

# **Análisis de hongos filamentosos presentes en plantas medicinales utilizadas en la farmacopea paraguaya**

*Reyes, M.<sup>1</sup>; Moura Mendes Arrúa, J.<sup>1,2</sup>; Casal, C. C.<sup>2</sup>; Fernández Ríos, D.<sup>1</sup>; Martínez, L.<sup>1</sup>; Cabrera, M.<sup>1</sup>; Arrúa Alvarenga, P. D.<sup>2</sup>; Arrua Alvarenga, A. A.<sup>1,2</sup>*

<sup>1</sup>Departamento de Biotecnología, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (FACEN), Universidad Nacional de Asunción (UNA)

<sup>2</sup>Laboratorio de Biotecnología, Centro Multidisciplinario de Investigaciones Tecnológicas (CEMIT), Dirección General de Investigación Científica y Tecnológica (DGICT), Universidad Nacional de Asunción (UNA)

E-mail del autor: arrua@facen.una.py

---

**Análisis de hongos filamentosos presentes en plantas medicinales utilizadas en la farmacopea paraguaya.** En Paraguay, el consumo de plantas medicinales en forma de infusión o como parte del mate o tereré es muy difundido. Durante su producción y procesamiento, estos productos se ven expuestos al ataque de microorganismos, entre ellos los hongos filamentosos. Con el objetivo de determinar la incidencia de hongos filamentosos, se sembraron en medio de cultivo 11 plantas medicinales. Los hongos presentes fueron identificados por microscopía mediante el uso de claves taxonómicas. Se hallaron 15 géneros de hongos, siendo *Rhizopus* y *Aspergillus* Sección *Flavi* los más importantes. Este trabajo pretende contribuir a la base científica de futuras regulaciones que permitan proteger a los consumidores mediante el aseguramiento de la calidad del producto final.

**Palabras clave:** inocuidad alimentaria, consumo masivo, plantas medicinales

**Analysis of filamentous fungi present in medicinal plants used in the Paraguayan pharmacopeia.** In Paraguay, consumption of medicinal herbs as infusion is widespread. During production and processing, these products are exposed to attack by microorganisms, including filamentous fungi. In order to determine the incidence of filamentous fungi, 12 medicinal herbs were placed in a culture medium. The fungi were identified by microscopy through taxonomic keys. 15 genera of fungi were found, being *Rhizopus* and *Aspergillus* Section *Flavi* the principal presente. The focus of this experiment is to contribute to the scientific basis of future regulations designed to protect consumers by ensuring the quality of the final product.

**Keywords:** food safety, consumer products, medicinal herbs

---

## **INTRODUCCIÓN**

El consumo de plantas medicinales es una de las tradiciones más arraigadas en nuestro país, ya sea acompañando al mate, al tereré o en forma de infusión, y forma parte de la cultura popular (Jerke, Horianski y Salvatierra 2009; Jerke, Salvatierra y Bargardi 2009; Sánchez, González y Lurá 2006).

La calidad y el cuidado durante el procesamiento de estas plantas son fundamentales para el mantenimiento de la inocuidad y la características organolépticas del producto final (Jerke *et al.* 2011).

Durante el cultivo y procesamiento de las plantas medicinales, éstas se ven expuestas al ataque de microorganismos. Entre ellos se encuentran los hongos

*Steviana*, Vol. 7, 2015, pp. 89 – 95.

Original recibido el 26 de junio de 2015.

Aceptado el 25 de noviembre de 2015.

filamentosos y en particular los potencialmente productores de micotoxinas, que mes llamados micotoxinos, y que en casos extremos pueden llevar a la muerte (Arrúa Alvarenga *et al.* 2013; Arrúa Alvarenga, Moura Mendes, y Fernández Ríos 2013).

Las aflatoxinas, producidas por hongos del género *Aspergillus* Sección *Flavi*, está categorizada por el IARC (*International Agency for Research on Cancer*) dentro del Grupo 1, carcinogénicas para humanos. Poseen además efectos mutagénicos, actúan sobre el metabolismo, sistema respiratorio e inmune (IARC 1993).

Las ocratoxinas, son producidas por hongos de los géneros *Aspergillus* Sección *Nigri* y *Penicillium*. El IARC, las categoriza como Grupo 2B, posible carcinógeno en humanos. Posen efectos nefrotóxicos, inmunotóxicos y neurotóxicos (Castegnaro y Wild 1995; IARC 1993).

En cuanto a las toxinas producidas por *Fusarium*, las mismas poseen diferentes efectos en animales y humanos. Posen efectos sobre el sistema inmune, gastrointestinal y reproductivo. No hay evidencia que pruebe su acción cancerígena (IARC 1993).

Existen trabajos previos a nivel internacional que han demostrado la presencia de hongos filamentosos en hierbas medicinales. Sánchez, González y Lurá (2006) reportaron la presencia de *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp., *Mucor* spp., *Penicillium* spp. entre otros, en productos medicinales a base de diferentes hierbas incluyendo malva, poleo, ruda, estigma de maíz, boldo, menta y manzanilla.

En 2007 Romagnoli *et al.* estudiaron el contenido de aflatoxinas en 27 especies

son metabolitos secundarios tóxicos a los seres humanos capaces de causar síndrome aromáticas, 28 especies y 48 preparados de infusiones colectadas durante cinco años en centros de venta en Italia. Ninguna de las muestras de hierbas medicinales presentó contaminación con aflatoxinas, incluso las provenientes de países tropicales.

Sin embargo en un trabajo posterior, realizado entre 2011 y 2013 en Korea (Lee *et al.* 2014), investigando 729 muestras de 19 tipos de plantas medicinales, encontraron 65 muestras contaminadas con AFB1, 24 con AFB2, 15 con AFG1 y 20 con AFG2, en rangos de contenido variables.

En 2009 Jerke, Salvatierra y Bargardi determinaron la presencia de cuatro especies de *Aspergillus* en te negro (*Camelia sinensis*).

En Paraguay se ha reportado la presencia de hongos filamentosos potencialmente productores de micotoxinas en yerba mate compuesta, siendo los principales géneros presentes *Aspergillus* y *Fusarium* (Pérez Paiva *et al.* 2013).

Hasta el momento no se han realizado estudios de la microbiota presente en plantas medicinales que se comercializan en la Zona de Gran Asunción.

El presente trabajo se realizó con el objetivo de analizar las especies de hongos filamentosos presentes, especialmente de aquellos que son productores de micotoxinas.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### ***Colecta y procesamiento de muestras***

Se colectaron muestras comerciales en cincoclocales de venta de alimentos del área

metropolitana de Asunción muestras empaquetadas comerciales de cinco diferentes marcas comerciales de diferentes lotes de Tilo, *Justicia pectoralis*, Menta'i, *Mentha x piperita* L., Cedrón, *Aloysia triphylla* (Gris.) Mold., Burrito, *Aloysia polystachya*, Katuava, *Psidium cinereum*, *Equisetum giganteum* L. (Cola de Caballo), *Melissa officinalis* L. (Toronjil), Laurel, *Laurus* sp., *Lippia alba* (Mill.) N.E.Br. (Salvia), *Moringa oleífera* (Moringa) y Ñangapiry, *Eugenia* sp. (Pin *et al.* 2009); según especificaciones de los fabricantes. Las muestras fueron transportadas al laboratorio manteniendo condiciones de almacenamiento adecuadas que aseguren su integridad (Sánchez, González y Lurá 2006).

La determinación de la carga microbiana se llevó a cabo mediante recuentos microbiológicos en superficie. Los resultados se expresaron como porcentaje de incidencia de hongos filamentosos presentes en las diferentes hierbas estudiadas.

Para su procesamiento, las muestras desinfectadas con hipoclorito de sodio al 6% y enjuagadas tres veces en agua destilada esterilizada. Posteriormente fueron secadas y sembradas, diez muestras por placa, por triplicado, en medio Papa Dextrosa Agar (PDA). Las muestras se incubaron a 27 °C por siete días (Arrúa Alvarenga *et al.* 2014).

#### **Identificación de la microbiota presente**

Al término de los siete días, se observaron las características macro y micromorfológicas de las colonias y las mismas se identificaron por medio de claves taxonómicas (Barnett y Hunter 1998).

Una vez efectuados los recuentos de los hongos filamentosos, se procedió a aislar cada una de las colonias macroscópicamente diferentes y se procedió a la re confirmación de los géneros identificados mediante el uso de claves taxonómicas (Arrúa Alvarenga *et al.* 2014; Barnett y Hunter 1998). No se identificaron hongos levaduriformes. Todas las cepas se conservaron a 4 °C.

#### **Análisis estadístico**

La incidencia fue calculada a través del estudio de la frecuencia absoluta. Se realizó el análisis de varianza utilizando el Test LSD Fisher con 95% de intervalo de confianza (Marasas *et al.* 1988).

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

El consumo de hierbas medicinales es acompañando a bebidas tradicionales como el tereré o el mate, es parte de la vida cotidiana en Paraguay. En este trabajo se analizaron muestras de hierbas medicinales fraccionadas y envasadas por diferentes empresas habilitadas por la autoridad competente (Sánchez, González y Lurá 2006). Las hierbas presentes en cada producto se consideraron según las indicaciones de los fabricantes.

En los rótulos de las muestras analizadas no se encontraron indicaciones respecto a su acción farmacológica ni contraindicaciones respecto a su uso, número de lote y fecha de vencimiento.

En las especies estudiadas se identificaron 16 géneros de hongos y en incidencias variables en las diferentes especies de plantas medicinales estudiadas.

En Moringa, A. Sección *Flavi*, *Bipolaris* sp., *Alternaria* sp., *Curvularia* sp. (Fig). En Tilo se identificaron

*Trichoderma* sp. Y *Aspergillus* Sección *Flavi*. En Menta'i, *Rhizopus* sp.; en Burrito, *Rhizopus* sp. Y *Fusarium* sp. En Cedrón Paraguay, *Cladosporium* sp. (Fig) y *Rhizopus* sp. En Katuava, *Fusarium* sp. (Fig. 6), *Cladosporium* sp., *Penicillium* sp., *Mucor* sp., A. Sección *Nigri* (Fig. 7) y *Trichoderma* sp. En Cola de Caballo, *Rhizopus* sp., A. Sección *Flavi*, *Thielaviopsis* sp., *Penicillium* sp., *Mucor* sp., *Nigrospora* sp. (Fig. 8) y A. Sección *Nigri*. En Toronjil, *Trichoderma* sp., *Fusarium* sp., *Rhizopus* sp., *Mucor* sp. y A. Sección *Flavi*. En Salvia, *Cladosporium* sp., *Phoma* sp. y A. Sección *Flavi*. En Laurel, *Mucor* sp., *Rhizopus* sp. Y A. Sección *Flavi*. En Ñangapiry, A. Sección *Flavi*, A. Sección *Nigri*, *Cladosporium* sp., *Penicillium* sp. y *Coryneum* sp.

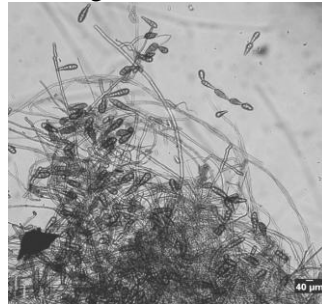
Los hongos identificados en las hierbas medicinales comerciales estudiadas, coinciden con los reportados en diferentes estudios con otras hierbas medicinales alrededor de mundo.

En 2006 Agusta, Ohashi y Shibuya mediante el uso de marcadores moleculares, determinaron la presencia de *Fusarium* sp. y *Penicillium* sp., en *Camelia sinensis*.

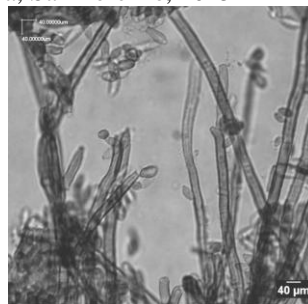
En 2009 Jerke, Horianski y Salvatierra determinaron la presencia de *Aspergillus* sp., *Fusarium* sp. y *Penicillium* sp., en muestras de yerba mate elaborada en contenidos variables. También en 2009 Jerke, Salvatierra y Bargardi determinaron la presencia de cuatro especies de *Aspergillus* en te negro (*Camelia sinensis*).

En cuanto a los resultados obtenidos en este estudio, se observaron diferencias significativas en cuanto a la incidencia de los hongos presentes en las muestras estudiadas (Tabla 2). El hongo más frecuentemente aislado fue *Rhizopus* sp En

la República Argentina (Sánchez, González y Lurá 2006) se estudiaron plantas medicinales incluyendo malva, poleo, ruda, estigma de maíz, boldo, menta y manzanilla. Los mencionados autores identificaron hongos de los géneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Alternaria*, *Curvularia* y *Cladosporium* en incidencias variables. Los géneros citados coinciden con los obtenidos en la presente investigación.



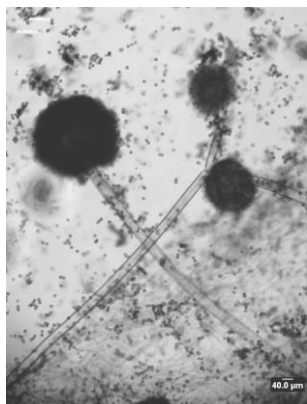
**Fig. 1:** *Alternaria* sp., aislada plantas medicinales utilizadas en la farmacopea paraguaya, San Lorenzo, 2015



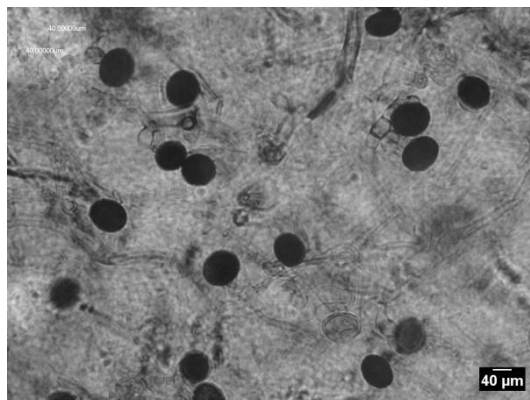
**Fig. 2:** *Cladosporium* sp., aislado plantas medicinales utilizadas en la farmacopea paraguaya, San Lorenzo, 2015



**Fig. 6:** *Fusarium* sp., aislado plantas medicinales utilizadas en la farmacopea paraguaya, San Lorenzo, 2015



**Fig. 7:** *Aspergillus* Sección Nigri, aislado plantas medicinales utilizadas en la farmacopea paraguaya, San Lorenzo, 2015



**Fig. 8:** *Nigrospora* sp., aislada plantas medicinales utilizadas en la farmacopea paraguaya, San Lorenzo, 2015

**Tabla 2.** Incidencia de hongos filamentosos en plantas medicinales. San Lorenzo, Paraguay, 2015

Hongo	Media				
<i>Thielaviopsis</i> sp.	0,28	A			
<i>Nigrospora</i> sp.	0,56	A			
<i>Bipolaris</i> sp.	0,56	A			
<i>Trichoderma</i> sp.	0,83	A	B		
<i>Mucor</i> sp.	1,11	A	B		
<i>Penicillium</i> sp.	1,39	A	B		
<i>Coryneum</i> sp.	1,39	A	B		
<i>Fusarium</i> sp.	2,22	A	B		
<i>Alternaria</i> sp.	2,22	A	B		
<i>Phoma</i> sp.	2,22	A	B		
<i>Curvularia</i> sp.	3,61	A	B	C	
<i>Cladosporium</i> sp.	4,72		B	C	
<i>Aspergillus</i> Sección Nigri	7,50			C	D
<i>Aspergillus</i> Sección Flavi	10,83				D E
<i>Rhizopus</i> sp.	12,22				E

Medias con una letra en común no son significativamente diferentes

En Paraguay no se dispone de reportes de hongos filamentosos en plantas medicinales, pero en yerba mate compuesta, han sido identificados *Aspergillus niger*, *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus flavus*, *Fusarium* sp. y *Pullularia* sp. Como se ha mencionado anteriormente en trabajos similares realizados en la Región, en 2009, Jerke,

Horianski, y Salvatierra determinaron la presencia de *Fusarium* sp., *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., entre otros, en muestras de yerba mate elaborada. El mismo grupo de investigadores, también en 2009, detectó cuatro especies de *Aspergillus* en te negro (*Camelia sinensis*). En 2006, Sanchez et al., determinaron la presencia de 7 diferentes especies de *Aspergillus* en 7

especies medicinales adquiridas en farmacias en la República Argentina.

Cabe destacar que los géneros *Aspergillus*, *Fusarium* y *Penicillium* han sido reportados como importantes hongos filamentosos potencialmente productores de micotoxinas (Soriano 2007).

Cuando se consumen plantas medicinales, los microorganismos patógenos pueden ingresar al organismo por vía digestiva, pero es importante destacar que las esporas de los hongos pueden hacerlo a través de las vías respiratorias y ocasionar alergias y enfermedades infecciosas, especialmente en personas inmunocomprometidas (Sánchez, González y Lurá 2006). Sobre todo en el caso de los hongos micotoxigénicos, su presencia debe alertar sobre la posibilidad de hallar micotoxinas en las plantas medicinales. Es importante determinar a futuro la capacidad micotoxigénica de los aislados.

Se han reportado como importantes hongos alérgenos a *Alternaria*, *Cladosporium* y *Aspergillus*, siendo además mencionados como agudizadores del asma (Sánchez, González y Lurá 2006; Piecková y Jesenská 1998).

En Paraguay actualmente no se cuenta con límites máximos para microorganismos contaminantes en plantas medicinales, por tanto es necesario el establecimiento de leyes estrictas que controlen la calidad de los productos comercializados.

## CONCLUSIONES

La contaminación por hongos detectada podría implicar un riesgo para la salud humana, sobre todo en el caso de los hongos alérgenos y productores de metabolitos tóxicos, por tanto es

recomendable realizar estudios sobre determinaciones de cargas microbianas de hongos, especialmente los productores de toxinas y de toxinas presentes en estos productos.

Se ha evidenciado, gracias a los resultados obtenidos, que existen deficiencias en la calidad higiénico-sanitaria de las muestras analizadas y en el control de las autoridades responsables sobre estos productos. De esta manera queda establecida una base científica para investigaciones a futuro sobre el tema.

Se debe instar a las autoridades responsables de estos productos a establecer controles de calidad y sanitarios para asegurar la calidad e inocuidad de los productos.

## AGRADECIMIENTOS

Al Instituto de Biotecnología Agrícola, INBIO, a la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, FACEN, al Centro Multidisciplinario de Investigaciones Tecnológicas, CEMIT, por su apoyo para la realización de esta investigación.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agusta, A., K. Ohashi, y H. Shibuya. 2006. Composition of the Endophytic Filamentous Fungi Isolated from the Tea Plant *Camellia Sinensis*. *Journal of Natural Medicines* 60 (3): 268-72.
- Arrúa Alvarenga, A. A., C. Casal Martínez, D. Fernández Ríos, y J. Moura Mendes. 2013. *Aspergillus* y Micotoxinas. *Revista Médica* 2: 141-64.
- Arrúa Alvarenga, A. A., J. Moura Mendes, y D. Fernández Ríos. 2013. Aflatoxins, a Real Risk. *Reportes Científicos de la FACEN* 4 (1): 68-81.

## *Reyes, M. et al. Hongos filamentosos en plantas medicinales*

- Arrúa Alvarenga, A. A., J. Moura Mendes, C. Martínez Cazal, C. Dujak Riquelme, D. Fernández Ríos, R. M. Oviedo de Cristaldo, y M. M. Kohli. 2014. Incidencia de hongos del complejo *Fusarium graminearum* y acumulación de Deoxinivalenol en líneas de trigo. *Investigación Agraria* 16 (1): 43-48.
- Barnett, H. L., y B. B. Hunter. 1998. *Illustrated genera of imperfect fungi*. 4.<sup>a</sup> ed. St. Paul, MN: APS Press.
- Castegnaro, M., y C. Wild. 1995. IARC Activities in Mycotoxin Research. *Natural Toxins* 3 (4): 327-31.
- IARC. 1993. *Some Naturally Occurring Substances: Food Items and Constituents, Heterocyclic Aromatic Amines and Mycotoxins*. Vol. 56. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Lyon: International Agency for Research on Cancer.
- Jerke, G., M. A. Horiński, S. Bargardi, y M. L. Martínez. 2011. Análisis microbiológico en yerba mate compuesta. *Revista de Ciencia y Tecnología*, n.º 15 (junio): 4-10.
- Jerke, G., M. A. Horiński, y K. Salvatierra. 2009. Evaluación de géneros micotoxigénicos en yerba mate elaborada. *Revista de Ciencia y Tecnología*, n.º 12 (diciembre): 41-45.
- Jerke, G., K. Salvatierra, y S. Bargardi. 2009. Aislamiento de *Aspergillus* aflatoxigénicos en té negro durante las etapas de su elaboración tradicional. *Revista de Ciencia y Tecnología*, n.º 12 (diciembre): 58-64.
- Lee, S. D., I. S. Yu, K. Jung, y Y. S. Kim. 2014. Incidence and Level of Aflatoxins Contamination in Medicinal Plants in Korea. *Mycobiology* 42 (4): 339.
- Marasas, W. F. O., L. W. Burgess, R. Y. Anelich, S. C. Lamprecht, y D. J. Van Schalkwyk. 1988. Survey of *Fusarium* species associated with plant debris in South African soils. *S Afr J Bot* 54: 63-71.
- Pérez Paiva, J., L. Pirirs Morales, G. Ulke Mayans, L. Mendoza de Arbo, y S. Sánchez Bernal. 2013. Evaluación del Perfil Micológico de la Yerba Mate durante el proceso productivo y producto final en establecimientos yerbateros. Paraguay 2012. *Rev. Salud Pública Parag.* 3 (1): 8-13.
- Piecková, E., y Z. Jesenská. 1998. Microscopic Fungi in Dwellings and Their Health Implications in Humans. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine: AAEM* 6 (1): 1-11.
- Pin, A., G. González, G. Marín, G. Céspedes, S. Cretton, P. Christen, y D. Roguet. 2009. Plantas medicinales del Jardín Botánico de Asunción. Asunción: Asociación Etnobotánica Paraguaya. 441p.
- Romagnoli, B., V. Menna, N. Gruppioni, y C. Bergamini. 2007. Aflatoxins in Spices, Aromatic Herbs, Herb-Teas and Medicinal Plants Marketed in Italy. *Food Control* 18 (6): 697-701.
- Sánchez, V., A. M. González, y M. C. Lurá. 2006. Análisis Microbiológico de Hierbas Medicinales y su Contaminación por Especies de *Aspergillus* Toxicogénicos. *Acta Farmacéutica Bonaerense* 25 (1): 89-94.
- Soriano, C. J. 2007. Micotoxinas en alimentos. España: Díaz de Santos.