

Aislamiento de *Aspergillus aflatoxigénicos* en té negro durante las etapas de su elaboración tradicional

Gladis Jerke, Karina Alejandra Salvatierra, Severino Bargardi

Aflatoxigenic aspergillus isolates from tea (*Camellia sinensis*) during its traditional manufacture

ABSTRACT

The aim of this study was to isolate and identify, at genera and species level, strains of *Aspergillus* spp obtained from different stages of black tea traditional processing. Strains taxonomically characterized as *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus* were evaluated in terms of their potential biosynthesizing aflatoxins "in vitro".

A total of 72 tea samples were taken from traditional processing plants from Misiones, Argentina. Out of a total of 180 strains of *Aspergillus* spp. isolated, 76 strains (42 %) were characterized as *A. flavus*, of which 65 strains (86 %) showed aflatoxicogenic capacity "in vitro", and 11 strains (14 %) were negative. 47 % of all strains of *A. flavus* isolated was able to biosynthesize aflatoxins B₁ and B₂ while 35 % only synthesized aflatoxin B₁. There were no strains of *A. parasiticus*.

KEY WORDS: Aflatoxins, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus*, Black tea.

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue aislar e identificar, a nivel de género y especie, cepas de *Aspergillus* spp, obtenidas de las distintas etapas de elaboración tradicional del té negro. Las cepas taxonómicamente caracterizadas como *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus* se evaluaron en cuanto a su capacidad de biosintetizar aflatoxinas "in vitro".

Un total de 72 muestras de té fueron tomadas de plantas de procesamiento tradicionales de Misiones, Argentina. Sobre un total de 180 cepas de *Aspergillus* spp. aisladas, 76 cepas (42 %) fueron caracterizadas como *A. flavus*, de las cuales 65 cepas (86 %) presentaron capacidad aflatoxicogénica in vitro, y 11 cepas (14 %) resultaron negativas. El 47 % del total de cepas de *A. flavus* aisladas, resultó capaz de biosintetizar las aflatoxinas B₁ y B₂ mientras que el 35 % sólo sintetizó aflatoxina B₁. No se hallaron cepas de *A. parasiticus*.

PALABRAS CLAVE: Aflatoxinas, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus*, té negro.

INTRODUCCIÓN

Ciertos metabolitos producidos por hongos contaminantes de alimentos son riesgosos para la salud humana y animal. Estos productos llamados micotoxinas presentan toxicidad variada y algunas de ellas, como la aflatoxina B₁, un alto poder cancerígeno. Los hongos productores de micotoxinas están ampliamente distribuidos en el medio ambiente [1, 2] y se los puede encontrar como contaminantes comunes de una gran variedad de alimentos vegetales de importancia en la dieta humana y animal. Se han encontrado en alimentos tales como arroz [3, 4], yerba mate [5], hierbas aromatizantes [6], girasol [7], plantas herbáceas [8, 9], maíz [10], café verde [11], cacao y chocolate [12]. Pueden resultar muy perjudiciales para la salud humana, ya sea mediante su sola presencia somática, dando origen a una infección fúngica, o a su capacidad de producir poderosas toxinas hepatotóxicas, nefrotóxicas e inmunosupresoras, ocasionando entonces una toxiinfección fúngica. El principal riesgo para la salud humana lo cons-

tituye la ingestión reiterada de pequeñas concentraciones de la micotoxina que se bioacumula y puede conducir al desarrollo de carcinomas en diversos órganos [1, 2, 13].

Entre las miles de micotoxinas hoy descritas, las aflatoxinas se encuentran entre las más relevantes, ya que ocurren frecuentemente y con una distribución mundial [1, 5–11], siendo su incidencia significativamente mayor en regiones de clima subtropical como el nuestro, dado que la temperatura reinante y la elevada humedad relativa ambiente locales, favorecen la contaminación fúngica de cualquier sustrato así como la biosíntesis de las toxinas. Las aflatoxinas son sintetizadas por hongos del grupo "flavi" pertenecientes a las especies *Aspergillus flavus*, productora de las aflatoxinas B₁ y B₂, y *Aspergillus parasiticus*, capaz de biosintetizar aflatoxinas B₁, B₂, G₁ y G₂ [14]. Estas toxinas producen cuatro distintos efectos: alteración hepática aguda, cirrosis hepática, inducción de tumores y efectos teratogénicos [15–17]. El metabolito principal de este grupo de micotoxinas, la aflatoxina B₁, es el carcinógeno natural más potente que se conoce en la actualidad [15, 17].

El cultivo de té Argentino se lleva a cabo en dos provincias: Misiones y Corrientes. La primera presenta 6.108 explotaciones agropecuarias (EAP) dedicadas a este cultivo, mientras que la cantidad es de 23 en Corrientes. Respecto de la superficie nacional total con cultivo de té, 34.899,6 ha de las 36.660,1 ha totales se encuentran en Misiones (95,2 %) [18, 19, 21].

El procesamiento y elaboración del té en Misiones se cuenta entre las actividades agrícolas de mayor relevancia económica regional. Su práctica involucra la participación de cerca de 9.000 colonos en su mayoría con hasta 10 hectareas de superficie cultivada [19, 20]. El rendimiento total aproximado es de 300.000 toneladas de brote verde que se procesa en 70 plantas elaboradoras [18, 21] con la obtención de 65.000 toneladas de té negro seco [19, 21]. El 89 % de este volumen se destina a la exportación representando el 3,5 % del comercio mundial. El té elaborado se exporta a 20 países, entre los principales importadores se destacan: EE.UU., Chile, Reino Unido, Rusia, Holanda y Alemania [21].

La manufactura del té se realiza normalmente mediante tres métodos de industrialización. El ortodoxo o tradicional (realizado manualmente), el Moderno (actualmente automatizado, aunque se reproducen fielmente los pasos del método tradicional) y el denominado CTC (Crush, Tear and Curl, que traducido significa: triturado, desmenuzado y enlulado), aplicado a la elaboración de tes genéricos o estándares. En el presente estudio las muestras fueron recolectadas de plantas elaboradoras que emplean el método ortodoxo o tradicional. [18, 19].

El té es la bebida que más se toma en el mundo después del agua. Tres son los tipos de té de mayor producción y consumo mundial: el 78 % es té negro consumido por países occidentales, 20 % es té verde comúnmente consumido en países asiáticos como China y Japón y 2 % es té Oolong que se produce principalmente en el sur de China [3, 6]. El consumo tan difundido de la infusión, se debe a su contenido en taninos, catequinas y flavonoides, que ejercen un importante papel antioxidante [22–25] y son los responsables de los numerosos efectos beneficiosos que se han asociado al consumo del té. Se ha demostrado su actividad anticariogénica por su acción bactericida que permitiría disminuir la acción de las bacterias del género *Streptococcus* en la formación de la placa dental y de las caries [26–28]. El elevado contenido en fluor del té se ha asociado a la prevención de caries y al fortalecimiento del esmalte dental [29, 30]. El consumo del té verde o negro, según estudios recientes, podrían reducir los riesgos de cáncer [31–35], prevenir enfermedades cardiovasculares [36, 37], retrasar el envejecimiento [23, 33], prevenir la hipertensión arterial [38, 39], la obesidad [40] y la arterioesclerosis [41]. No obstante, para lograr estos efectos beneficiosos, los investigadores sugieren la ingesta diaria de 2 a 3 tazas de la infusión [23, 33].

Los objetivos del presente estudio fueron:

1. aislar e identificar a nivel de género y especie cepas de *Aspergillus* spp, obtenidas de las distintas etapas de elaboración del té negro en Plantas de procesamiento con tecnología tradicional
2. evaluar la incidencia de cepas taxonómicamente caracterizadas como *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus* y evaluar su capacidad de biosintetizar aflatoxinas “*in vitro*”.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestreo y Procesamiento de las muestras

Se estudiaron muestras de té negro (*Camellia sinensis*) obtenidas durante las etapas de su procesamiento industrial. El muestreo se realizó en Plantas de procesamiento de té ortodoxos o tradicionales situados en diferentes puntos geográficos de la Provincia, recolectándose un total de 72 muestras. En cada caso se estudiaron muestras tomadas por integrantes de nuestro grupo de trabajo, correspondientes a:

1. muestras de la materia prima previa a su procesamiento: hoja verde del té que se tomaron al azar de la plancha de recepción realizando tomas de producto en diez a doce diferentes lugares con distribución aleatoria,
2. muestras de las etapas del procesamiento del té: marchitado, enlulado, fermentado, secado. Se realizaron entre 10 y 20 tomas aleatorias de cada etapa para conformar una muestra analítica. Para las muestras de las etapas del fermentado y secado se emplearon sondas cilíndricas muestreadoras.
3. muestras del producto elaborado y en almacenamiento. Se tomaron luego del proceso de clasificación del té, desde las bolsas apiladas en la planta elaboradora y que presentaran por lo menos un mes de almacen.

Una vez obtenidas las muestras, de aproximadamente 1000–1500 gr, estadísticamente representativas de cada etapa del procesamiento del té, fueron trasladadas hasta nuestro laboratorio dentro de una heladera portátil para ser mantenidas en cadena de frío.

Se pesó una alicuota de 50 gr de cada muestra y se homogeneizó con agua peptonada al 0,1 % estéril en licuadora industrial. Se filtraron los homogenatos a través de gasa estéril, realizándose diluciones decimales hasta obtener las diluciones de 10^{-3} y 10^{-5} . Se sembraron por duplicado 100 μ l de cada dilución en medios de cultivo HyL (hongos y levaduras con Cloranfenicol). Las placas se incubaron en estufa a 27 ± 2 °C durante 5 a 7 días. Se realizó el recuento fúngico total de las cepas que desarrollaron y la identificación de los géneros presentes [1, 2]. La identificación a nivel de géneros se basó en la experiencia de diversos investigadores dedicados al estudio de la taxonomía fúngi-

ca [1, 2, 42–44]. Se procedió al aislamiento de las colonias cuya macro–micromorfología fuera coincidente con el género *Aspergillus*, de conocida capacidad toxicogénica, para su caracterización a nivel de especies y la detección de la aflatoxicogenicidad de las cepas de las especies *A. flavus* y *A. parasiticus* “*in vitro*”.

Caracterización de las cepas de *Aspergillus* spp

Las claves de identificación de las especies de *Aspergillus* se basaron primariamente en procedimientos estandarizados descritos por diversos investigadores [1, 2, 45, 46]. Mediante el análisis de las características macroscópicas (diámetro y color de las colonias, modo de crecimiento, color y disposición de los conidios) y microscópicas (Forma y tamaño de la vesícula, las fiálides y las conidias) de las cepas se ingresó a la clave de Klich and Maren, lográndose la clasificación de las mismas a nivel de especies.

Pruebas de Toxicogenicidad “*in vitro*”

Para la detección de la capacidad aflatoxigénica de las cepas de *A. flavus* aisladas, se empleó la Prueba del Mini Arroz, según técnica recomendada por Moreno y col [47]. Esta consiste básicamente en sembrar la cepa sobre un sustrato natural (arroz) de probada sensibilidad para la producción de aflatoxinas. Las cepas aisladas y caracterizadas como *Aspergillus flavus* y/o *A. parasiticus*, se siembran en erlenmeyer conteniendo un medio preparado con granos de arroz pulido y cantidad suficiente de agua, logrando una a_w de 0,98, que permita la biosíntesis de aflatoxinas *in vitro*. Simultáneamente se procesó la cepa patrón, *Aspergillus parasiticus* NRRL 3000. Se incubaron los erlenmeyer durante 5 días a 27 °C. Las toxinas fueron extraídas con 15 ml de cloroformo y se evaporó el solvente a sequedad en baño de vapor. Se resuspendieron los extractos en 200 μ l de benceno: acetónitrilo (98:2) y se confirmó la presencia de aflatoxinas dada su emisión fluorescente en placa de TLC bajo luz UV, por comparación con un patrón de aflatoxina B₁, B₂, G₁ y G₂.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las muestras analizadas presentaron un porcentaje importante de contaminación con cepas de *Aspergillus flavus*. Se aislaron 76 cepas (42 %) sobre un total de 180 cepas de *Aspergillus* spp aisladas y caracterizadas a nivel de especie.

En la Tabla 1 se muestra el número de cepas de *Aspergillus* spp y su caracterización taxonómica para cada una de las etapas de procesamiento del té negro proveniente de las tres plantas elaboradoras estudiadas.

Tabla 1: Identificación taxonómica de las cepas de *Aspergillus* spp aisladas en cada una de las etapas de elaboración del té, proveniente de tres plantas elaboradoras con tecnología tradicional.

Etapla evaluada	Planta elaboradora N° 1	Planta elaboradora N° 2	Planta elaboradora N° 3
Materia prima	2 <i>A. flavus</i> 1 <i>A. fumigatus</i>	1 <i>A. flavus</i> 2 <i>A. niger</i> 1 <i>A. fumigatus</i>	1 <i>A. fumigatus</i> 1 <i>A. niger</i>
Marchitado	6 <i>A. flavus</i>	2 <i>A. flavus</i>	7 <i>A. flavus</i>
Enrulado	2 <i>A. flavus</i>	2 <i>A. flavus</i>	1 <i>A. flavus</i> 1 <i>A. niger</i> 1 <i>A. fumigatus</i>
Fermentado	22 <i>A. flavus</i>	2 <i>A. flavus</i>	6 <i>A. flavus</i> 2 <i>A. japonicus</i>
Secado	4 <i>A. flavus</i> 2 <i>A. niger</i>	2 <i>A. flavus</i>	2 <i>A. flavus</i> 2 <i>A. fumigatus</i>
Almacenado	9 <i>A. flavus</i> 56 <i>A. niger</i> 26 <i>A. fumigatus</i>	2 <i>A. flavus</i> 5 <i>A. niger</i>	2 <i>A. flavus</i> 5 <i>A. niger</i>

En la Tabla 2 se presenta la incidencia de las cepas de *Aspergillus flavus* aisladas en cada una de las etapas del procesamiento Industrial del té con tecnología tradicional. El mayor número de cepas de *Aspergillus* spp se observa en las muestras obtenidas del té almacenado, corroborando que, como lo sugiere la bibliografía [48, 49], el género *Aspergillus* es un “hongo de almacén”.

Tabla 2: Incidencia de cepas de *Aspergillus* spp y *Aspergillus flavus* aisladas en cada una de las etapas de elaboración del té.

Etapla evaluada	Cepas de <i>Aspergillus</i> spp	Cepas de <i>Aspergillus flavus</i>	<i>A. flavus</i> Aflatoxigénicos (Mini arroz)	% de <i>A. flavus</i> Aflatoxigénicos por etapa
Materia prima	9	3	3	100 %
Marchitado	16	16	16	100 %
Enrulado	6	6	3	50 %
Fermentado	32	32	27	86 %
Secado	12	7	5	67 %
Almacenado	106	13	13	100 %
Totales	180	76	66	86 %

En la materia prima se aislaron 9 cepas de *Aspergillus* spp, de las cuales 3 resultaron ser *A. flavus* aflatoxigénicas, 3 fueron *Aspergillus fumigatus* y 3 *A. niger*. Durante las etapas de Marchitado, Enrulado y Fermentado, todas las cepas de *Aspergillus* aisladas se caracterizaron como *A. flavus*, siendo aflatoxigénicas un importante número de las mismas. En la etapa del secado, sobre un total de 12 cepas de *Aspergillus* spp aisladas, 7 fueron *A. flavus*, 3 *A. niger* y 2 *A. japonicus*. Del té almacenado se obtuvo el mayor número de cepas de *Aspergillus* spp, con un total de 106 cepas provenientes de todas las Plantas de procesamiento tradicionales estudiadas. La distribución de las especies de las 106 cepas del género *Aspergillus* caracterizadas en ésta etapa, fue la siguiente: 12 cepas (12,5 %) *A. flavus*, 58 cepas (60,4 %) *A. niger* y 26 cepas (27 %) *A. fumigatus*. La distribución de número total de cepas de *Aspergillus* spp y de las especies caracterizadas por cada etapa de elaboración del té, se muestran en la Figura 1.

Las 76 cepas aisladas y caracterizadas como *Aspergillus flavus* (Tabla 1) se ensayaron para ver su capacidad aflatoxicogénica “*in vitro*”. Se detectaron 66 cepas (86 %) productoras de aflatoxinas, de las cuales, 32 (49 %) fueron

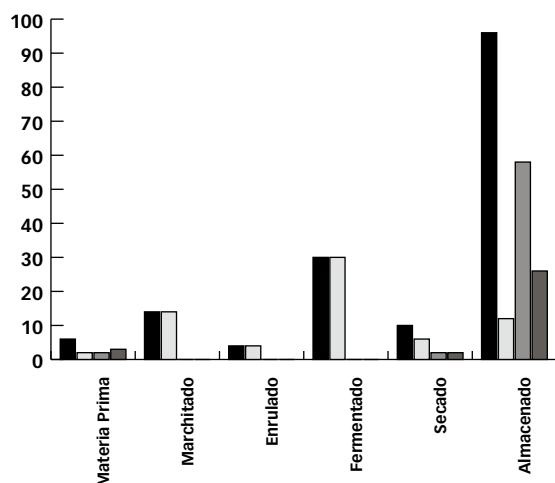


FIGURA 1. Número total de cepas de *Aspergillus* spp e incidencia de cepas de *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger* y *Aspergillus fumigatus*, en cada una de las etapas de elaboración del té a escala industrial en plantas de procesamiento tradicionales. Referencias: ■ *Aspergillus* spp, □ *Aspergillus flavus*, ▒ *Aspergillus niger*, ▓ *Aspergillus fumigatus*.

capaces de biosintetizar Aflatoxinas B₁ y B₂ y 24 (37 %) sintetizaron Aflatoxina B₁.

Se aislaron cepas de *Aspergillus* con capacidad aflatoxicogénica en todas las etapas de elaboración del té negro procedente de plantas elaboradoras con procesamiento ortodoxo o tradicional.

Otras especies de *Aspergillus* caracterizadas fueron: *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus* y *Aspergillus japonicus*. La distribución porcentual de las mismas se muestran en la Figura 2.

Si bien existen comunicaciones de estudios en relación a la microflora del té negro elaborado [50] y en las etapas de su elaboración [51–56], hasta el presente se han realizado pocas evaluaciones de la presencia de hongos aflatoxicogénicos en té negro. Esta es la primer publicación local sobre la temática.

Elshafie analizó 48 muestras de té negro elaborado de Sultanate, Oman, India. Cinco fueron las especies fúngicas más aisladas con *A. niger* como el hongo dominante en todas las muestras. Otros hongos aislados por Elshafie fueron *A. flavus*, *Penicillium* spp y *Paecilomyces* spp. Ninguna de las 25 cepas de *A. flavus* analizadas *in vitro*, fueron aflatoxigénicas [50]. Al momento de realizarse el presente estudio, si bien se habían detectado cepas de *A. flavus* contaminantes de té negro [50], las mismas no demostraron capacidad aflatoxicogénica *in vitro*. De modo que nuestros resultados son los primeros en demostrar la presencia de *A. flavus* con capacidad aflatoxicogénica *in vitro* aisladas de té negro.

En estudios previos, se realizó la evaluación de la microflora del té en su elaboración desde la materia prima y en todas las etapas del procesamiento industrial hasta su almacenamiento [51–55]. Se halló contaminación fúngica en todas las etapas del proceso. Los recuentos fúngicos que se mostraron elevados en la materia prima y todas las etapas de elaboración, disminuyen drásticamente [51–55]

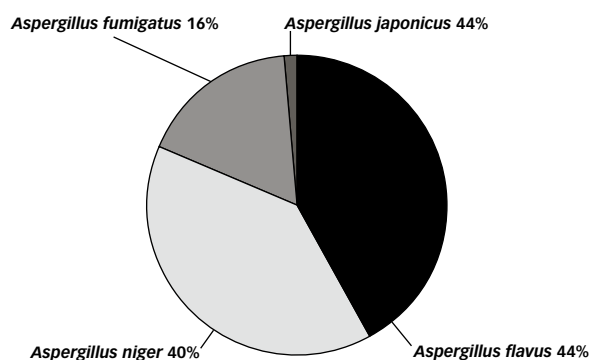


FIGURA 2. Distribución porcentual de especies de *Aspergillus* spp aisladas.

o son eliminados [56] en la etapa del secado. Los géneros fúngicos más aislados del té negro durante su elaboración, en nuestros estudios locales, fueron *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Scopulariopsis*, *Penicillium* y levaduras de los géneros *Rhodotorula*, *Candida* y *Saccharomyces* [52–55], en coincidencia con las comunicaciones internacionales [50, 56]. Los géneros identificados varían ligeramente dependiendo de la etapa de elaboración evaluada.

Cuando analizamos la distribución de las cepas de *Aspergillus* spp durante el procesamiento ortodoxo o tradicional del té negro, cabe destacar la mayor incidencia de las mismas en las muestras de almacén, con una marcada presencia de la especie *A. Niger* coincidente con las comunicaciones de Elshafie [50]. Actualmente los *Aspergillus* de la sección “nigri” se asocian a la capacidad biosintética de Ocratoxina [57], micotoxina de conocida acción nefrotóxica [58].

Hasta el presente no se encontraron comunicaciones de la presencia de aflatoxinas en té negro. En este sentido se comunicó la contaminación con Aflatoxinas en 28 muestras de hierbas medicinales de Tailandia empleando columnas de inmunoafinidad con límites de detección muy bajos. Los resultados indicaron que 5 muestras (18 %) estaban contaminadas con Aflatoxinas, con valores entre 1,7 a 14,3 ng/g. Estos valores están por debajo del límite, de 20ng/g, permitido en Tailandia y en nuestro país. No obstante es un llamado a la reflexión para el control periódico de Aflatoxinas en drogas y plantas medicinales. En este estudio no se incluyeron muestras de té. También en otros sustratos similares como café verde y cacao [12] se detectó la presencia de ocratoxinas. Otra micotoxina investigada en té fue fumonisina. Martins y col. investigaron la presencia de fumonisinas B₁ y B₂ en té negro y plantas medicinales. Sobre un total de 87 muestras analizadas se detectó fumonisina B₁ en 55 (65,5 %) de las muestras. El mayor número de muestras positivas se encontró en las 18 muestras de té negro evaluadas (88,8 %) con niveles de 80 a 280 µg/kg [59]. Omurtag y col, también detectaron fumonisina B₁ en muestras de té negro. Fumonisina B₂ en cambio no se detectó en ninguna de las muestras evaluadas [59, 60].

La presencia de géneros potencialmente aflatoxicogénicos en té negro, tanto en las etapas de su elaboración industrial

como en el producto comercializado podría implicar la presencia de aflatoxinas en la infusión, dado que las mismas son termoestables y por lo tanto no son eliminadas en el proceso térmico del secado ni por el empleo del agua caliente en su preparación. Por ello, de hallarse micotoxinas en té, su consumo habitual también podría resultar un riesgo para la salud. Recordemos que para lograr el efecto beneficioso de las catequinas, flavonoides, taninos y demás componentes beneficiosos para la salud [22–41], los investigadores sugieren la ingesta de 3 a 4 tazas de té diario [23, 33] que, de contener micotoxinas implicaría un consumo reiterado y crónico de pequeñas trazas de las mismas con el consiguiente desarrollo potencial de micotoxicosis crónicas.

CONCLUSIONES

Las muestras analizadas presentaron un porcentaje importante de cepas de *Aspergillus* spp contaminantes aislados de cada una de las etapas de elaboración del té negro en plantas elaboradoras tradicionales.

Las cepas de *Aspergillus flavus* se aislaron de todas las etapas de elaboración del té negro en plantas elaboradoras tradicionales.

El 86 % de las cepas de *A. flavus* presentó capacidad aflatoxicogénica *in vitro*. No se hallaron otras especies de *Aspergillus* aflatoxicogénicas.

Otras especies de *Aspergillus* caracterizadas fueron *A. niger*, *A. fumigatus* y *A. japonicus*.

En muestras de té negro almacenado presenta una incidencia importante el *Aspergillus* negro de la sección “nigri” con potencial capacidad ocratoxigénica.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- PITT J.I., HOCKING A.D. *Fungi and Food Spoilage*. 2º ed. London, Wienheim, New York, Tokyo, Melbourne, Madras: Blackie Academic & Professional. 1997.
- CARRILLO L. *Los hongos de los alimentos y forrajes*. Editorial Universidad Nacional de Jujuy. Libro electrónico. 2003.
- TONON S.A., MARUCCI R.S., JERKE G., GARCÍA A. *Mycoflora of paddy and milled rice produced in the region of North-eastern Argentina and Southern Paraguay*. International Journal of Food microbiology. 37: 231–235. 1997.
- TONON S.A., MARUCCI R.S., JERKE G., GARCÍA A., VELLÓN L., FERRERAS J.A. *Hongos contaminantes del arroz producido en la región central del Mercosur*. La Alimentación Latinoamericana. 214: p. 39–45. 1996.
- TONON S.A., MARUCCI R.S. *Flora fúngica contaminante de Yerba Mate estacionada. Presencia de hongos productores de aflatoxinas*. La Alimentación Latinoamericana. 206: p. 23–32. 1995.
- JERKE G., MARUCCI R.S. *Micoflora de hierbas aromáticas utilizadas para elaborar yerba mate compuesta*. Revista de Ciencia y Tecnología. Año 2. Nº 2: 209–212. 1999.
- VARSAVSKY E., ET AL. *Hongos toxicogénicos y aflatoxinas en semillas de girasol*. La Alimentación Latinoamericana, 3: p. 58–60. 1983.
- EFUNTOYE M.O. *Mycotoxins of fungal strains from stored herbal plants and mycotoxin contents of Nigerian crude herbal drugs*. Mycopathologia; 147(1):43–48. 1999.
- TASSANEYAKUL W., RAZZAZI FAZELI E., PORASUPHATANA S., BOHM J. *Contamination of aflatoxins in herbal medicinal products in Thailand*. Mycopathologia; 158(2):239–244. 2004.
- PAYNE G.A. *Aflatoxin in maize*. CRC in Plant Sciences, 10(5): p. 423–440. 1992.
- ROBLEDO M.D., MARIN S., RAMOS A.J. *Natural contamination with mycotoxins in forage maize and green coffee in Nayarit State (Mexico)*. Rev. Iberoam. Micol. Sep.:18(3):141–144. 2002.
- SERRA BONVEHI J. *Occurrence of Ochratoxin A in cocoa products and chocolate*. J. Agric. Food Chem. 52(20):6347–52. 2004.
- ABARCA MA LOURDES ET AL. *Hongos productores de micotoxinas emergentes*. Rev. Iberoam. Micol. 2000; 17: S63–S68. 2000.
- HESELTINE C.W. ET AL. *Aflatoxin formation by Aspergillus flavus*. Bacterial Review, 30: p. 795–805. 1966.
- VENTURINI M.C. AND PERFUMO C.J. *Aflatoxinas. Sus efectos tóxicos, Carcinogénicos e Inmunosupresores*. Clínica & Producción Veterinaria. p. 7–8.
- IARC *Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans: Aflatoxins*. Vol: 82 pp. 171–300. 2002.
- WHO *WHO Food Additives Series: Aflatoxins*. Vol: 40 pp. 359–468. 1998.
- DE BERNARDI L.A. Y PRAT KRICUN S.D. *Té “Camellia sinensis” Análisis de Cadena Alimentaria*. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación. Dirección Nac. de Alimentación. Dirección de Industria Alimentaria. Cadenas alimentarias: Infusiones <http://www.alimentosargentinos.gov.ar>. 2004.
- PARRA A.P. *Infusiones en Argentina: desempeño 2000–2007 y perspectivas*. Artículo de Divulgación. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos. Dirección Nacional de Alimentos. <http://www.alimentosargentinos.gov.ar>. 2008.
- PRAT KRICUN S.D. *Té: Procesos de elaboración*. Artículo de Divulgación. Grupo de Yerba mate y Te. INTA. Cerro Azul, Pcia. de Misiones. 2002.
- PARRA A.P. *Té “Camellia sinensis” Análisis de Cadena Alimentaria*. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación. Dirección Nac de Alimentación. Dirección de Industria Alimentaria. <http://www.alimentosargentinos.gov.ar>. 2006.

22. DU TOIT R. *Comparison of the antioxidant content of fruits, vegetables and teas measured as Vitamin C equivalents*. Toxicology; 166 (1-2): 63-69. 2001
23. HENNING S.M., NIU Y., LEE N.H., THAMES G.D., MINUTTI R.R. WANG H., GO V.L., HEBER D. *Bioavailability and antioxidant activity of tea flavanols after consumption of green tea, black tea, or a green tea extract supplement*. Am. J. Clin. Nutr.; 80(6): 1558-64. 2004.
24. RIETVELD A., WISEMAN S. *Antioxidant Effects of Tea: Evidence from Human Clinical Trials*. J. Nutr., October 1, 2003; 133(10): 3285S-3292. 2003.
25. YANG C.S., LANDAU J.M. *Effects of tea consumption on nutrition and health*. J. Nutr. 130: 2409-2412. 2000.
26. HAMILTON MILLER, J.M. *Anti-cariogenic properties of tea (Camellia sinensis)*. J. Med. Microbiol.; 50(4):299-302. 2001.
27. KAWAMURA J., TAKEO T. *Antibacterial activity of tea catechin to Streptococcus mutans*. J. Jap. Soc. Food Sci. Technol.; 36:463-467. 1989.
28. RASHEED A., HAIDER M. *Antibacterial activity of Camellia sinensis extracts against dental caries*. Arch. Pharm. Res.; 21:348-352. 1998.
29. LU Y., GUO W.F., YANG X.Q. *Fluoride content in tea and its relationship with tea quality*. J. Agric. Food Chem.; 52(14): 4472-4476. 2004.
30. WONG M.H., FUNG K.F., CARR H.P. *Aluminium and fluoride contents of tea, with emphasis on brick tea and their health implications*. Toxicology Letters; 137(1-2): 111-120. 2003.
31. DREOSTI I.E., WARGOVICH M.J., YANG C.S. *Inhibition of carcinogenesis by tea: the evidence from experimental studies*. Crit. Rev. Food Sci. Nutr.; 37:761-770. 1997.
32. BUSCHMAN J.L. *Green tea and cancer in humans: a review of the literature*. Nutr. Cancer; 31:151-159. 1988.
33. YANG C.S., CHENG J.Y., YANG G., CHHABRA S., LEE M.J. *Tea and tea Polyphenols in cancer prevention*. Journal of Nutrition; 130: 472S-478S. 2000.
34. YANG C., MALIAKAL P., MENG X. *Inhibition of carcinogenesis by tea*. Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol., 42: 25-54. 2002.
35. SESSO H.D., PAFFENBARGER JR R.S., OGUMA Y., LEE I.M. *Lack of association between tea and cardiovascular disease in college alumni*. Int. J. Epidemiol., 32(4): 527-533. 2003.
36. ARTS I.C., HOLLMAN P.C., FESKENS E.J., BUENO DE MESQUITA H.B., KROMHOUT D. *Catechin intake might explain the inverse relation between tea consumption and ischemic heart disease: the Zutphen Elderly Study*. Am. J. Clin. Nutr.; 74: 227-32. 2001.
37. VITA J.A. *Polyphenols and cardiovascular disease: effects on endothelial and platelet function*. Am. J. Clinical Nutrition; 81(1): 292S-297S. 2005.
38. HODGSON J.M., DEVINE A., PUDDY I.B., CHAN S.Y., BEILIN L.J., PRINCE R.L. *Tea Intake Is Inversely Related to Blood Pressure in Older Women*. J. Nutr., September 1, 2003; 133(9): 2883-2886. 2003.
39. YANG Y.C., LU F.H., WU J.S., WU C.H., CHANG C.J. *The Protective Effect of Habitual Tea Consumption on Hipertensión*. Archives of Internal Medicine; 164(14): 1534-1540. 2004.
40. ZHENG G., SAYAMA K., OKUBO T., JUNEJA L.R. *Anti-obesity effects of three major components of green tea, catechins, caffeine and theanine, in mice*. In Vivo; 18(1): 55-62. 2004.
41. MARON D.J., LU G.P., CAI N.S., WU Z.G., LI Y.H., CHEN H., ZHU J.Q., JIN X.J., WOUTERS B.C., ZHAO J. *Cholesterol-Lowering Effect of a Theaflavin-Enriched Green Tea Extract: A Randomized Controlled Trial*. Archives of Internal Medicine; 163(12): 1448-1453. 2003.
42. KONEMAN E.W. AND G.D. ROBERTS *Micología. Práctica de Laboratorio*. 3º ed. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana S. A. 221. 1983.
43. PIONTELLI E.L. *Bases y conceptos para la clasificación de los hongos de importancia Médico-Veterinaria*. in CURSO: 'Criterios taxonómicos básicos para las Disciplinas microbiológicas'. Posadas, Misiones: UNaM. 1995.
44. WEBSTER J. *Introduction to Fungi*. 2º ed. Cambridge: University of Cambridge. C.U. Press. 1991.
45. KLICH MAREN A. *Identificación of common Aspergillus species*. Centraalbureau voor schimmelcultures, Utrecht, The Netherlands. 2002.
46. KLICH M. AND J. PITT *A Laboratory Guide to the common Aspergillus species and their Teleomorphs.*, North Ryde, Australia: CSIRO Division of food processing. 1986.
47. MORENO M. A. Y COL. *Improved methodology for detecting aflatoxin production quantitatively in natural media*. Micotoxin Research. 5:p. 51-56. 1989.
48. SCUDAMORE K.E. *Mycotoxins in stored products: Myth or menace*. International Biodeterioration & biodegradation. 32: p. 191-203. 1993.
49. EFUNTOYE M.O. *Fungi associated with herbal drug plants during storage*. Mycopathologia; 136(2): 115-118. 1996.
50. ELSHAFIE A.E., AL LAWATIA T., AL BAHRY S. *Fungi associated with black tea and tea quality in the Sultanate of Oman*. Mycopathologia; 145: 89-93. 1999.
51. TONON S.A., MARUCCI R.S., FONTANA J., JERKE G., FERRERAS J.A. *Contaminación fungica del té. Cambios durante la elaboración controlada de té negro*. Revista de Ciencia y Tecnología. UNAM. N° 1: 205-206. 1997.
52. JERKE G., MARUCCI R. S., KNASS P. S. *Micoflora de té (Camellia sinensis) elaborado y comercializado en Misiones, Argentina*. La alimentación Latinoamericana. Editorial Publitec S.A. Argentina N° 237. p. 62-67. 2001.
53. JERKE G., MARUCCI R. S., KNASS P. S. *Micoflora de té (Camellia sinensis) elaborado y comercializado en Misiones, Argentina*. VI Congreso Latinoamericano de Microbiología de los Alimentos. MICROAL 2000. Buenos Aires. Argentina. Código I 8. Página 209. 2000.
54. JERKE G., ET AL. *Evolution of contaminating mycoflora in the commercial elaboration of tea (Camellia sinensis)*

from Misiones, Argentina. Congreso Mundial De Micología. Buenos Aires. Argentina. 2000.

55. JERKE G., MARUCCI R.S., TONON S.A., FONTANA H., IPUCHA C. Hongos aflatoxigénicos en té (*Camellia sinensis*) durante su procesamiento a escala industrial. III Congreso Latinoamericano de Micotoxicología. p. 47. 2000.

56. CLOETE T.E., KOTZE J.M. *Microbiological aspects of tea manufacture in South Africa*. Acta horticulturae; 275: 691–698. 1990.

57. ABARCA M.L., ACCENSI F., BRAGULAT M.R., Y CABAÑES F.J. *Current importance of ochratoxin A – producing Aspergillus spp.* J. Food Prot. Vol. 64, Nº 6. Pag 903–906. 2001.

58. CALDAS E.D., SILVA S.C., OLIVEIRA J.N. *Aflatoxins and ochratoxin A in food and the risks to human health*. Rev. Saúde Pública, 36(3): 319–323. 2002.

59. MARTINS M. L., MARTINS H M., BERNARDO F. *Fumonisin B₁ and B₂ in Black Tea and Medicinal Plants*. Journal of Food protection. 64(8): 1268–1270. 2001.

60. OMURTAG G.Z., YAZICIOGLU D. *Determination of fumonisins B₁ and B₂ in herbal tea and medicinal plants in Turkey by high-performance liquid chromatography*. J. Food Prot.; 67(8): 1782–1786. 2004.

Recibido: 26/08/09.

Aprobado: 08/04/10

- Gladis Jerke
Bioquímica. Magister en Tecnología de los Alimentos. Jefe de trabajos prácticos de Microbiología e Inmunología. Categoría del Incentivo: IV.
- Karina Alejandra Salvatierra
Bioquímica. Master en Medicina y cirugía troical, Universidad de Valencia, España. Auxiliar docente de primera, Cátedras de Microbiología e Inmunología y Virología. Categoría del Incentivo: no posee.
- Severino Bargardi
Farmacéutico, Bioquímico. Magister en Microbiología Clínica. Ex profesor titular de Microbiología e Inmunología (jubilado) Categoría del Incentivo: II.
- Laboratorio de Análisis Microbiológico (LAM). Centro de Investigación y Desarrollo Tecnológico (CIDeT); Facultad de Ciencias Exactas, Químicas. y Naturales. Universidad Nacional de Misiones. Mariano Moreno 1375. (3300) Posadas. Misiones. Argentina. Teléfono: 054-3752-427687. Fax: 054-3752-435118. E-mail: diskega@fceqyn.unam.edu.ar.