presencia de Patulina como una mancha amarillo marrón, al mismo nivel del estándar (Sigma) con un Rf: 0.5 (Soriano, 2002)

Determinación de Patulina por espectrofotometría. Se realizó una curva estándar a diferentes concentraciones (0-100 µg/mL) del patrón manejando una longitud de onda de 300 nm, posteriormente se hizo la lectura de las muestras y se determinó su concentración bajo la ecuación matemática que define a una línea recta.

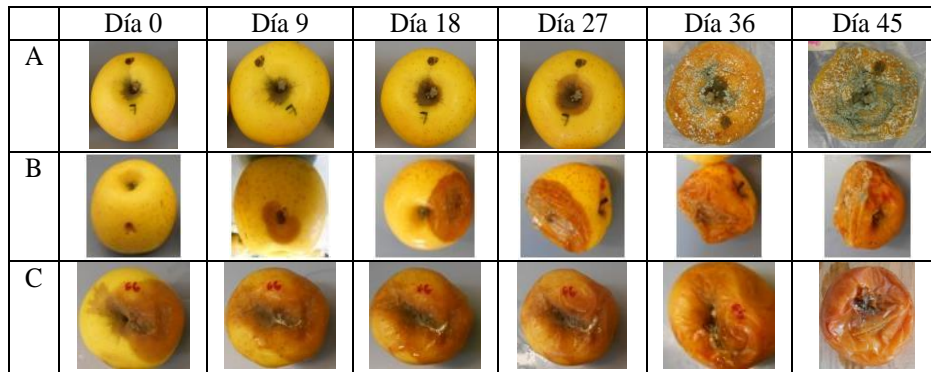
Tratamiento estadístico. Se aplicó un análisis de varianza (ANOVA) y comparación de medias aplicando un nivel de significancia del 5%.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los síntomas de pudrición por *Penicillium spp*, para la central de abastos de la Ciudad de México se presentaron tras haber transcurido alrededor de 27 días y, en su gran mayoría, tras haber pasado 56 días de almacenamiento. Por otra parte, en el mercado del Carmen, las manzanas presentaron daño superficial desde el primer día y 9 días posteriores al almacenamiento se observaron los síntomas de pudrición, el cual fue incrementando progresivamente hasta invadir totalmente la manzana. Por el contrario, las manzanas de Atizapan mostraron síntomas de pudrición desde su llegada. La tabla I muestra imágenes sobre el progreso de los síntomas para cada centro de distribución. Los síntomas de pudrición, se presentaron por la contaminación con *Penicillium* en el fruto y su posterior introducción a la pulpa. El tiempo en que llega a invadirse por el hongo se debe al libre acceso de éste sobre la fruta por aberturas morfológicas o heridas superficiales. Por lo tanto, de acuerdo al tiempo en que se presentaron los síntomas, se puede observar que las manzanas de las Bodegas de Atizapán y del mercado del Carmen presentaron maltratos superficiales acelerándose los síntomas de pudrición a comparación de la central

de la Ciudad de México cuya invasión fue directamente en la cavidad superior de la manzana.

Tabla I. Pudrición de manzanas ‘Golden Delicious’ durante el almacenamiento en refrigeración: A) Manzanas correspondientes a la central de Abastos de la Ciudad de México B) Manzanas del mercado del Carmen y C) Manzanas de Bodegas de Atizapán



La figura 1A ilustra las manzanas ‘Golden Delicious’ que presentaron *Penicillium spp* en la superficie para cada centro de distribución frutícola. El análisis estadístico indicó una diferencia significativa ($p \leq 0.05$) en la procedencia y tipo de venta. Donde las centros de distribución frutícola que presentaron mayor presencia de *Penicillium* fueron la central de abastos de México con 47 manzanas aisladas (31 a granel y 16 en caja), y en el mercado del Carmen con 43 aislados (24 a granel y 19 en caja), los cuales no registraron diferencia significativa entre ambos; por el contrario el valor mínimo de presencia de *Penicillium* fue en las bodegas de Atizapán con 15 aislados (8 a granel y 7 en caja), presentando una diferencia significativa ($p \leq 0.05$) con respecto a los dos anteriores. Así mismo, el tipo de venta a granel tuvo mayor presencia de *Penicillium*. Dichos resultados se le atribuyen a la constante exposición de los frutos a una mala manipulación y/o almacenamiento inadecuado. La figura 1B muestra el número de manzanas ‘Golden Delicious’ que presentaron Patulina para cada centro de distribución frutícola. El análisis estadístico indicó que no hay una diferencia significativa ($p \geq 0.05$) en la procedencia, pero sí por en el tipo de venta. El 8.8% de las muestras se le detectó Patulina y el resto (91%) no la presentó. Los centros con mayor presencia de Patulina fueron la central de abastos de la Ciudad de México (CAM) y Mercado del Carmen (MCA), no obstante las Bodegas de Atizapán (CAT), presentaron menor presencia de Patulina. Así mismo, el tipo de venta a granel tuvo mayor presencia de Patulina a excepción de las Bodegas de Atizapán donde no hubo diferencia significativa ($p \geq 0.05$) en el tipo de venta como factor que afecte la presencia de la micotoxina.

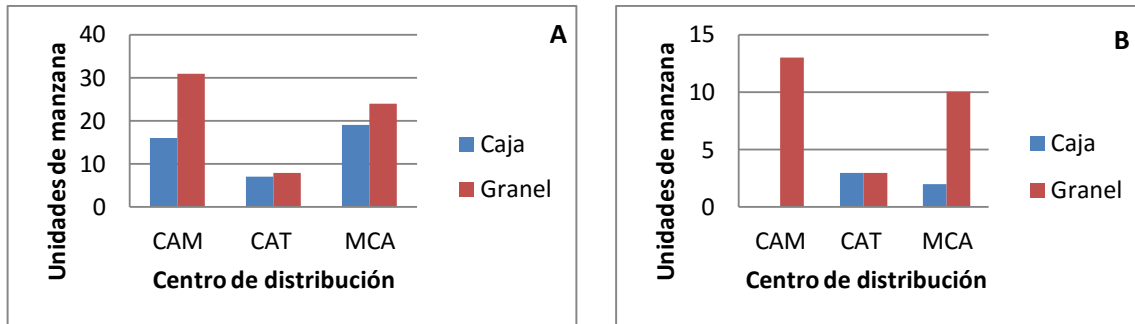


Figura 5. Presencia de *Penicillium* spp. y Patulina de manzana 'Golden Delicious'. (A). Unidades de manzana con *Penicillium* de acuerdo al tipo de venta y procedencia. (B). Unidades de manzana con Patulina de acuerdo al tipo de venta y procedencia. Dónde: CAM=Central de Abastos de la Ciudad de México; CAT=Bodegas de Atizapán; MCA: Mercado del Carmen.

En lo que respecta a las concentraciones de Patulina de las muestras de manzanas que presentaron pudrición, los valores obtenidos por cromatografía estuvieron en un rango de 1 500 a 30000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ y de 8000 a 79000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ por espectrofotometría. Como se puede observar, los datos reportados rebasan los límites máximos tolerables declarados por la FDA y Codex Alimentarius de 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de Patulina en jugo de manzana (Anguiano, 2012). Entre las frutas y hortalizas contaminadas, solamente las manzanas pueden presentar concentraciones muy elevadas de Patulina y su concentración está en función del grado de pudrición (Codex Alimentarius, 1999).

En lo referente a la cantidad de Patulina producida, de acuerdo al tipo de venta y a la procedencia, no sería válido relacionarlo únicamente con dichos factores, ya que la cantidad de Patulina está relacionada la calidad del fruto, así como la especie de *Penicillium* que la produjo. Finalmente, no se encontró en los productos comerciales y artesanales de manzana, presencia de hongos ni Patulina, siendo estos productos inocuos para el consumidor.

CONCLUSIONES

El tiempo en que se presentaron los síntomas de pudrición para los centros de distribución estuvo afectado por la procedencia y la calidad inicial de la manzana. Además el tipo de venta a granel influyó tanto en la presencia de *Penicillium* como en la de Patulina. Por lo tanto, se puede concluir que la principal causa para que se presente el hongo y la micotoxina es la manipulación después de la cosecha. La cantidad de Patulina producida tras 60 días de almacenamiento fueron cantidades que superan los límites permitidos, presentando un problema de inocuidad para el consumidor. Los productos comerciales y artesanales, en cambio, no presentaron presencia de *Penicillium* ni Patulina.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece el apoyo técnico a Erika Ivonne Pérez Ángel y Jorge Luis Chávez Alfaro.

REFERENCIAS

Anderson, P.M. (2005). Enfermedades de origen alimentario. España: Díaz de Santos.

Anguiano, C. J. (2012). Contaminación por hongos filamentosos en manzana: amenaza para la salud y la economía. *Cienciaviva*. No.31 Julio-Septiembre 2012.

Comisión del Codex Alimentarius (1999). Programa conjunto FAO/OMS sobre normas alimentarias. Documento de síntesis relativo a la Patulina.

Directiva 2003/78/CE de la comisión. Por la que se fijan los métodos de toma de muestras y de análisis para el control oficial de contenido de patulina en los productos alimenticios. Diario oficial de la Unión Europea.

Official Methods of Analysis. (2005). AOAC 974.18 O Patulin in Apple Juice. Thin-Layer Chromatographic Method. En: Chapter 49 (Natural Toxins), section 49.7.01.

SAGARPA-UNIFRUT (2013). Estudio de infraestructura logística para la manzana y durazno del Estado de Chihuahua. Fecha de consulta: 7 de Septiembre de 2013. Disponible en: www.sagarpa.org.mx.

Soriano del Castillo, J. M. (2007). Micotoxinas en alimentos. Díaz de Santos: España.

Soriano, M., Bejar, V., & Bonilla, P. (2002). Frecuencia de hongos anemófilos productores de micotoxinas en algunos mercados de Lima, detección de Patulina en manzanas en descomposición. *Ciencia e Investigación*, 2, 36-45.

Valle, A. F. (2010). Evaluación del peligro potencial y real de la presencia de ocratoxina A, tricotecenos B y patulina en trigo y manzana mediante técnicas microbiológicas y cromatográficas. Tesis doctoral. España: Universidad de Valencia.