



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

“Aislamiento, caracterización macroscópica de la microflora micótica y cuantificación de micotoxinas (aflatoxinas y fumonisinas) en tres variedades de mole a granel”

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

INGENIERO EN ALIMENTOS

PRESENTA

MACARIO QUINTANAR REBOLLAR

ASESOR (es):

DRA. SARA ESTHER VALDÉS MARTÍNEZ

DR. ROBERTO ARNULFO CERVANTES OLIVARES

CUAUTITLAN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO 2013



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES**

U. N. A. M.
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLÁN
ASUNTO: VOTO APROBATORIO



**DRA. SUEMI RODRÍGUEZ ROMO
DIRECTORA DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE**

**ATN: L.A. ARACELI HERRERA HERNÁNDEZ
Jefa del Departamento de Exámenes
Profesionales de la FES Cuautitlán.**

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos a comunicar a usted que revisamos el: Trabajo de Tesis

Aislamiento, caracterización macroscópica de la microflora micótica y cuantificación de micotoxinas (aflatoxinas y fumonisinas) en tres variedades de mole a granel

Que presenta el pasante: Macario Quintanar Rebollar
Con número de cuenta: 407071537 para obtener el Título de: Ingeniero en Alimentos

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO**.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPÍRITU"
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 20 de mayo de 2013.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Dr. José Francisco Montiel Sosa	
VOCAL	Dra. Sara Esther Valdés Martínez	
SECRETARIO	IBQ. Saturnino Maya Ramírez	
1er. SUPLENTE	M. en C. María Guadalupe Amaya León	
2do. SUPLENTE	M. en C. Dolores Molina Jasso	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

HHA/pm

Dedicatorias y Agradecimientos

Son muchas las personas especiales a las que me gustaría agradecer su amistad, apoyo, ánimo y compañía en las diferentes etapas de mi vida. Algunas están aquí conmigo y otras en mis recuerdos y en el corazón. Sin importar en donde estén o si alguna vez llegan a leer estas dedicatorias quiero darles las gracias por formar parte de mí, por todo lo que me han brindado y por todas sus bendiciones.

A Dios.

Por haberme permitido llegar hasta este punto, haberme dado salud para llegar a mis objetivos y fortaleza para lograrlos además de su infinita bondad y amor.

A mi madre.

Por haberme apoyado en todo momento, por sus consejos, sus valores, su comprensión, y por la motivación constante que me ha permitido ser una persona de bien, pero más que nada, por todo su amor y paciencia.

A mi padre.

Por los ejemplos de humildad, perseverancia y constancia que lo caracterizan y que me ha infundado siempre, por su valor mostrado para salir adelante, por su amor, apoyo y paciencia que me han permitido continuar en mi camino

A mis familiares.

A mis hermanos por seguir siendo el ejemplo del éxito, el punto de apoyo en mis momentos difíciles y por que han sabido ser los grandes compañeros de mi vida; a mis tíos y toda la familia por estar al pendiente de todo que nos sucede, y que son también la fuente de energía cuando la necesitamos; a todos aquellos que participaron directa o indirectamente en la elaboración de esta tesis. ¡Gracias a ustedes!

A mis maestros.

Dra. Sara Valdés por acogerme en su equipo, por su gran apoyo y motivación para la culminación de mis estudios profesionales y para la elaboración de esta tesis, por ser no solo el ejemplo académico, sino también el ejemplo de vida; a la Dra. Carolina Moreno por su apoyo ofrecido en este trabajo, por todos esos momentos de estrés que me ayudo a vivir y por ser esa gran persona que atravez del tiempo sigo valorando; a la Dra. Andrea Trejo por su tiempo compartido, por su gran amistad y por todos sus consejos; a todos aquellos que en este momento no menciono, pero que saben que estoy eternamente agradecido por formar parte de lo que soy ahora.

A mis amigos.

Que nos apoyamos mutuamente en nuestra formación profesional y que hasta ahora, lo seguimos siendo, gracias a todos ellos y en especial a Daniel, Pavel, Jesus, Cesar, Veronica y Berenice por ayudarme, apoyarme y acompañarme en este camino.

Índice General

INDICE GENERAL.....	IV
INDICE DE FIGURAS.....	VII
INDICE DE TABLAS.....	VIII
INDICE DE DIAGRAMAS.....	IX
INDICE DE GRAFICOS.....	X
RESUMEN.....	XI
1. INTRODUCCIÓN.....	12
2. ANTECEDENTES.....	15
2.1. El mole.....	15
2.1.1. Definición.....	16
2.1.2. El mole y su historia.....	16
2.1.3. Tipos de moles.....	17
2.1.4. El consumo del mole en México.....	20
2.1.5. Proceso de elaboración del mole Poblano, Negro y Almendrado.....	21
2.1.6. Industrialización del mole.....	27
2.1.7. Calidad e inocuidad del mole.....	28
2.1.8. Normatividad.....	28
2.2. Hongos.....	31
2.2.1. Generalidades.....	31
2.2.2. Morfología.....	31
2.2.3. Crecimiento.....	35
2.2.4. Requerimientos nutricionales.....	36
2.2.5. Condiciones ambientales requeridas.....	37

2.2.6. Clasificación de los hongos	38
2.2.7. Características diferenciales de los principales géneros.	40
2.2.8. Estudio morfológico de los hongos	42
2.3. Micotoxinas	43
2.3.1. Generalidades	43
2.3.2. Especies productoras de micotoxinas	44
2.3.3. Toxicidad de las micotoxinas	45
2.3.4. Factores que afectan y favorecen la producción de micotoxinas	47
2.3.5. Aflatoxinas.....	49
2.3.6. Fumonisinias	53
2.3.7. Métodos de cuantificación e identificación de micotoxinas	56
2.3.8. Legislación de micotoxinas en alimentos	58
3. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL	62
3.1. Cuadro metodológico.....	62
3.1.1. Objetivos	63
3.2. Materiales y Métodos	64
3.2.1. Material biológico.....	64
3.2.2. Muestreo	64
3.2.3. Siembra microbiológica de las muestras	65
3.2.4. Aislamiento del hongo	65
3.2.5. Identificación macroscópica del hongo	66
3.2.6. Cuantificación de micotoxinas	67
3.2.7. Análisis estadístico	67
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	69

4.1. Determinación de microflora micotica	69
4.2. Determinaciones microbiológicas.....	76
4.3. Análisis de Aflatoxinas	83
4.4. Análisis de Fumonisinias	87
5. CONCLUSIONES	91
6. RECOMENDACIONES.....	93
7. BIBLIOGRAFÍA	94
8. ANEXOS	101

Indice de Figuras

<i>Figura 1. Filamentos tubulares (Hifas)</i>	<i>32</i>
<i>Figura 2. Estructuras somáticas</i>	<i>33</i>
<i>Figura 3. Formación de Zigosporas por hifas no septados.....</i>	<i>35</i>
<i>figura 4. Morfología macroscópica y microscópica de Penicillium spp.</i>	<i>41</i>
<i>Figura 5. Morfología macroscópica y microscópica de Aspergillus</i>	<i>41</i>
<i>Figura 6. Morfología macroscópica y microscópica de Fusarium.</i>	<i>42</i>
<i>Figura 7. Estructura química de aflatoxinas.....</i>	<i>50</i>
<i>Figura 8. Mecanismo de Acción de Aflatoxina B1</i>	<i>51</i>
<i>Figura 9. Estructura química de las fumonisinas</i>	<i>54</i>
<i>Figura 10. Ciclo de la esfingomielina</i>	<i>55</i>

Indice de tablas

<i>Tabla 1. Tipos de moles mexicanos</i>	<i>15</i>
<i>Tabla 2. Ingredientes empleados en la elaboración de moles</i>	<i>22</i>
<i>Tabla 3. Formulación para la elaboración de mole negro</i>	<i>23</i>
<i>Tabla 4. Formulación para la elaboración de mole poblano</i>	<i>24</i>
<i>Tabla 5. Formulación para la elaboración de mole almendrado</i>	<i>26</i>
<i>Tabla 6. Especificaciones microbiológicas para el uso de la Marca Oficial México Calidad Suprema</i>	<i>30</i>
<i>Tabla 7. Especificaciones fisicoquímicas para uso de la Marca Oficial México Calidad Suprema</i>	<i>30</i>
<i>Tabla 8. Especificaciones de materia extraña para Marca Oficial México Calidad Suprema</i>	<i>30</i>
<i>Tabla 9. Especificaciones sensoriales para el uso de la Marca México Calidad Suprema</i>	<i>30</i>
<i>Tabla 10. Tipos de esporas que presentan los mohos</i>	<i>34</i>
<i>Tabla 11. Principales géneros productores de micotoxinas.....</i>	<i>39</i>
<i>Tabla 12. Especies productoras de micotoxinas en los alimentos</i>	<i>45</i>
<i>Tabla 13. Principales efectos fisiopatológicos producidos por las micotoxinas</i>	<i>46</i>
<i>Tabla 14. Factores determinantes en la producción de micotoxinas</i>	<i>48</i>
<i>Tabla 15. Metodologías de extracción de micotoxinas</i>	<i>57</i>
<i>Tabla 16. Metodologías presuntivas para micotoxinas.....</i>	<i>58</i>
<i>Tabla 17. Límites permitidos para micotoxinas en diferentes países.....</i>	<i>60</i>
<i>Tabla 18. Resultados de la identificación de micobiota micótica en moles a granel</i>	<i>70</i>
<i>Tabla 19. Géneros aislados y características observadas.</i>	<i>71</i>
<i>Tabla 20. Resultados de Análisis Microbiológico de moles a granel</i>	<i>77</i>
<i>Tabla 21. Análisis de varianza para las determinaciones microbiológicas en moles</i>	<i>81</i>
<i>Tabla 22. Resultados de análisis de Aflatoxinas en moles a granel</i>	<i>83</i>
<i>Tabla 23. Análisis de varianza realizado para Aflatoxinas en moles</i>	<i>85</i>
<i>Tabla 24. Resultados de análisis de Fumonisinias en moles a granel</i>	<i>88</i>
<i>Tabla 25. Análisis de varianza realizado para Fumonisinias en moles</i>	<i>90</i>

Indice de Diagramas

<i>Diagrama 1. Clasificación y tipos de mole elaborados en México</i>	<i>19</i>
<i>Diagrama 2. Diagrama de bloques para la elaboración de mole negro.</i>	<i>23</i>
<i>Diagrama 3. Diagrama de bloques para la elaboración de mole poblano</i>	<i>25</i>
<i>Diagrama 4. Diagrama de bloques para la elaboración de mole almendrado</i>	<i>26</i>

Indice de Gráficos

<i>Gráfica 1. Consumo del mole en México</i>	<i>20</i>
<i>Gráfica 2. Distribución del consumo nacional de moles en México</i>	<i>21</i>
<i>Gráfica 3. Distribución de géneros encontrados en el aislamiento de cepas</i>	<i>73</i>
<i>Gráfica 4. Interacción de variables para mesófilos aerobios en moles</i>	<i>78</i>
<i>Gráfica 5. Interacción de variables para HL en moles</i>	<i>79</i>
<i>Gráfica 6. Efectos principales para Coliformes en moles</i>	<i>80</i>
<i>Gráfica 7. Interacción de los factores con las Aflatoxinas.....</i>	<i>85</i>
<i>Gráfica 8. Principales efectos de las variables con las Fumonisinás</i>	<i>89</i>

RESUMEN

El mole es un platillo tradicional en la dieta del mexicano, su historia se remonta a la época precolombina, existe una gran variedad de moles de diversos colores y sabores, entre otros: mole verde, mole poblano, mole negro, mole almendrado. En las formulaciones se han empleado semillas como ajonjolí, cacahuete, almendras, maíz, chile entre otros ingredientes de diversas calidades para su elaboración, lo cual ha podido contribuir a la contaminación del alimento; esto aunado a la escasa inspección de los materiales y la falta de capacitación en Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) contribuyen a que exista una falta de calidad e inocuidad en este platillo. Por otra parte se puede inferir el manejo que ha tenido el alimento realizando diversas determinaciones microbiológicas (microflora micótica) y así determinar la raíz de dicha contaminación. Estudios previos en diversos laboratorios, han detectado la presencia de micotoxinas (Aflatoxinas y Fumonisinias) en alimentos (Chiles secos, cereales y otros platillos) y sus hongos productores. Se muestrearon 3 tipos de moles en polvo y pasta a granel de 4 centrales de abasto de la zona metropolitana de la ciudad de México, en 2 épocas del año diferentes. La determinación de aflatoxinas y fumonisinias, se realizó empleando columnas de inmunoafinidad Aflatest y Fumonitest respectivamente, con lecturas en un Fluorómetro Vicam Serie IV, todas las determinaciones se realizaron por triplicado. La determinaciones microbiológicas se realizaron aplicando normas oficiales. Se aislaron y purificarón las cepas de los hongos en viales para su posterior identificación. El total de las muestras arrojaron la presencia de aflatoxinas en concentraciones de 0.30 a 8.3 ppb y de 4.1 a 19.2 ppb para moles en pasta y polvo respectivamente así como de 0.36 a 8.2 ppm y 0.28 a 6.5 ppm para fumonisinias igualmente. Los resultados microbiológicos marcan 3 muestras fuera de especificación en mesofílicos aerobios (Incontable), 1 muestra en mohos y levaduras y otra en coliformes para moles en pasta, mientras que en moles en polvo marcan 6 muestras fuera de especificación en mesofílicos aerobios (Incontable), 3 muestras en mohos y levaduras y 1 muestra en coliformes totales comparado con lo estipulado en el Pliego de Condiciones México Calidad Suprema PC-019-2004. Por otra parte se encontró que el 38% de las cepas eran procedentes de almacén, el 17% de medio ambiente, el 16% cepas de campo, 10% microflora contaminante y el 12% fueron de deterioro avanzado.

1. INTRODUCCIÓN

En México existe una gran diversidad de alimentos, pero pocos son tan significativos como lo es el chile, el cual es consumido y comercializado de diversas formas, como lo es en fresco, en conserva, deshidratado o en diversos subproductos como adobos, pipianes, moles, salsas y guisos (Long-Solís, 1998). El consumo per cápita del chile entre los mexicanos es de 7 kg. (AMSDA-INIFAP, 2012) y se ha reportado que el 50% de la producción nacional de primera y segunda calidad se utiliza en la elaboración de moles (Gómez & Schwentesius, 1994)

El mole se considera un orgullo nacional y resume la enorme tradición culinaria del país; su origen se ha perdido en la leyenda, sin embargo no es un producto de la casualidad, sino ha sido el resultado de un proceso de mestizaje culinario iniciado desde la época prehispánica y perfeccionada en la colonia. (Santillan, 2010)

El mole mexicano se define como: “El producto alimenticio de color y aspecto variable según su composición, que contiene como ingredientes básicos: chiles, agua, aceites y/o grasas comestibles, harinas, féculas, almidones, sal, especias, condimentos, así como otros ingredientes opcionales (cacao, chocolate, cacahuete, nueces, pasas, almendras, avellanas, tortillas, pan, consomé, jitomate y plátano macho)” (PC-019, 2004). Por la diversidad de ingredientes contenidos en el mole así como el mal manejo de estos en la producción y almacenamiento, se pueden generar contaminaciones por microorganismos, entre ellos hongos, bacterias e insectos, exponiendo al consumidor a enfermedades e intoxicaciones.

Los hongos microscópicos o mohos presentan una gran capacidad de adaptación a diversos sustratos. La necesidad de controlarlos deriva del riesgo que implica su desarrollo en diversos alimentos para humanos y animales, ya que pueden contribuir a su descomposición, además de que un elevado número de especies presentan la capacidad de generar micotoxinas (Soriano del Castillo, 2007). Los géneros productores de micotoxinas más importantes son: *Fusarium*, *Aspergillus* y *Penicillium* y a su vez son los que más abundan en estos sustratos. (Pascual, 1999)

Las micotoxinas son metabolitos secundarios producidos por algunos hongos que representan una amenaza debido a su gran toxicidad y prevalencia, dentro de las más

conocidas están las aflatoxinas que son las toxinas producidas principalmente por *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus*, éstas toxinas son hepatotóxicas y están clasificadas como compuestos carcinógenicos (FAO, 2004), otro tipo de micotoxinas que afectan a los cereales son las fumonisinas que son producidas por *Fusarium moniliforme*, *Fusarium verticillioides* y *Fusarium proliferatum*, considerados hongos de campo y que también han sido reportadas con altos grados de toxicidad (Moreno & Gil, 1991)

Tomando en cuenta estudios previos realizados en el LTCA de la FESC/UNAM, donde se cuantificó la presencia de ambos tipos de micotoxinas en chiles secos, materia prima empleada en la elaboración de moles, se consideró de gran interés diagnosticar moles en pasta y moles en polvo a la venta en diversas centrales de abastos de la zona metropolitana de la ciudad de México en dos épocas del año para diagnosticar el problema de contaminación en el proceso de elaboración y comercialización del mole.

Antecedentes

2. ANTECEDENTES

2.1. El mole

El término mole hace referencia a varios platillos de la cocina mexicana. El origen de la palabra aún es un misterio, es probable que provenga del término molli o mulli que en su aceptación original se aplica a cualquier salsa. Aunque en su significado actual se refiere específicamente a un grupo de platillos que tienen algunos elementos en común, como el hecho de prepararse a base de chiles, carnes rojas o aves, así como en salsas espesas que pueden ser relativamente simples, hasta bastante complejas en su elaboración (Chapa, 2005)

El mole tiene origen prehispánico, pero su ámbito actual más importante está en el estado central de Puebla (de allí lo de “mole poblano”), donde se disfrutó en los conventos coloniales antes de salir a conquistar el paladar del resto de país (Santillan, 2010). Es por eso que el mole poblano es el más conocido en México, aunque está lejos de ser el único, ya que existen algunos otros como se muestra en la tabla 1.

Tabla 1. Tipos de moles mexicanos

Mole almendrado	Ayomole	Chichilo	Chilmole
Mole oaxaqueño	Mancamanteles	Mole amarillo	Mole campesino
Mole coloradito	Mole Rojo	Mole de calderas	Mole de chilapa
Mole de chito	Mole de fiesta	Mole de iguana	Mole prieto
Mole de piñon	Mole de ladrillo	Mole de pimienta	Mole de queso
Mole de revuelto	Mole de xico	Mole estilo morelos	Mole mixteco
Mole negro	Mole poblano	Mole queretano	Mole ranchero
Mole verde	Mole michoacano	Pascal	Pipian rojo
Pipian Verde	Remole	Texmole	Tlatonile

El mole es un producto que se caracteriza por la abundancia de chiles y de especias con las que es preparado. Generalmente se requieren de más de 20 ingredientes, que van desde diversos chiles hasta el chocolate para atemperar el grado de picor. (Gironella DeÁngel, 1999)

2.1.1. Definición

Algunas bibliografías mencionan que el origen de la palabra mole proviene del latín que significa una cosa grande (una mole), grandes corpulencias este concepto probablemente se aplico a las salsas cuando éstas llevaban un gran número de ingredientes más o menos secretos.

Sin embargo el definir un platillo tan tradicional y diverso es complicado, por lo que algunos autores lo mencionan de la siguiente manera.

- ✚ “Salsa espesa o pasta preparada con diversos chiles, tomates o jitomates y muchos otros elementos y condimento” (Morales de León, 1989).
- ✚ “El mole se conocía ya en tiempo de los indígenas prehispánicos Molli o mulli, significaba simplemente salsa o condimento, y consistía en una salsa espesa, confeccionada con chiles, tomates rojos, pepitas de calabaza molidas masa de maíz y otros ingredientes. En esa salsa se bañaban y cocinaban piezas de guojolote y otras aves, y aún de otros animales” (García Rivas, 1992).
- ✚ “Salsa prehispánica elaborada a base de chiles y especias, de la que existen múltiples variedades. Según la región adquiere su toque distintivo y recibe diferentes nombres: mole de olla, negro, amarillo, rojo, verde, poblano o oaxaqueño, entre otros” (Quintana, 1992).

Para efectos del presente estudio, se considera mole como: “El producto alimenticio de color y aspecto variable según su composición, que contiene como ingredientes básicos: chiles, agua, aceites y/o grasas comestibles, harinas, féculas, almidones, sal, especias, condimentos, así como otros ingredientes opcionales (cacao, chocolate, cacahuete, nueces, pasas, almendras, avellanas, tortillas, pan, consomé, jitomate y plátano macho)” (PC-019, 2004).

2.1.2. El mole y su historia

Es difícil precisar a ciencia cierta el origen de tan tradicional platillo, después de todo, la cocina mexicana es el resultado del lento proceso culinario iniciado desde la época

pehispánica y perfeccionado en la colonia. El mole se convirtió en un platillo mestizo al que se le añadieron ingredientes asiáticos y europeos que trajeron los españoles, como clavo, canela, pimienta y almendra.

Algunas crónicas de la conquista menciona el siglo XVI como el antecedente directo de lo que hoy conocemos como la cocina mexicana.

La cocina constituye un elemento fundamental en la cultura mexicana, por lo que alrededor de ella se genera un gran número de leyendas y tradiciones como lo ha sido el surgimiento del mole. (Radyx H., 2008)

Los historiadores coinciden en afirmar que el mole es originario del estado de Puebla y específicamente del convento de Santa Rosa en la ciudad de Puebla. Incluso algunos cronistas mencionan que Sor Andrea de la Asunción, una religiosa dominica lo inventó para algún virrey visitante de la ciudad durante la época colonial, ella pretendía impresionar hasta al mismo obispo, así que dispuso de las cosas, convenientemente comenzó por tomar chile ancho, mulato, pasilla, unos chipotles que desveno y doró en manteca. Por otro lado puso un comal en la lumbre, en donde tostó un poco de ajonjolí, cogió unos clavos de guisar, unas pimientos, almendras, cacahuates, canela, anís y molió todo junto. A estos ingredientes agregó dos tablillas de chocolate, unos jitomates, cebolla, ajo asado y unas tortillas de maíz que también pasaron por la molienda y como en la víspera había matado un guajolote engordado con castaña y avellana, completo el guiso con tan sabroso caldo y apetecible carne, y de aquí que obtuvo el complicado menjurje del mole poblano. (Lomelí, 1991)

2.1.3. Tipos de moles

Existen diversas clasificaciones del mole. Hay autores que lo clasifican de acuerdo al color, sabor, textura, ingredientes o lugar donde es elaborado. (Ver diagrama 1)

La clasificación de los moles se vuelve más compleja por el hecho de que algunos autores y en algunas regiones proponen que se incluya dentro de la clasificación una serie de platillos en la categoría de los moles. (Radyx H., 2008)

Algunos de los más importantes se mencionan a continuación:

Poblano: El mole poblano representa ahora la cumbre de los moles y se elabora con la carne de guajolote, en una espesa salsa que es la combinación perfecta de chiles ancho mulato, pasilla y chipotle tostados y otros ingredientes. Los antiguos indígenas comían este mole, y el poblano es solo una versión más moderna y barroca (García Rivas, 1992).

Almendrado: Mole tradicional elaborado en San Pedro Atocpan a base chiles, frutas, especias, harinas, chocolates, semillas y en especial de almendras que le da un sabor especial al guiso.

Negro: El rey de los moles. Obtiene su color negro porque los chiles se tuestan hasta quedar oscuros y se queman las semillas. Tiene más de 25 ingredientes y es uno de los dos moles que contienen un trocito de chocolate (Trilling, 2003).

Rojo: Originalmente llamado tlemole (clemole), de este mole se tiene registro desde que los españoles llegaron a México y es uno de los más picantes y condimentados. Se usa en el pozole mixteco y en la salsa para enchiladas

Mole verde: Mole de hierbas frescas que se hace con chiles y tomates verdes, hierbas y tomatillos. Por lo regular se hace con carne de puerco y frijol blanco y se espesa con masa.

Mole de pasta: Todos los ingredientes para preparar el mole se fríen hasta que se secan, posteriormente se muelen con aceite hasta realizar una pasta. Esta pasta concentrada se reconstituye con tomates, tomatillos y caldo (Trilling, 2003).

CLASIFICACIÓN DE LOS MOLES

DE ACUERDO A

COLOR

Existe una diversidad de moles con diferencia en el color y modo de preparación, el color dependerá de los tipos de ingredientes, chiles y especias. (Chapa 2005, Taibo, 1981)

Amarillo
Verde
Blanco
Mole Mulato
Mole Prieto
Mole Negro

VISCOSIDAD

La diversidad en texturas de moles es muy grande, algunos son viscosos, otros mas consistentes. En general esta propiedad esta dada por la cantidad y tipo de ingredientes

Chimoles y moles Caldosos:
Moles ligeros
Semi espesos
Aterciopelados

LUGAR DE ELABORACIÓN

México, es una mina de oro en cuanto a gastronomía se refiere, ya que cuenta con una gran variedad de platillos e ingredientes. (Chairez, 2000)

AGS: M. colorado, M. Ags. y tentación de M. **B.C.:** Mole cas. **CAMP:** Chilmole, M. estilo Camp. **CHIS:** M. fronterizo, M. de frutas. **CHIH:** M. adobado, M. ranch queso, M. asadero. **COAH:** M. lagunero y M. Vde. Coah. **COL.:** M. de iguana, pipian Vde. Col. **DF:** M. vde, M. capitalino, guacamole. **DGO:** Pipian rojo. **GTO:** Pipián con xoconostle, P. Vde, M. francachela, M. de fresas y M. Vde del Insurg. **GRO:** M. rosa de Taxco, ayomole, M. vde, M. rojo, M. de tierra cal, y M. bravo. **HGO:** M. de olla. **JAL:** Manch, M. Tapatío. **MICH:** guacamole, manchamanteles, M. Mich. **MOR:** M. colorado, guaxmole, M. estilo mor. **NAY:** Pollo en pipian. **N.L.:** Gallina en M. **OAX:** Los 7 M. Oax. **PBLA:** M. de Gte, M. Poblano, M. Sor Andrea, M. de Sta. Clara, Manch., M. de Cadera, M. de yerbabuena, 9 moles, Ayomole, Pipian. **QRO:** M. qro, **QROO:** Chilmole de frijol, Pipian, Raton adobado. **SIN.:** Chilorio, M. Sin., **SON:** M. sonorenses, Chile ranchero, M. de frijoles. **TABAS:** Mole Tabas. **TLAX:** Prieto, rojo, vde, pipianes. **VRZ:** M. de xico, M. de quelite, M. granito de maíz. M. de camarón. **YUC:** Pipian, chimole, recado. **ZAC:** M. Z., Manch, M. de chile pasilla, M. de Chilpetín, M. campirano, M. de pepita.

AGS: Aguascalientes
B.C.: Baja California
CAMP.: Campeche
CHIS.: Chiapas
CHIH.: Chihuahua
COAH.: Coahuila
COL.: Colima
D.F.: Distrito Federal
DGO.: Durango
GTO.: Guanajuato
GRO.: Guerrero
HGO: Hidalgo
JAL.: Jalisco
MICH.: Michoacan

MOR.: Morelos
NAY.: Nayarit
N.L.: Nuevo León
OAX.: Oaxaca
PBLA.: Puebla
QRO.: Querétaro
QROO.: Quintanaroo
SIN.: Sinaloa
SON.: Sonora
TABAS.: Tabasco
TLAX.: Tlaxcala
VRZ.: Veracruz
YUC.: Yucatán
ZAC.: Zacatecas

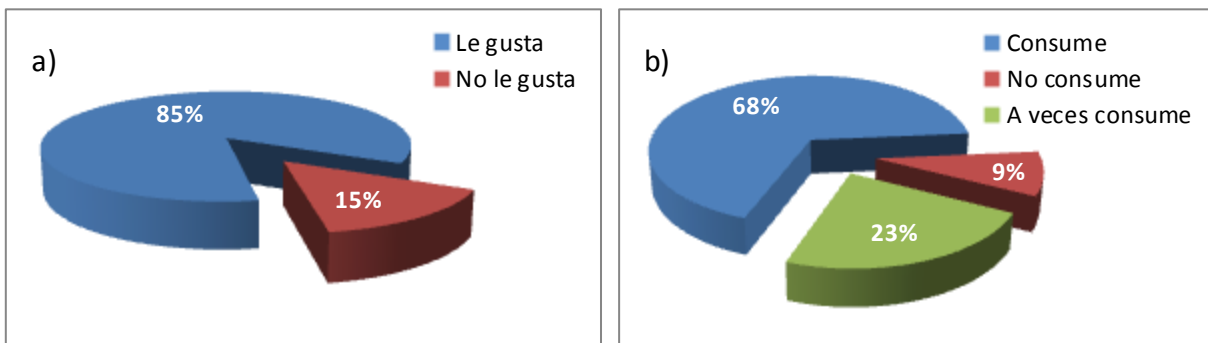
Diagrama 1. Clasificación y tipos de mole elaborados en México

2.1.4. El consumo del mole en México

Existen pocas estadísticas sobre el consumo del mole, se sabe que desde su surgimiento hasta el día de hoy sigue presente elaborándose de forma tradicional, medio tradicional e industrial pero siempre conservando el sabor, aroma y textura característicos de este.

A su vez, es difícil precisar el consumo per cápita del mole, ya que se tienen muy pocos registros de los talleres, pequeñas y medianas empresas elaboradoras de este producto, así como de las variedades de fabricación, esto y el continuo crecimiento de productores informales que incrementan aún más la producción, dificultan el calcular oficialmente dicho consumo. Sin embargo se han desarrollado diversos estudios para indagar el consumo del mole en México, algunos de los cuales mencionan que al 85% de la población mexicana le gusta el mole, de la cual el 68% lo consume cotidianamente, y el 9% del total no lo consume, como se muestra en la grafica 1.

Gráfica 1. Consumo del mole en México

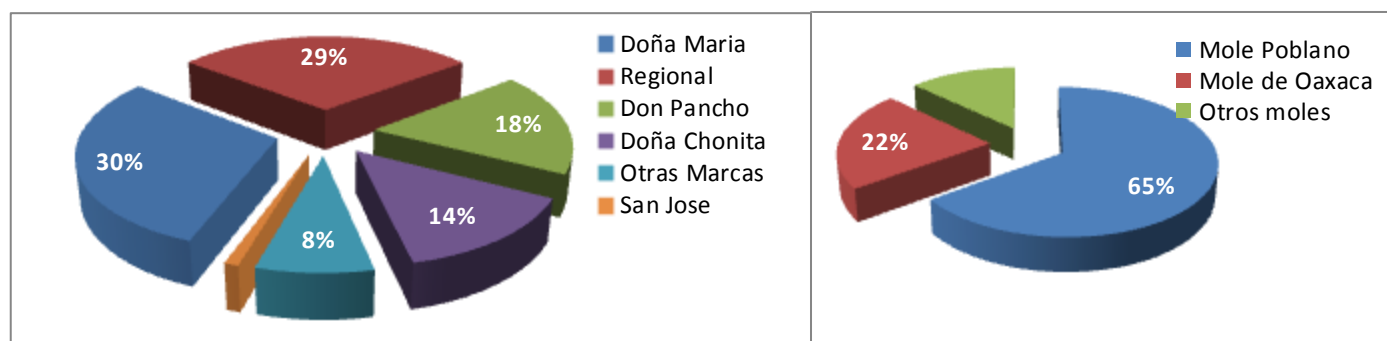


Fuente: Elaborado con información de Ballesteros *et al*, 2010

Aunque no es posible generalizar este consumo entre todos los mexicanos ya que influyen otros factores como lo son: la región del país (existe mayor impacto en la zona sur, centro y bajío), la situación económica, la época del año e incluso la edad. Algunos productores mencionan que su producción varía de acuerdo a la época del año, pues en verano disminuye pero en invierno se incrementa, teniendo también un incremento en días festivos y finales de año.

Según el mismo estudio el consumo nacional esta distribuido como se muestra en la Gráfica 2.

Gráfica 2. Distribución del consumo nacional de moles en México



Fuente: Elaborado con información de Ballesteros *et al*, 2010

En México las personas mayores de 30 años, en un 80% comen mole, en cambio las nuevas generaciones (de 6 a 25 años) prefieren la comida rápida, sin embargo el consumo estimado de mole para la temporada decembrina del 2008 fue de 440 toneladas.

El mole doña María es líder en el mercado con un 30%, el 29% de la población lo adquiere regionalmente o en centrales de abasto. El mole preferido por la población es el Mole Poblano con un 65% seguido de un 22% por los moles oaxaqueños y en menor proporción otros tipos de moles.

El consumo nacional anual aparente de ese producto, de acuerdo a diversas técnicas de investigación de mercados tomando como universo la totalidad de familias de la republica mexicana (24, 803, 625 familias) es mas de 37, 000 ton / año. (Ballesteros, Fernández, & Hernández, 2010)

Entre 2006 – 2008, el mole se ha diversificado en varios productos como pizza, trufas de chocolate rellenas de mole entre otras, en la cocina italiana se ha utilizado para platillos como espagueti, lasaña, no sin olvidar los tradicionales como lo son: mole con pato, mole con pollo o guajolote, enmoladas, chilaquiles, hongos con mole, tamales con mole, etc., algunas personas, se han abocado a transformar su platillo en un negocio y han solicitado asesoría para incluso venderlo fuera del país.

2.1.5. Proceso de elaboración del mole Poblano, Negro y Almendrado.

En la actualidad existen diversas recetas para la elaboración de moles en México, y la variedad de estas hacen mas complicado el proceso de fabricación, sin embargo, en estudios

previos se han encontrado coincidencias en los distintos ingredientes y en los procesos de elaboración del mole. La esencia del mole se encuentra en los ingredientes y en estos el misterio de su sabor es por eso que es importante la descripción de ellos. (Ver Anexo 1)

Las recetas se han ido adaptando a los diferentes estilos de vida de la población, esto debido a las necesidades actuales de los consumidores, por lo que los ingredientes han cambiado por algunos más viables de conseguir. Existen 37 ingredientes presentes en el mole negro, 36 en el poblano y 30 en el almendrado sin embargo algunos son más significativos que otros. En la tabla 2 se muestran algunos de los ingredientes empleados en la elaboración de moles para su análisis se agruparon según sus características y semejanzas, algunos de forma botánica.

Tabla 2. Ingredientes empleados en la elaboración de moles

Grupo	Ingrediente
Chile	Ancho, Negro, chipotle, costeño, guajillo, mulato y pasilla
Edulcorante	Azúcar
Especias	Ajonjolí, canela, clavo, pimienta, romero, tomillo, Anís
Espesante	Galleta, pan y tortilla
Fruto	Plátano macho, jengibre, tomate, tomatillo y jitomate.
Fruto Seco	Almendra, cacahuate, ciruela pasa y nuez
Grasa	Aceite, Manteca
Hortaliza	Ajo, cebolla, hoja de aguacate, zanahoria y orégano
Otros	Chocolate

Fuente: Modificado de (Radyx H., 2008)

2.1.5.1. Proceso de Elaboración de Mole Negro

El mole negro es uno de los moles más tradicionales de los 7 moles oaxaqueños.

A través del tiempo se han desarrollado diversas tecnologías para la elaboración e industrialización del mole, sin embargo todas tienen un principio general. En la primera etapa se recibe la materia prima, seguida del almacenamiento. Segunda etapa: de acondicionamiento de la materia prima. Tercera etapa: Freído por inmersión, el alimento se ingresa cuando esta entre 175°C y 200°C. Cuarta etapa: Molido y mezclado de ingredientes con el agua y eliminación de materia no deseable. (Cruz, 2003). En el diagrama 2 se muestra el diagrama de bloques para la elaboración de mole negro.

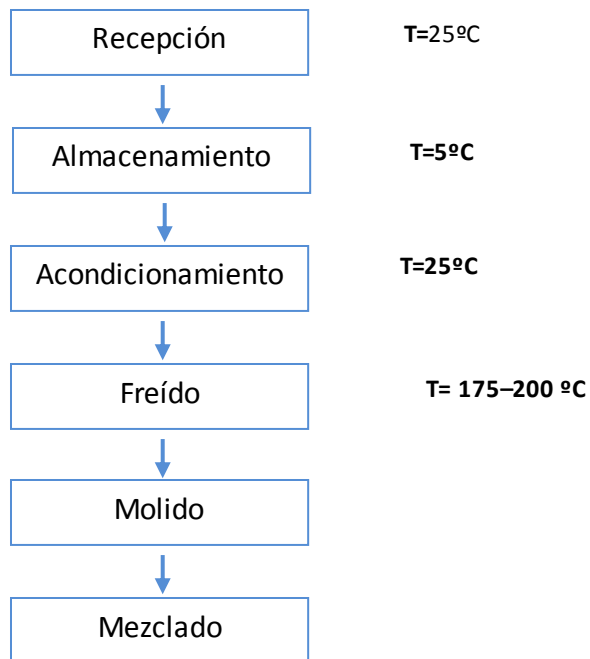


Diagrama 2. Diagrama de bloques para la elaboración de mole negro.

En la tabla 3 se puede observar la formulación del mole negro oaxaqueño y la combinación temperatura - tiempo a la que se someten los distintos ingredientes durante su elaboración.

Tabla 3. Formulación para la elaboración de mole negro

Materia prima	Porcentaje (%)	Temp. (°C)	Tiempo (seg)	Materia prima	Porcentaje (%)	Temp. (°C)	Tiempo (seg)
Ajo	0.184	138.4	12	Chocolate	1.2292	162.70	30
Ajonjolí	1.229	138.4	12	Jitomate	4.3023	-	-
Agua	67.609	-	-	Laurel	0.0614	138.42	12
Azúcar	0.3073	138.4	12	Manteca	8.7277	-	-
Cacahuate	3.0731	162.7	30	Mejorana	0.0614	-	-
Canela	0.2458	138.4	12	Orégano	0.1843	138.42	12
Cebolla	1.1063	138.4	12	Plátano Macho	1.8438	155	22
Clavo	0.0614	138.4	12	Pimienta Ngra.	0.0614	138.42	12
Chile Ancho	2.8272	141.6	15	Sal	0.3073	138.42	12
Chile Pasilla	2.8272	141.6	15	Conino	0.0614	138.42	12
Chile Mulato	3.6877	141.6	15	Total	100	-	-

Fuente: Cruz, T. A. (2003). Desarrollo de una tecnología para la elaboración de mole negro. México: ENCB - IPN.

2.1.5.3. Elaboración de mole poblano.

Actualmente el mole poblano es el mole más conocido, originario de Puebla y elaborado con una combinación de chiles tostados, y otras especias.

El consumo del mole poblano, ha rebasado los límites del estado e incluso del país, por lo que la formulación original se ha perdido en el tiempo, sin embargo en la actualidad existen muchas recetas que reseñan la elaboración de este. En la tabla 4 se muestra una formulación para la elaboración de mole poblano.

Tabla 4. Formulación para la elaboración de mole poblano

Ingredientes	Porcentaje %	Ingredientes	Porcentaje %
Chile mulato	19.404	Pan tostado	3.880
Chile ancho	6.468	Chocolate	5.821
Chile chipotle	6.468	Ajo sin cáscara	1.034
Chile pasilla	6.468	Canela	5.174
Cacahuete picado	6.468	Anís	1.940
Ajonjolí tostado	6.468	Pimienta	1.940
Almendras sin cáscara	6.468	Tortilla	2.587
Nueces sin cáscara	6.468	Cebolla picada	5.174
Pasas	6.468	Sal	1.293

Fuente: Modificado de Cruz, T. A. (2003). *Desarrollo de una tecnología para la elaboración de mole negro.*

México: ENCB – IPN.

Para la realización del mole poblano se sigue el procedimiento marcado en el Diagrama 3.

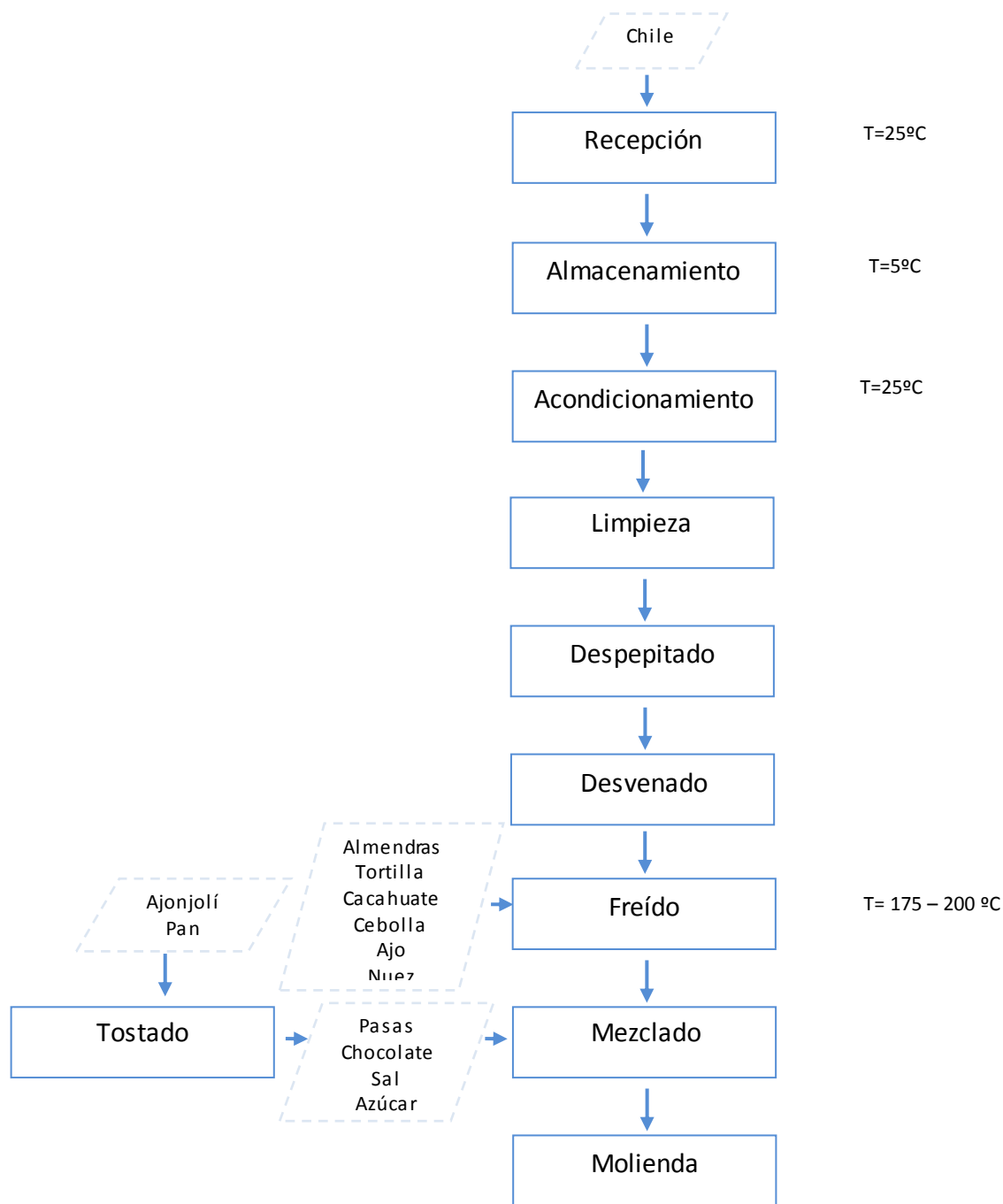


Diagrama 3. Diagrama de bloques para la elaboración de mole poblano

2.1.5.4. Elaboración de mole Almendrado.

El mole almendrado es originario de Oaxaca aunque el más popular es el creado en San Pedro Atocpan, D.F. basado en la receta original y adecuada a los paladares más exigentes. Este no es un mole muy picoso y conserva un olor y aroma exquisitos. En la Tabla 5 se presenta la formulación para la elaboración de mole almendrado.

Tabla 5. Formulación para la elaboración de mole almendrado

Ingredientes	Porcentaje %	Ingredientes	Porcentaje %
Chile Mulato	4.357	Sal	4.357
Chile Ancho	34.858	Chocolate	4.357
Chile Pasilla	4.357	Pimienta Molida	2.178
Chile Morita	4.357	Comino	0.435
Ajonjolí	4.357	Semillas de Calabaza	2.178
Tostadas	2.178	Cebolla	3.485
Avellana	2.178	Galletas sabor vainilla	2.178
Plátano Macho	2.178	Nuez pelada	2.178
Bolillo Seco	2.178	Cacahuete	2.178
Almendras	2.178	Pasas	2.178
Azúcar	10.893	Ajo	0.217

En la demarcación existen mas de 50 molinos que compiten entre si por preparar el mejor mole almendrado del mundo, unos de los procesos para la elaboración de este es mencionado en el diagrama 4.

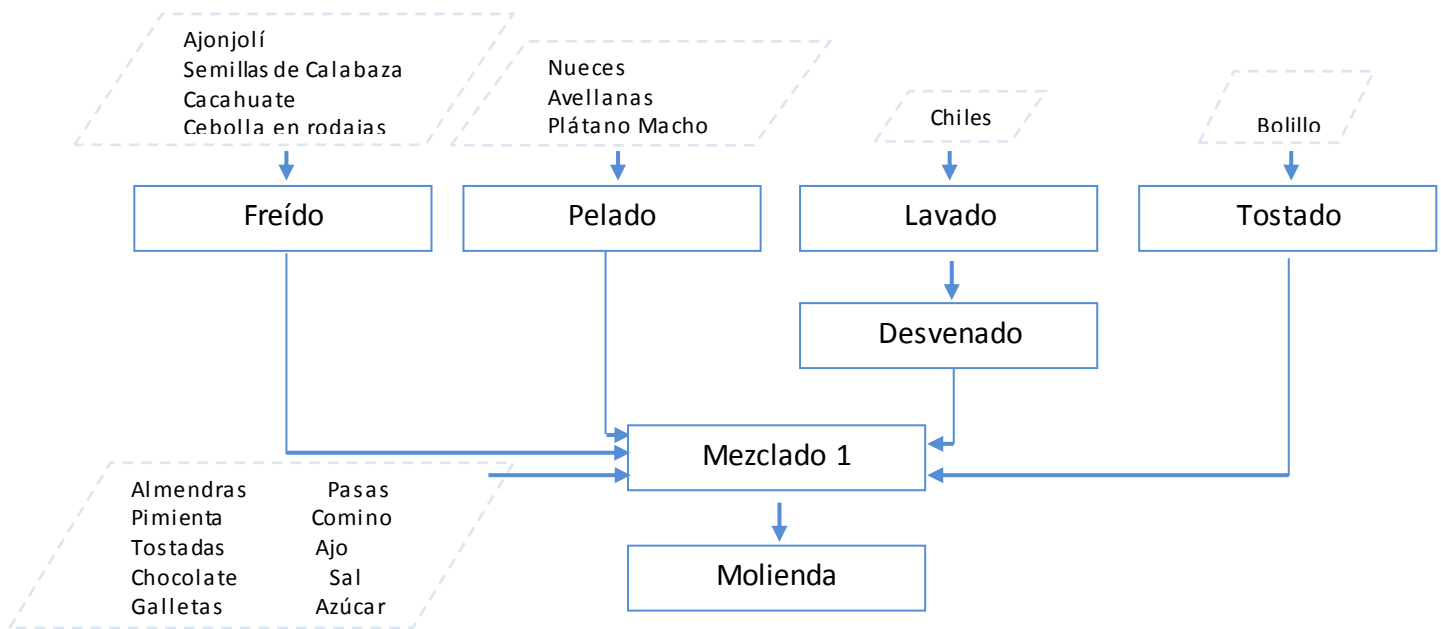


Diagrama 4. Diagrama de bloques para la elaboración de mole almendrado

2.1.6. Industrialización del mole

Desde los orígenes de la raza humana, los alimentos han sido producidos para satisfacer las necesidades biológicas de la humanidad. El aumento mundial de la población, la concentración urbana y como consecuencia el incremento en la demanda de alimentos hicieron que se aplicaran nuevas tecnologías para lograr una elaboración a gran escala. (Cantu, 2001)

En el mundo actual, la cadena de producción y distribución de alimentos es cada vez más larga y en la mayoría de los casos los productos primarios agrícolas, pecuarios y pesqueros llegan hasta el consumidor luego de haber recorrido una larga serie de adiciones y transformaciones (FAO, 2007)

El mole, es un alimento procesado y compuesto por distintos ingredientes sometidos a una serie de procesos para su transformación el cual debido a su gran demanda ha tenido que ser producido en mayor escala. Actualmente existen muchas empresas dedicadas a este rubro las cuales han tenido que acelerar sus procesos, incluyendo nuevas tecnologías para obtener una mayor producción.

La industrialización del mole, ha crecido gradualmente desde sus orígenes en Puebla y Oaxaca hasta la creación de empresas en San Pedro Atocpan, D.F. y las recientes inclusiones de grandes empresas como “La costeña” o “Grupo Herdez” cuyos productos se distribuyen en todo el país e incluso en el mundo.

Las grandes empresas automatizan sus procesos para poder elaborar productos con mayor calidad, eficiencia e incrementar así su producción sin embargo en la actualidad pocas empresas moleras han estandarizado y controlado sus procesos para poder ofrecer productos con los estándares de calidad necesarios para ser exportados, las que lo han hecho han sometido sus ingredientes a un proceso de inspección en el cual son revisados rigurosamente para verificar que cumplan con los requisitos necesarios, también son almacenados de acuerdo a estándares de calidad y antes de llevar a cabo la elaboración, los chiles se sanitizan a través de la introducción en una cámara de etileno con el fin de eliminar microorganismos (Alonso F. , 2009).

2.1.7. Calidad e inocuidad del mole

En muchas de las empresas dedicadas a la elaboración de moles industrializados, los empleados carecen de adiestramiento y de supervisión en las BPM, lo anterior y la creciente exigencia de los consumidores por productos inocuos, han llevado a que las agencias gubernamentales desarrollen una mayor vigilancia para este rubro, lo cual pone bajo la lupa a los productores que tendrán gradualmente que ir modificando sus procesos de elaboración, las instalaciones donde se elaboran y la capacitación de su personal en las BPM (Santillan, 2010).

Actualmente la inocuidad de los alimentos se han convertido en uno de los temas de mayor preocupación debido a la información que brindan las agencias locales, federales e internacionales y, sobre todo, a los alcances que pueden tener las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA's) en virtud de la amplísima distribución de alimentos procesados. Dichas agencias regulan la inocuidad en los alimentos y han desarrollado nuevas leyes y reglamentos para eliminar, reducir o controlar las enfermedades ETA's y en general, los riesgos derivados del consumo de los alimentos (Weitzman, Cook, & Massey, 2001)

Un alimento inocuo es aquel que tiene la garantía de que no causar daño al consumidor cuando el mismo sea preparado de acuerdo con los requisitos higiénico-sanitarios, e ingerido de acuerdo con el uso a que se destine. Evidentemente la garantía proviene de todos los involucrados en su elaboración. (Codex Alimentarius, 2009)

2.1.8. Normatividad

Existen muy pocas normas a nivel nacional para el mole, solo una la norma NMX-F-422-1982 "Productos alimenticios para uso humano- alimentos regionales- mole y sus variedades. Esta norma determina las especificaciones que debe reunir el mole y sus variedades destinadas al consumo humano: fisicoquímicas, microbiológicas, materia extraña, sensoriales, uso de aditivo, además cita la definición, clasificación del mole y los métodos de muestreo cuando este se requiera. También se mencionan especificaciones de marcado, etiquetado, envase, embalaje y almacenamiento.

El pliego de condiciones PC-019-2004 retoma algunas de las especificaciones de la norma NMX-F-422-1982 mejorando los parámetros de calidad que el producto terminado debe tener.

Un pliego de condiciones para el uso de la Marca Oficial México Calidad Suprema en Mole es el PC-019-2004, en el cual se realiza una descripción de las especificaciones que debe cumplir el mole poblano para conseguir el sello de México Calidad Suprema, que lo identifique como un producto de calidad superior, este sello es propiedad del gobierno federal.

Este pliego incluye tres tipos de mole:

- ✚ Tipo 1. Mole en polvo granulado o comprimido. Polvo seco, granulado o comprimido de fácil suspensión.
- ✚ Tipo 2. Mole en pasta. Pasta semisólida de suavidad homogénea.
- ✚ Tipo 3. Mole líquido. Líquido semifluído o espeso de acuerdo a la variedad.

Los productos dentro de esta clasificación tienen un solo grado de calidad.

Los productores que pretendan obtener el distintivo de Calidad Suprema deben cumplir con las siguientes especificaciones:

- ✚ Buenas Prácticas de Manufactura (BPM)
- ✚ Requisitos de Calidad de la materia prima
- ✚ Requisitos de calidad del producto terminado:

Las especificaciones microbiológicas, fisicoquímicas, sensoriales y de materia extraña que debe de cumplir el producto terminado en cualquiera de sus presentaciones se detallan en las tablas 6, 7, 8 y 9.

Tabla 6. Especificaciones microbiológicas para el uso de la Marca Oficial México Calidad Suprema

Microorganismo	Tipo 1 Máx. permitido	Tipo 2 Máx. permitido	Tipo 3 Máx. permitido
Cuenta de mesofílicos aerobios	500, 000 UFC/g	500, 000 UFC/g	-
Coliformes totales	500 UFC/g	500 UFC/g	-
Hongos	500 UFC/g	500 UFC/g	-
Levaduras	500 UFC/g	500 UFC/g	-
Salmonella (25g)	Negativo	Negativo	-
Staphylococcus aureus (0.1g)	Negativo	Negativo	-
Cuenta de termofílicos anaerobios	-	Negativo	100 UFC/g
Cuenta de termofílicos aerobios.	-	Negativo	-

Tabla 7. Especificaciones fisicoquímicas para uso de la Marca Oficial México Calidad Suprema

Especificaciones	Tipo 1 Min-Máx.		Tipo 2 Min-Máx.		Tipo 3 Min-Máx.	
Humedad	-	8 %	-	8 %	-	85 %
Cenizas	-	11 %	-	11 %	-	3 %
Proteínas	8	- %	5	- %	1.2	- %
Fibra cruda	-	15 %	-	8 %	-	3.5 %
Extracto etéreo	10	- %	-	4.5 %	2	- %
pH	NA		6.5		4.5	5.5

Tabla 8. Especificaciones de materia extraña para Marca Oficial México Calidad Suprema

Especificación	Limite máximo permitido
Fragmentos de insecto	50
Insectos enteros	0
Pelos de roedor o algún animal	0
Otros adulterantes	0

Tabla 9. Especificaciones sensoriales para el uso de la Marca México Calidad Suprema

Parámetro	Descripción.
Consistencia	Tipo 1. Polvo seco, granulado, comprimido de fácil suspensión Tipo 2. Pasta semisólida de suavidad homogénea. Tipo 3. Líquido semifluido o espeso de acuerdo a la variedad.
Color	Característico de acuerdo a la variedad de la que se trate.
Olor	Característico de la variedad, no presentar signo de rancidez u otro olor
Sabor	Característico de la variedad, no presentar ningún sabor extraño.

Adicional a esto se mencionan algunos métodos de prueba, marcado, etiquetado, envasado y Embalaje del producto así como condiciones de almacenamiento, transporte y métodos de muestreo que deben emplearse para ello.

2.2. Hongos

2.2.1. Generalidades

Los hongos tienen una influencia directa sobre el bienestar del hombre; algunos son altamente beneficiosos (producción de antibióticos o biodegradadores) sin embargo otros son la principal causa de intoxicaciones y enfermedades en cultivos agrícolas.

Los hongos son organismos eucariotas multicelulares y filamentosos, constituidos por micelios verdaderos, sus núcleos son bien definidos por membranas y contienen un determinado número de cromosomas. Además carecen de clorofila y están formados por una serie de células alineadas y tubulares llamadas hifas. El micelio es el conjunto de hifas ramificadas, y resulta visible sobre el alimento, bien en superficie o en el interior, mediante un aspecto y color característicos (Soriano del Castillo, 2007).

Los hongos son heterótrofos, utilizan para su crecimiento una serie de sustancias químicas denominadas metabolitos primarios, como pueden ser ácidos nucleicos, proteínas, carbohidratos y lípidos principalmente obtenidos de sus actividades saprofiticas o parasíticas. El uso de estos metabolitos primarios se asocia con la fase de rápido crecimiento. (Carlile, Watkinson, & Gooday, 2001)

Los metabolitos secundarios son una serie de compuestos que no son esenciales para el crecimiento vegetativo en cultivo puro. Dentro de este grupo, tenemos a los antibióticos y a las micotoxinas. Las micotoxinas se suelen formar al final de la fase exponencial o al principio de la fase estacionaria del crecimiento del moho. (Larone, 1995)

2.2.2. Morfología

El cuerpo de los hongos esta constituido por filamentos tubulares microscópicos que se ramifican y se entrecruzan. Cada filamento se denomina hifa, y un conjunto de hifas forma lo que se conoce con el nombre de micelio. Las hifas de la mayoría de los hongos miden entre 5

y 10 μm . de diámetro y su longitud no es fija; oscilan desde pocos micrómetros hasta varios metros. Esta variación depende de la disponibilidad de nutrientes y del tipo de hongo. (García, 2004) (Figura 1.)

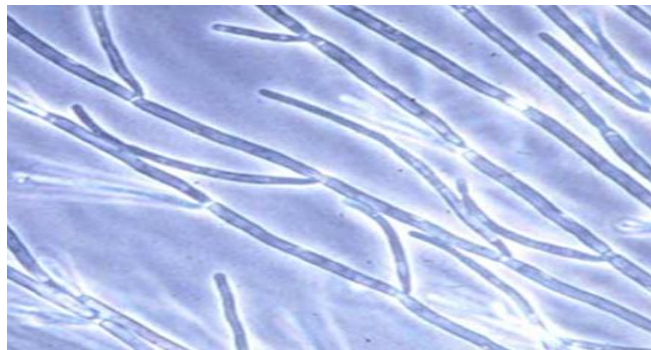


Figura 1. Filamentos tubulares (Hifas)

En la mayoría de los hongos, las hifas son claras (hialinas) o sin color (casi transparentes) cuando se observan al microscopio, pero vistas en conjunto se observan blancas y con ligeros tonos de color.

Las hifas de un hongo se pueden clasificar ya sea por su función o por la posición que ocupen en el medio donde se encuentran. De acuerdo con su función, pueden ser hifas vegetativas (de crecimiento, absorben nutrientes) o hifas fértiles (de reproducción) y, según su posición en el medio pueden ser hifas sumergidas o aéreas (Carrillo L. , 2003).

Los hongos, por su parte pueden clasificarse en dos grupos, según la estructura de sus hifas: los septados, cuyas hifas poseen tabiques transversales que las dividen en varias celdillas, y los no septados, en los que las hifas carecen de tabiques transversales (Ver figura 2). Las hifas no septadas poseen núcleos diseminados en toda su longitud. Las septadas pueden poseer uno o más núcleos en cada celdilla, pero existe un poro central en cada septo que permite que el citoplasma y los núcleos puedan pasar de un compartimento a otro. Por esta razón, aunque hay una diferencia morfológica entre las hifas septadas y las no septadas, todas las hifas pueden considerarse cenocíticas (Fraizer, 1993).

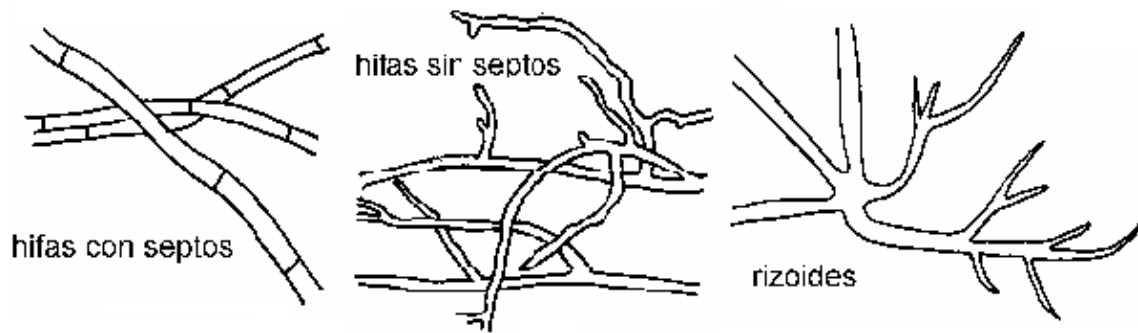


Figura 2. Estructuras somáticas

Fuente: (Carrillo L., 2003)

Al igual que las hifas que lo componen, el micelio puede ser vegetativo (sumergido) o fértil (aéreo). El micelio aéreo, en los hongos comunes, forma una maraña laxa poco compacta que le da al hongo un aspecto algodonoso. En otros como en las setas, el micelio aéreo da origen a estructuras compactas (Uribarren, Bazan, & Castañón, 2013).

Los hongos pueden desarrollarse a partir de cualquier fragmento de micelio, pero por lo general su reproducción se lleva a cabo por medio de esporas asexuales y la mayoría pueden producir, además esporas sexuales. Las esporas en los hongos tienen la función de asegurar la dispersión del hongo. La reproducción asexual de los hongos filamentosos se lleva a cabo por medio de esporas que germinan posteriormente. Debido a su función de diseminar la especie, estas esporas se producen en grandes cantidades y son pequeñas y livianas, por lo que el aire las dispersa fácilmente, y de esta manera se originan nuevos hongos en los lugares donde se encuentran condiciones favorables (Soboleva, Pleasants, & Le Roux, 2000).

Las esporas asexuales pueden formarse mediante dos mecanismos principales:

- En estructuras especializadas para tal fin, llamadas esporoforos
- En la fragmentación de las hifas, donde cada segmento constituye una espora.

Existen varios tipos de esporas en los hongos, algunas de ellas son las descritas en la tabla 10.

Tabla 10. Tipos de esporas que presentan los mohos

Nombre	Característica	Ejemplo de Moho	Figuras.
Esporangiosporas	En algunos hongos, la porción terminal del esporóforo forma un saco que se denomina esporangio; en este caso, el esporoforo se llama esporangióforo. Las esporas producidas dentro del esporangio se llaman esporangiosporas, y éstas se liberan al medio cuando el esporangio se rompe.	<u><i>Aspergillus spp.</i></u> <u><i>Rhizopus spp.</i></u>	
Conidiosporas	Cuando las esporas se forman libres en las puntas de las hifas se llaman conidias o conidiosporas. En este caso, la estructura especializada donde se forman se denomina conidióforo de los cuales existe una gran diversidad. La estructura de los conidióforos es característica del género. Las conidias pueden ser muy pequeñas, de unos 2 a 4 µm por lo que reciben el nombre de microconidias ó más grandes, llamadas macroconidias. Así mismo las conidias varían en tamaño, forma y color, y estas características son utilizadas para la clasificación de los hongos.	<u><i>Sporotrichum spp.</i></u> <u><i>Penicillium spp.</i></u>	
Artrosporas	Las artrosporas se forman por segmentación y posterior desarticulación de la hifa. Cuando los segmentos se separan, cada uno constituye una artrospora.	<u><i>Geotrichum spp.</i></u> <u><i>Coccidioides spp.</i></u>	
Clamidosporas	Se caracterizan por poseer una pared celular gruesa; de ahí su nombre de clamidosporas. La formación de estas esporas se da por engrosamiento de un segmento de la hifa, el cual se arredonda y produce la pared gruesa que las caracteriza, para luego desprenderse al medio.	<u><i>Fusarium</i></u> <u><i>oxysporum f. sp</i></u> <u><i>lyopeisici.</i></u>	

Fuente: Elaborado de García, C. V. (2004). *Introducción a la Microbiología* (Segunda Edición). Costa Rica: Editorial Universidad Estatal a Distancia.

La germinación consiste en una activación del metabolismo, seguido por un abultamiento de la espora de la cual se origina un pequeño tubo germinativo. El tubo se alarga hasta convertirse en una hifa que ramifica y continúa desarrollándose hasta dar lugar a un nuevo organismo.

Los hongos no septados producen zigosporas, al unirse las porciones apicales de dos hifas, frecuentemente indistinguibles y que pueden proceder del mismo o de diferente micelio, como se puede ver en la figura 3. En este tipo de esporas, la meiosis ocurre durante la germinación de la espora y la hifa que emerge produce un esporangio. Las esporas haploides que salen del esporangio dan origen a un micelio (Fraizer, 1993).

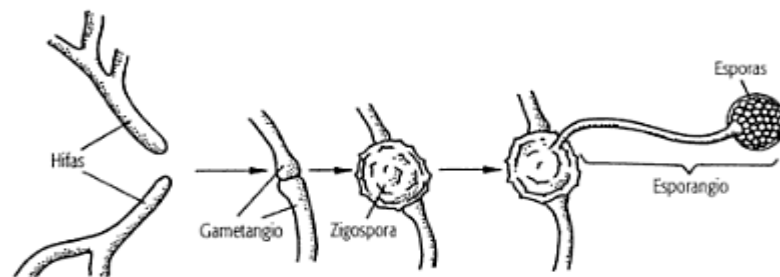


Figura 3. Formación de Zigosporas por hifas no septados

Fuente: (García, 2004)

2.2.3. Crecimiento

El crecimiento de los hongos es muy rápido y se produce en los extremos de las hifas, se denomina, crecimiento distal o apical. En este proceso, la hifa se va extendiendo y el citoplasma fluye hacia la nueva parte. Al crecer, también se van ramificando y cada ramificación, a su vez continúa con el crecimiento apical y así sucesivamente hasta que se forma una maraña visible de filamentos (Fraizer, 1993).

Junto con el crecimiento longitudinal, se produce la división nuclear, mediante el proceso de mitosis, que difiere poco del que presentan el resto de los organismos eucarióticos, y, además como se ha señalado, sin que ocurra división celular (Carrillo L. , 2003).

Los nutrientes necesarios para el crecimiento son obtenidos por absorción a través de la pared celular del micelio vegetativo que penetra al medio. Esos nutrientes deben

encontrare en forma soluble, por lo que el hongo secreta enzimas al medio para degradar los que son insolubles (Rebuffel, 1988).

2.2.4. Requerimientos nutricionales

Por su nutrición, los hongos poseen la capacidad de utilizar una gran variedad de materiales orgánicos, tanto sencillos como complejos. Los carbohidratos simples, como la glucosa, son una fuente de carbono apropiada para la mayoría de los hongos, así como la sacarosa y la maltosa. Otros compuestos de carbono más complejos, como el almidón la celulosa, pueden ser utilizados por muchos de ellos. Todos los hongos tienen, además la capacidad de utilizar nitrógeno orgánico, aunque algunas especies pueden usar nitrógeno inorgánico tal como las sales de amonio (Carrillo L. , 2003).

Para poder degradar y luego asimilar los compuestos orgánicos, los hongos, generalmente, pueden elaborar gran cantidad de enzimas hidrolíticas, como lipasas, pectinasas y proteinasas.

Para el cultivo de los hongos en el laboratorio se ha desarrollado una serie de medios de cultivo similares a los utilizados para las bacterias, y para evitar la contaminación de unos con otros, se han diseñado de tal manera que favorezcan el crecimiento de los hongos e inhiba el de las bacterias (pH, concentraciones de azúcar).

Existen varios tipos de medios de cultivo para hongos. Algunos son naturales como jugos de frutas, infusiones vegetales o granos de cereales. Estos se usan para realizar estudios especializados y no es frecuente su uso en estudios rutinarios. Otros medios son sintéticos (químicamente definidos) y generalmente están constituidos por algún carbohidrato, peptonas (producto de la degradación de proteínas) y agar. Uno de los más utilizados fue diseñado hace cerca de 100 años por Sabouraud y lleva su nombre: agar sabouraud. Los principales ingredientes de este medio son la maltosa, una peptona y agar, lo que constituye un medio selectivo debido a que su pH. es bajo (5.6) y la concentración de azúcar relativamente alta. (García, 2004)

Algunas formulaciones combinan los dos tipos de medios ya mencionados, es decir, utilizan algunos ingredientes naturales al cual se le agregan otros químicamente definidos por ejemplo PDA (infusión de papas, glucosa y agar).

2.2.5. Condiciones ambientales requeridas

Existen una serie de factores que son determinantes para el crecimiento de los mohos y la producción de micotoxinas, como son:

Agua: El agua disponible (aw) indica la cantidad de agua disponible para el desarrollo de los microorganismos, una vez que se ha alcanzado el equilibrio hídrico en el sistema alimento/ medio ambiente. Los valores de los diversos grupos de hongos varían de acuerdo con el sustrato y la temperatura (Gimeno, 2002). Además el aw influye en la producción de toxinas, principalmente en productos poco hidratados, se requiere de un aw ligeramente superior al aw límite (0.86) para el crecimiento fúngico (Alonso, González, & Rejas, 2002) aunque en general la mayoría necesita menos humedad que las bacterias. Por esta razón, muchos hongos pueden crecer en medios tan secos como cereales o papel.

Humedad Relativa (HRE): Es la cantidad de humedad de la que disponen los microorganismos. Una vez alcanzado el equilibrio entre la humedad libre del producto y el vapor de agua existente en el medio ambiente. Este se expresa en por ciento. Con respecto al porcentaje de humedad relativa, valores inferiores al 65% representan un escaso crecimiento fúngico, el crecimiento y la proliferación se acelera con porcentajes de humedad > 75% (Gimeno, 2008)

Temperatura: La temperatura óptima se encuentra entre 25°C y 30°C, sin embargo algunos autores indican una temperatura de 36° a 38° C y el límite máximo entre 40 7 45°C, sin embargo *Aspergillus flavus*; *A. candidus*; y *A. fumigatus* pueden crecer sin problemas hasta 55°C. Hay que destacar que la mayoría de los hongos no crecen por debajo de 5 °C, por otra parte hay hongos termofílicos los cuales pueden crecer a temperaturas de 62°C (Rebuffel, 1988) La temperatura para la producción de micotoxinas es ligeramente más baja que la temperatura óptima de crecimiento del hongo (Alonso, González, & Rejas, 2002).

Oxígeno: Los hongos requieren oxígeno para desarrollarse, y se puede decir que la mayoría son aerobios estrictos. Su crecimiento se ve favorecido cuando hay abundante suministro de oxígeno. El anhídrido carbónico puede inhibir la formación de algunas micotoxinas más que el crecimiento fúngico (Gimeno, 2008)

pH: Los hongos, en general, soportan para su desarrollo un rango muy amplio de pH. Pueden crecer en concentraciones altas de ácido, así como en medios bastante alcalinos. El rango de pH para una gran mayoría es de 2.0 a 9.0 pero casi todos crecen mejor en un pH. ácido. El pH. óptimo se encuentra alrededor de 5.6. Es de destacar que ellos mismos son capaces de alterar el pH, utilizando como fuente de energía los ácidos orgánicos del alimento o los excretados por bacterias acidificantes que puedan aparecer durante el periodo de deterioro del alimento (Gimeno, 2008)

Concentración de solutos: Los hongos, en su mayoría, pueden crecer en medios cuya concentración de azúcar (o sal) sería inhibitoria para la mayoría de bacterias. Esta tolerancia a altas concentraciones de soluto hace que los hongos sean importantes en el deterioro de los alimentos como jaleas, confituras y carnes curadas. (Carrillo, Ramirez, & Martinez Castilleja, 2006)

2.2.6. Clasificación de los hongos

Se considera que los hongos están divididos en diversos reinos, de los cuales los principales géneros productores de micotoxinas están incluidos en el reino fungi y división Ascomycota. El número de especies micotoxigénicas de los diversos generos se incluyen en la tabla 11.

Tabla 11. Principales géneros productores de micotoxinas

Genero	Especies micotoxigénicas
<i>Penicillium</i>	32
<i>Aspergillus</i>	15
<i>Fusarium</i>	12
<i>Byssochlamys</i>	2
<i>Stachybotry</i>	2
<i>Trichoderma</i>	2
<i>Alternaria</i>	1
<i>Chaetomium</i>	1
<i>Paecilomces</i>	1
<i>Rhizopus*</i>	1

NOTA:*El género *Rhizopus* pertenece a la división *Zigomycota*. El resto de géneros pertenecen a la división *Ascomycota*; Fuente: Samson, F., Hoekstra, E., JC, F., & Filtenborg, O. (2000). *Introduction to food - and airborne fungi*. Utrecht: Centraalbureau voor Schimmelcultures.

Se ha permitido agrupar los hongos de acuerdo a sus necesidades de actividad de agua y humedad en tres categorías ecológicas, hongos de campo, de almacenamiento y de deterioro avanzado (Moreno E. , 1988).

Muchas de estas especies infectan los cultivos y producen las micotoxinas en diferentes productos vegetales, denominándose clásicamente como hongos de campo. Sin embargo, algunas especies se engloban en la categoría que denominamos hongos de almacenamiento.

Los hongos adquiridos en el campo incluyen géneros como: *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Epicoccum*, *Fusarium*, *Verticillium*, además de otros fitopatógenos y otras especies que difieren según el vegetal, el clima y la región geográfica (Lacey, 1989). Estos invaden las semillas durante su desarrollo en el campo o cuando éstas han madurado y permanecen en el campo en espera de ser cosechadas.

Requieren generalmente una humedad relativa entre el **90 y 100%** y un contenido de humedad en las semillas de **22 a 23%** para crecer, con un amplio rango de temperaturas entre **0 y 30°C**, aunque algunos pueden desarrollarse a **35°C o más** (Christensen C. , 1987).

La flora de almacenamiento comprende un pequeño número de especies pertenecientes a los géneros *Aspergillus*, *Eurotium* y *Penicillium*, estos son capaces de crecer con contenidos de humedad bajos y alta presión osmótica, son los principales responsables del deterioro de

los cereales y piensos (Soriano del Castillo, 2007) . Otros factores que influyen en su desarrollo son la temperatura, el tiempo, el grado de invasión fúngica antes del almacenamiento y la actividad de insectos y ácaros que facilitan la diseminación. Estos requieren menor humedad relativa en el ambiente (**70-90%**) y un contenido de agua en las semillas menor (**15-20%**) pero el rango de temperaturas es más amplio (**0-45°C**) y pueden crecer a menores concentraciones de oxígeno (Christensen C. , 1987).

La fuente de contaminación se encuentra en los graneros y silos por ser ahí donde estos hongos hallan las condiciones favorables para su desarrollo y donde sus esporas permanecen en estado latente de una temporada de almacenamiento a otra, a veces durante varios años. (Rebuffel, 1988)

Por otra parte los hongos de deterioro avanzado son aquellos que colonizan granos y otros productos alimenticios que han sufrido un deterioro biológico previo, a los que se les conoce por ser excelentes degradadores de materia orgánica y que proliferan en productos almacenados en altas humedades relativas superiores al 90% (Moreno E. , 1988).

Los principales daños en granos y semillas almacenadas son la reducción del poder germinativo de las semillas, el ennegrecimiento de los granos y la producción de micotoxinas. (Gallardo et al, 2006)

2.2.7. Características diferenciales de los principales géneros.

2.2.7.1. *Penicillium*

Este género es conocido por ser un contaminante habitual de diferentes sustratos con capacidad para producir micotoxinas. Son especies saprofitas y forman colonias que crecen generalmente de manera rápida, están formadas por densas agrupaciones de conidióforos.

La textura es también una característica importante (aterciopelada, lanosa, funiculosa, fasciculada o sinematosa) y depende de la disposición de los conidióforos. Su estructura de reproducción asexual es un conidióforo formado por una estipe diferenciada que finaliza en un penicilio o pincel (Pitt, 1979). Ver figura 4

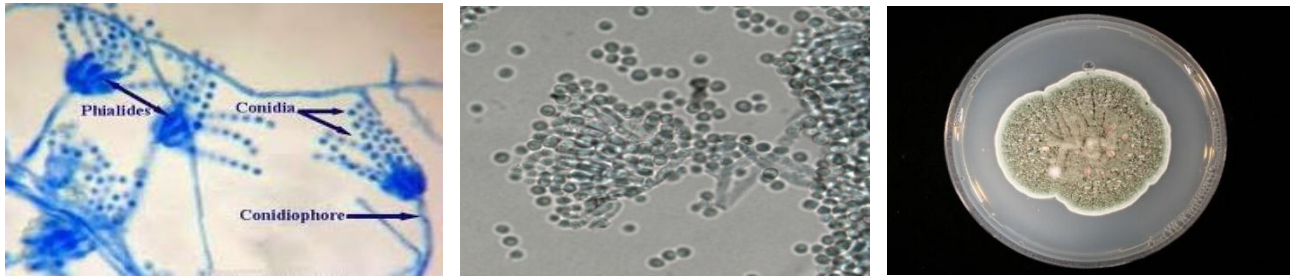


Figura 4. *Morfología macroscópica y microscópica de Penicillium spp.*

Fuente: www.doctorfungus.org/thefungi/img/pen1_1.jpg/

2.2.7.2. *Aspergillus*

Las colonias de las especies de este género se producen fácilmente y con diversas tonalidades según el hongo (blanquecinas, amarillentas, marron-amarillentas, negruzcas, marron-negruzcas, o verdosas), están formadas por densas agrupaciones de conidióforos sobre los que se encuentran las células conidiogenas que son las que se originaran las esporas asexuales o conidios.

El conidióforo característico de *Aspergillus* posee tres partes bien diferenciadas: vesícula (extremo apical hinchado), estipe (sección cilíndrica situada debajo de la vesícula) y célula pie (sección final, que une el conidióforo con el micelio). Sobre la vesícula se disponen las células conidiógenas, denominadas habitualmente fiálides. En muchas especies, entre la vesícula y las fiálides se encuentran otras células denominadas métulas. La vesícula, las métulas (si están presentes), las fiálides y los conidios constituyen la cabeza conidial. (Cabañes, Abarca, Bragula, & Castellá, 2007). Actualmente se conocen más de 180 especies en el género *Aspergillus* (Gallardo, y otros, 2006). Ver Figura 5.

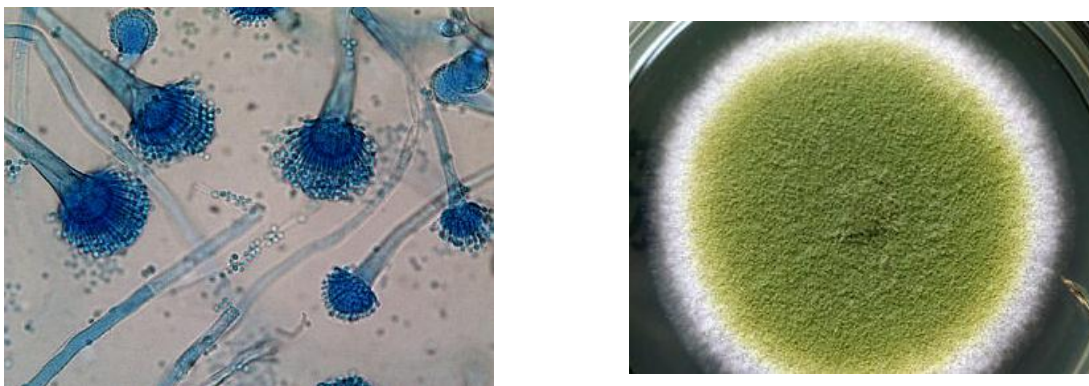


Figura 5. *Morfología macroscópica y microscópica de Aspergillus*

Fuente: www.doctorfungus.org/imageban/Images/Dsutton_05feb/A_niger_1.jpg

2.2.7.3. Fusarium

Este género presenta amplia distribución, tanto en suelos como en sustratos orgánicos. Comprende muchas especies y la mayoría son capaces de producir metabolitos tóxicos.

La principal característica del género *Fusarium* es la presencia de conidios hialinos curvados, fusiformes y septados denominados macroconidios. Estos macroconidios se forman a partir de unas estructuras denominadas esporodocios o bien pionotes. Algunas especies también pueden producir conidios más pequeños uni o bicelulares denominados microconidios, que pueden tener diferentes formas (Cabañes, Abarca, Bragula, & Castellá, 2007) . Ver figura 6.

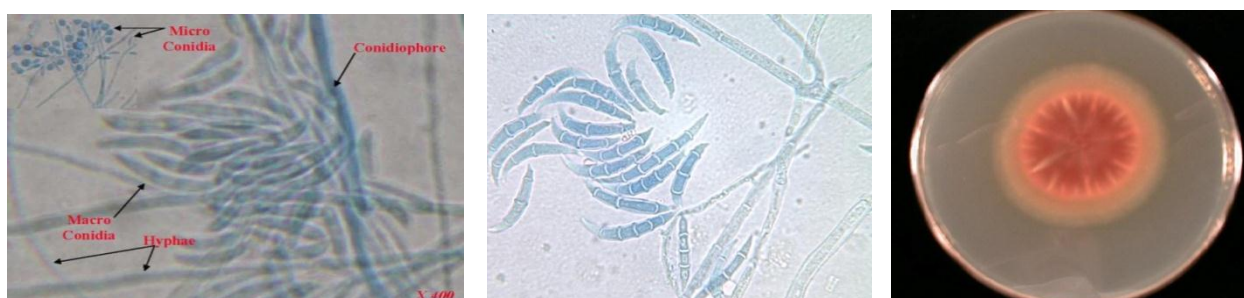


Figura 6. Morfología macroscópica y microscópica de Fusarium.

Fuente: www.doctorfungus.org/thefungus/img/fusarium.gif

2.2.8. Estudio morfológico de los hongos

El aspecto general del hongo en un medio de cultivo es muchas veces suficiente para que un especialista pueda indicar su género. Algunos son algodonosos, otros son secos y pulverulentos. El color que presenta la colonia es también característico: verde, rojo, negro, gris, etc., así como el color que presenta el reverso de dicha colonia (algunos difunden un pigmento al medio), por lo que esta debe examinarse por ambos lados.

Las características morfológicas son las más utilizadas para la identificación de hongos por su rapidez y lo económico que resultan. El estudio de la ontogenia de los anamorfos (fase asexual) y de los teleomorfos (fase sexual) es básico en la identificación principalmente en lo que se refiere a género y especie sin embargo también se ocupan características

fisiológicas (crecimiento a diferentes temperaturas de incubación, asimilación de sustratos), bioquímicas (detección de actividades enzimáticas), del perfil de metabolitos secundarios (micotoxinas) y otras técnicas moleculares como las que se dedican a el estudio de los ácidos nucleicos son utilizadas. (Soriano del Castillo, 2007)

Existen diversos métodos para detectar hongos micotoxigénicos, entre los que destacan los basados en diferentes medios de cultivos algunos de los cuales favorezcan la producción de micotoxinas y su presencia se puede detectar en la misma placa mediante la aplicación de luz UV; Otros se basan en técnicas cromatográficas (TLC, HPLC y GC), algunos emplean técnicas inmunológicas que mediante anticuerpos policlonales o monoclonales se dirigen contra antígenos más o menos específicos (ELISA) y más recientemente se están ocupando técnicas de análisis por ADN. (Abarca, Bragulat, Bruguera, & Cabañes, 1988)

2.3. Micotoxinas

2.3.1. Generalidades

Las micotoxinas, palabra que deriva de mikes = hongo y toxina = veneno, son compuestos que se producen cuando la fase de crecimiento del hongo llega a su final y durante su fase estacionaria (Goldblatt, 1972).

Son moléculas relativamente pequeñas ($PM > 700$). La mayor parte de estos metabolitos se originan en la ruta policetónica. La cadena general policetónica, del tipo $R-CO-CH_2-CO-CH_2-CO-CH_2-CO-CH_2-CO-SCoA$, es de la cual surgen la mayoría de las micotoxinas. Existen otras rutas biosintéticas pero más complejas y esa complejidad se relaciona con un menor número de especies fúngicas capaces de elaborar las micotoxinas (Moss M. , 1991).

Las micotoxinas son metabolitos secundarios tóxicos con diferentes propiedades químicas, biológicas y toxicológicas, producidas por hongos toxigénicos que se desarrollan en productos vegetales (Carrillo L. , 2003).

Las micotoxinas pueden contaminar los alimentos o materias primas utilizadas para su elaboración, representando un riesgo para el hombre al poder originar un grupo de enfermedades y trastornos llamados micotoxicosis. Su acción puede ser individual o

simultánea provocando efectos sinérgicos sobre el organismo, aumentando así su peligrosidad.

A lo largo de la historia se han reportado diversos casos clínicos causados por micotoxinas. El primer reporte fue en la Edad Media, en Europa occidental, el llamado Fuego de San Antonio provocado por ascosporas del género *Claviceps* que infectaban las flores del centeno ocupado para la panificación. Otro caso fue el de las brujas de Salem en Massachusetts E.U. en 1692 probablemente por el consumo de LSD (dietilamina del ácido lisérgico), un derivado sintético del ácido lisérgico, que es uno de los alcaloides del mismo hongo (Soriano del Castillo, 2007).

En Rusia, los alcaloides derivados del género *Claviceps* y la toxina T-2 han estado de manera simultánea durante muchos años. Sin embargo en el año de 1932, se identificó el primer caso de micotoxicosis por tricotecenos, con una tasa de mortalidad del 60%, en África observando que en las regiones mas afectadas se aisló hasta en un 40% de los cultivos *Fusarium sporotrichoides*, mientras que este porcentaje disminuía hasta un 2% en las zonas no afectadas (GajduSek, 1953).

En muchas civilizaciones se ha reportado la presencia de hongos en alimentos, como en China, Siria, Persia, Roma, Esparta, pero con la sola presencia de estos, los productos se descartaban.

2.3.2. Especies productoras de micotoxinas

Se ha determinado que un número relativamente grande de hongos (recientemente se han identificado unas 80 especies) pueden producir sustancias tóxicas, llamadas micotoxinas. Algunas de las micotoxinas más importantes, así como su incidencia en los alimentos y su toxicidad se muestran en la tabla 12.

Los alimentos que con mayor frecuencia se encuentran contaminados con éstas, son los granos y los cereales, los cuales se almacenan por periodos prolongados, lo que da oportunidad al crecimiento de los hongos (García, 2004).

Tabla 12. Especies productoras de micotoxinas en los alimentos

Genero	Micotoxina	Alimento contaminado	Toxicidad
<i>Aspergillus (flavus y parasiticus)</i>	Aflatoxinas	Maíz, maní, cereales, semillas, leche, huevo y derivados.	Hepatotóxica Carcinogénica
<i>Fusarium (verticillioides, proliferatum, nygamai, napiforme, oxisporum, polyphialidicum, anthrophilum y dlamini), Alternaria alternaria f. sp. Lycopersici</i>	Fumonisinias	Maíz	Carcinogénica
<i>Penicillium</i>	Citrinina	Arroz	Nefrotóxica
<i>Fusarium spp.</i>	Tricótecenos	Cereales	Atrofia de la medula Ósea
<i>Penicillium (expansum y patulum)</i>	Patulina	Jugo de Manzana.	Carcinogénica
<i>Aspergillus (ochraceus, niger, carbonarius, terreos) y Penicillium verrucosum</i>	Ocratoxina	Cereales, Bebidas alcohólicas y Café	
<i>Fusarium</i>	Zearalenona	Maíz	
<i>Fusarium</i>	Deoxinivalenol	Cereales, Cerveza, Harinas	
<i>Fusarium</i>	Moniliformina		
<i>Fusarium</i>	Toxina T2 y HT2	Cereales	
<i>Penicillium</i>	Acido Cicloprazonico		

Fuente: (Carrillo L., 2003)

2.3.3. Toxicidad de las micotoxinas

Elevados niveles de micotoxinas en la dieta pueden causar efectos adversos agudos y crónicos sobre la salud del hombre y una gran variedad de especies animales. Los efectos adversos pueden afectar a distintos órganos, aparatos y sistemas especialmente al hígado, riñón, sistema nervioso, endocrino e inmunitario (Cameán, 1997). En la tabla 13 se muestran los efectos fisiopatológicos de algunas micotoxinas.

Actualmente se considera que las aflatoxinas son las micotoxinas de mayor riesgo para la salud, en especial por su potencial hepatocarcinógeno. Entre ellas, la AFB₁ es la considerada como la de mayor riesgo.

Tabla 13. Principales efectos fisiopatológicos producidos por las micotoxinas

Micotoxina	Efectos fisiopatológicos
Aflatoxinas B y G	Daño hepático agudo, cirrosis inducción de tumores, disminución de la eficacia del sistema inmunitario, teratogénesis excreción por la leche, acumulación en tejidos
Citrinina	Nefrotóxica. Toxicidad renal en monogástricos (poliuria, proteinuria, creatinuria, glucosuria, enzimuria y aumento de nitrógeno ureico en sangre), temblores corporales, inmunosupresión.
Esterigmatocistina	Hepatotóxica, nefrotóxica, causa alteración pulmonar y diarreas; mutágenas in vivo, inductoras de tumores y teratógenas.
Fumonisinias	Neurotóxicos (leucoencefalomalacia), nefrotóxicos, edema pulmonar y cerebral, hepatoicos y lesiones cardíacas. Los órganos afectados son: cerebro, pulmón, hígado, riñón y corazón, debido a la muerte celular y respuesta inmunitaria. Excreción en leche.
Ocratoxina	Nefropatía endémica de los Balcanes, acumulación en riñón, tubulonefritis, hígado y músculo, vómitos, teratogénesis, mutagénesis embriotóxicas.
Patulina	Trastornos gastrointestinales y neurológicos, temblores corporales, mutágena e inductor de tumores.
Rubratoxina	Gran congestión (con hemorragias) de hígado, riñón, glándulas suprarrenales, pulmón, bazo, tracto gastrointestinal y congestión vascular en los tejidos subcutáneos y hemorragias en víscera abdominal, inmunosupresión.
Tricotecenos: toxina T2, nivalenol, deoxinialenol y diacetoxiscirpenol	Vómitos, taquicardia, diarrea, pérdida de la atención, hemorragias, edemas, necrosis de los tejidos cutáneos, destrucción de tejidos hematopoyéticos, disminución de los glóbulos blancos y plaquetas circulantes, meninges hemorrágicas (cerebro) alteración del sistema nervioso, rechazo del alimento, lesiones necróticas en diferentes partes de la boca, degeneración patológica de las células de la medula ósea, nódulos linfáticos e intestino.
Zearalelona	Síndrome estrogénico, problemas reproductivos, excreción por leche junto con sus derivados α y β - zearalenol.

Fuente: (Soriano del Castillo, 2007).

La incidencia de micotoxicosis aguda es un problema de salud animal, ya que los alimentos deteriorados por hongos se desechan o se destinan a consumo animal, mientras

que para el hombre tiene mayor importancia la toxicidad crónica, asociada al consumo de pequeñas cantidades de micotoxinas durante periodos prolongados (Gimeno, 2002).

La Agencia Internacional de Investigación sobre el Cáncer (IARC) ha determinado a las aflatoxinas como agentes carcinogénicos y se están desarrollando diversas investigaciones para determinar la posible carcinogenicidad de Aflatoxina M1, Esterigmatocistina, Fumonisina y Ocratoxina A (Soboleva, Pleasants, & Le Roux, 2000).

Con respecto a las dosis de aflatoxinas y fumonisinas en humanos no existe una DL50. Sin embargo algunos estudios han encontrado posibles niveles sin efecto observable (NOAEL) de 11 µg/kg de peso corporal para AFB₁ purificadas y en el caso de fumonisinas se carece de este dato sin embargo estos valores dependen mucho del individuo sobre el cual se realiza la valoración (Barug, Bhatnagar, Van Egmond, Van der Kamp, W.A., & A., 2006).

2.3.4. Factores que afectan y favorecen la producción de micotoxinas

Los alimentos que consumimos en muy pocas ocasiones pueden considerarse estériles, ya que por lo general contienen asociaciones microbianas cuya composición depende de qué organismos llegan a ellos y de cómo se multiplican, sobreviven e interactúan en el alimento en el transcurso del tiempo. Por su propia naturaleza, los alimentos son nutritivos y metabolizables, y por ello es de esperar que sean sustratos óptimos para el crecimiento y metabolismo de los microorganismos (Gimeno, 2002).

La colonización fúngica y producción de micotoxinas en un alimento se desarrolla en una serie de fases o etapas como lo son la contaminación del alimento, la germinación de las esporas fúngicas, el crecimiento del micelio fúngico, finalmente la producción y acumulación de las micotoxinas en el alimento.

Existen una serie de factores que influyen en la selección de la microflora presente inicialmente en los alimentos y que son la causa de la multiplicación de una parte de ella (Sanchez, Marin, & Ramos, 2007); las cuales se mencionan a continuación.

- ✚ Factores intrínsecos: relacionados con la composición química y las propiedades físicas o biológicas del alimento. Este apartado incluye entre otros, la composición del alimento, así como la actividad de agua y el pH.

- Factor extrínsecos o propios del ambiente: donde se conserva el alimento. Están integrados principalmente por la temperatura de almacenamiento, la humedad ambiental, la tensión de oxígeno, la composición gaseosa ambiental o el envase y la presencia o ausencia de luz.
- Factores relacionados con tratamientos tecnológicos: a los que ha estado sometido el producto. Estos tratamientos pueden ser Físicos (principalmente térmicos), químicos ó biológicos.
- Factores implícitos, las relaciones de dependencia o competencia entre los diferentes microorganismos (Frazier & Westhoff, 1993).

En la tabla 14 se muestran algunos factores determinantes para la producción de micotoxinas, así como sus valores óptimos.

Tabla 14. Factores determinantes en la producción de micotoxinas

Especie	Factor	Hongo	Micotoxina
Aspergillus	aw	0.80-0.99 ; 0.99 op	0.82-0.99 ; 0.97 op
	Temperatura	10 – 43 ; 32 – 33 op	12 – 40 ; 25 – 30 op
	pH.	Alcalinos	Alcalinos
	Sustrato	Cereales	Cereales
Fusarium	Aw	0.90 – 0.97 ;	0.93 – 0.97 ; 0.97 op
	Temperatura	4 – 37 ; 30 op	10 – 37 ; 15 – 30 op
	pH	Alcalinos	<6.0, <FB1 ; > 6.0, >FG1
	Sustrato	Maíz	Maíz

Fuente: Modificado de (Soriano del Castillo, 2007)

Estos factores determinan la denominada resistencia a la colonización del alimento e influyen sobre la cantidad relativa y la velocidad de formación de metabolitos microbianos (Mossel, 1983) . El pH, el a_w y el tipo de colonización parecen ser los determinantes en que los mohos sean capaces de desplazar a las bacterias y levaduras en la carrera por colonizar el alimento.

Los mohos están adaptados a desarrollarse en un amplio intervalo de temperaturas, de manera que las condiciones de producción, en campo, de la mayoría de materias primas para la industria alimentarias pueden conducir a la existencia de un problema fúngico o de micotoxinas.

En general, los requerimientos mínimos de a_w de los mohos toxigénicos para sintetizar sus micotoxinas suelen ser más altos que aquellas necesidades hídricas que plantean para su

crecimiento, que a su vez son más altas que las necesarias para la germinación de esporas (Sanchez, Marin, & Ramos, 2007).

Es sabido que la proporción proteínas/carbohidratos es también responsable de potenciar la síntesis de muchas micotoxinas (Soriano del Castillo, 2007).

2.3.5. Aflatoxinas

En 1960, murieron en unos cuantos meses mas de 100 000 pavipollos y 14 000 crías de pato en Inglaterra, causado por la ingesta de alimentos que contenían torta de cacahuate importada de Brasil, en el examen post-mortem se encontró que las células del parénquima hepático estaban completamente degeneradas y se pudieron extraer algunos agentes tóxicos que mediante una cromatografía emitían fluorescencia, a estas sustancias se les llamo Aflatoxinas (Gimeno & Martins, 2001).

Las aflatoxinas son sustancias biogénicas, termoresistentes y estructuralmente relacionadas con punto de fusión superior a los 250 °C., químicamente son cumarinas sustituidas, conteniendo anillos de bifurano y configuración tipo lactona. Su peso molecular es de 312-350, y la mayoría son poco solubles en agua, pudiéndose extraer con disolventes orgánicos moderadamente polares (Ellis, Smith, Simpson, & Oldham, 1991). En cuanto a las aflatoxinas B y G, se les denomina así por el color de la fluorescencia que emiten bajo la luz UV; azul (blue) y verde (green) respectivamente.

Actualmente se han identificado 18 tipos de aflatoxinas, de las cuales solo 6 tienen significancia como contaminantes en alimentos: las aflatoxinas del grupo B (B₁ y B₂), G (G₁ y G₂) y M (M₁ y M₂) (figura 7). La numeración 1 y 2 dentro de cada grupo hace referencia a su movilidad cromatográfica relativa. Las aflatoxinas del grupo M (Milk aflatoxin) son derivados hidroxilados de los dos grupos anteriores. La aflatoxina B₁ (AFB₁), al igual que la G₁ (AFG₁), es el resultado del metabolismo de los hongos micotoxigénicos. Las aflatoxinas B_{2e} y G_{2e} son obtenidos a partir de B₁ y G₁, respectivamente, en medios fuertemente ácidos y el aflatoxicol se obtiene del metabolismo de AFB₁. La AFP₁ es el principal metabolito urinario en *Macacus Rhesus* después de la inyección intraperitoneal de la AFB₁, mientras que la AFQ₁ es el metabolito hidroxilado de la AFB₁ siendo un producto metabólico en las preparaciones

microsomales hepáticas de monos, ratas y seres humanos (Juan, Soriano, & Burdaspal, 2007).

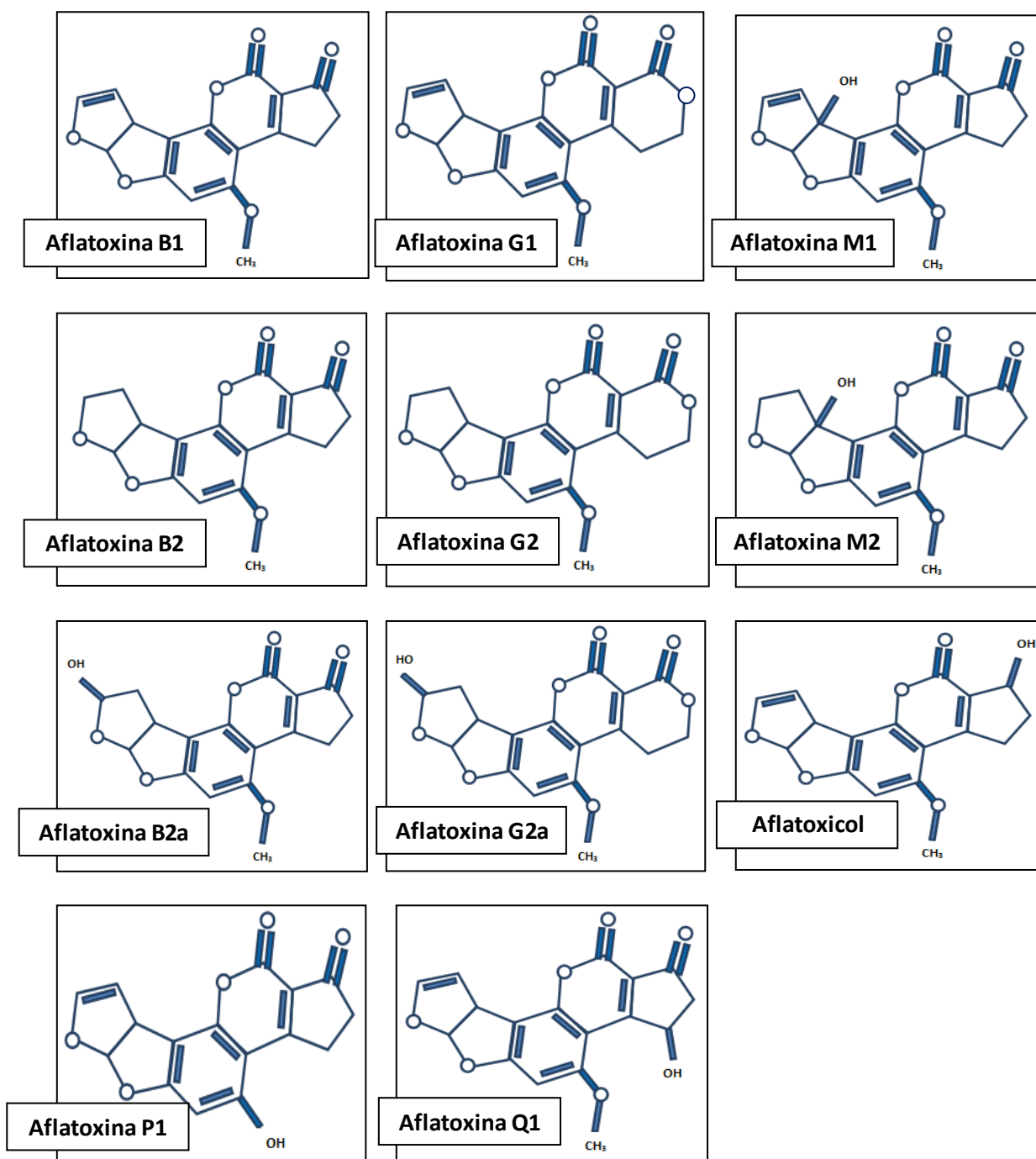


Figura 7. Estructura química de aflatoxinas

Fuente: Modificado de (Soriano del Castillo, 2007)

El crecimiento de hongos productores de aflatoxinas y la producción de las diferentes aflatoxinas depende de muchos factores como el alimento, el grado de acidez, la temperatura o humedad ambiental y la presencia de microflora competidora.

La AFB₁ es considerada la más tóxica e importante de las aflatoxinas seguida de la AFM₁, estas son absorbidas en el intestino delgado y transportadas por los glóbulos rojos y las proteínas plasmáticas hasta el hígado. La primera entra en la célula y es metabolizada en el retículo endoplásmico para ser hidroxilada y transformarse en varios compuestos tales como las aflatoxinas P₁, M₁ y Q₁, principalmente como se observa en la figura 8. La segunda es metabolizada por las monooxigenasas microsomales de las células hepáticas (Juan, Soriano, & Burdaspal, 2007).

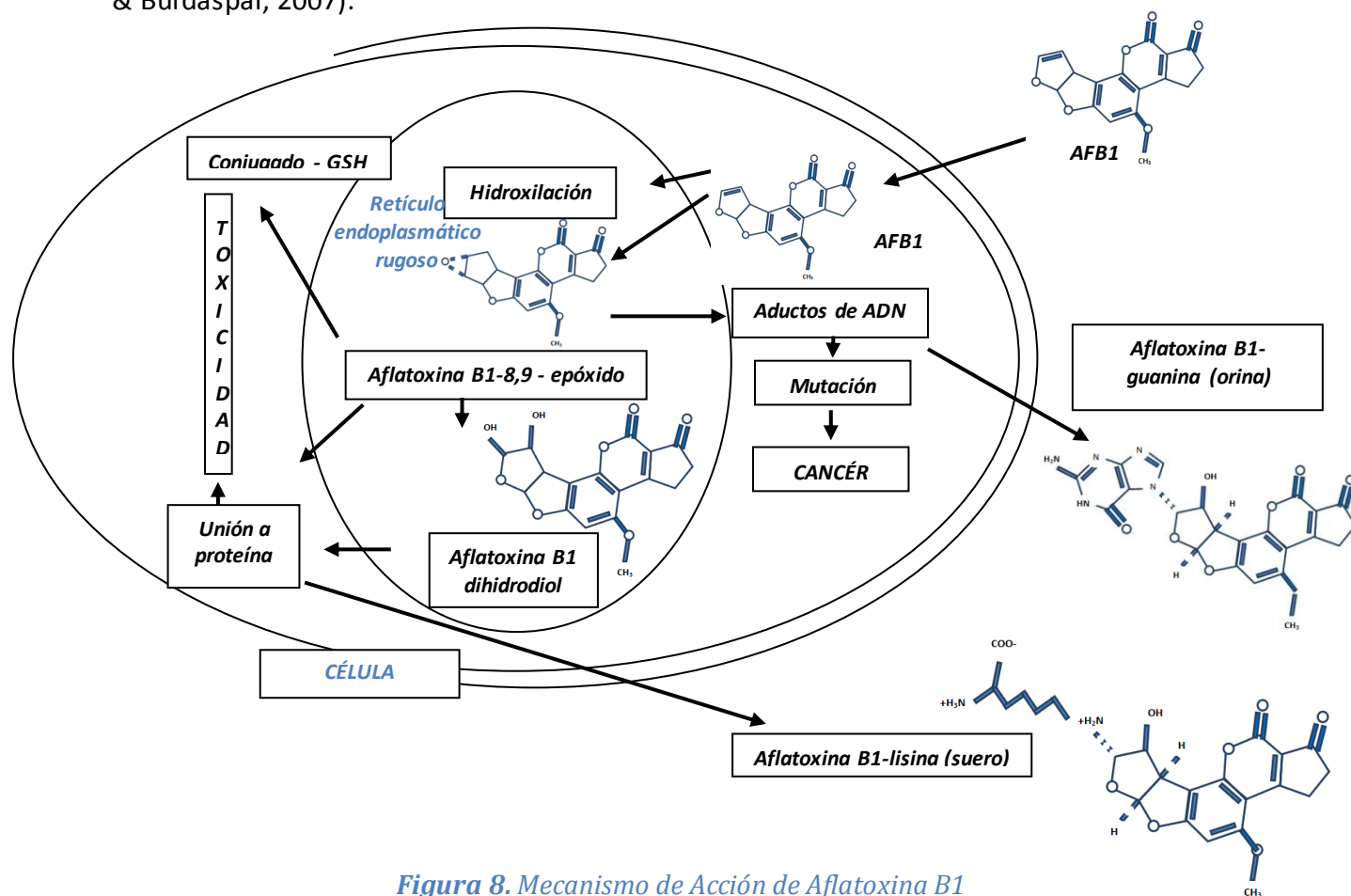


Figura 8. Mecanismo de Acción de Aflatoxina B1

Fuente: (Soriano del Castillo, 2007)

Los productos de la degradación de AFB₁ de aquellas especies animales alimentadas con productos contaminados pasan a sistema circulatorio y se distribuyen a la leche, huevo,

musculo y tejidos comestibles. Aproximadamente el 50% de la AFB₁ es eliminada por la bilis en su forma conjugada con glutatión, ácido glucurónico o con sulfato entre el 15 y el 25% es eliminada por la orina de forma inalterada o previamente metabolizada. Su eliminación es lenta ya que solo el 70-80% se elimina cuatro días después de la ingesta. En sangre una elevada proporción de AFB₁ se fija a la albúmina y una pequeña cantidad (1-10%) se une covalentemente a las proteínas hepáticas (Barkai - Golan, 2008).

Las aflatoxinas pueden producir una intoxicación crónica o aguda. La intoxicación crónica se da con el consumo de alimentos contaminados con niveles bajos de AF y sus efectos dependen de la dosis, duración de la ingestión, de la edad, del género y del estado de nutrición del animal que lo consume. Sin embargo la intoxicación aguda tiene lugar cuando se ingieren grandes cantidades de AF, su presencia en el hígado indica una infiltración de lípidos, que originará necrosis o muerte celular hepática y éstas pueden ser biotransformadas por enzimas oxidasas produciendo compuestos altamente reactivos con capacidad para unirse covalentemente con ADN, ARN y proteínas (en esta última originando la inhibición de síntesis de proteína, CHO's y Lípidos) (Gorekich, 1990).

La AFB₁ puede inhibir la actividad de fosfodiesterasa nucleótido cíclica en cerebro, hígado, corazón y tejidos renales. (Moss M. , 2002) . En el 2004 en África se encontró una tasa de mortalidad del 39% por la AFB₁ en el consumo de cereales (Riley, 2005).

La infección fúngica y la contaminación por aflatoxinas pueden ocurrir en cualquier punto de la cadena alimentaria, desde el cultivo propiamente dicho, hasta la recolección, el transporte, el almacenaje y el procesado de diferentes productos agrícolas.

Los factores que favorecen la proliferación de los hongos aflatoxigénicos son principalmente las altas temperaturas y una elevada humedad relativa, así como la humedad en el suelo, las sequías extremas y los daños producidos por semillas y frutos por golpes mecánicos y el ataque por insectos, roedores y pájaros los cuales constituyen excelentes vías de entrada para el desarrollo de los hongos y la eventual formación de aflatoxinas. El almacenaje y transporte en condiciones inapropiadas se han identificado como puntos críticos para evitar la contaminación por aflatoxinas (Juan, Soriano, & Burdaspal, 2007).

Los alimentos considerados más susceptibles a la contaminación fúngica y la consiguiente producción de aflatoxinas incluyen típicamente al maíz, los cacahuates, pistaches, nueces del Brasil y semillas de algodón. Sin embargo, también se han encontrado aflatoxinas en semillas oleaginosas como el girasol y la soja, en aceites vegetales y otros frutos secos (almendras, avellanas y nueces), en especias (pimientón, chile y pimienta), en frutas desecadas (higos secos, pasas, café, y el cacao) y en el resto de los cereales y productos derivados (Gimeno & Martins, 2001).

La AFM₁ y la AFB₁ tienen una TD50 (dosis de micotoxina con la cual el 50% de los individuos pueden desarrollar tumores malignos) de 10.38 y 1.15 µg/kg respectivamente por lo que se considera que la potencia carcinógena de la AFM₁ es aproximadamente diez veces inferior a la de la AFB₁ (Cullen, Ruebner, Hsieh, DM, & DPH, 1987).

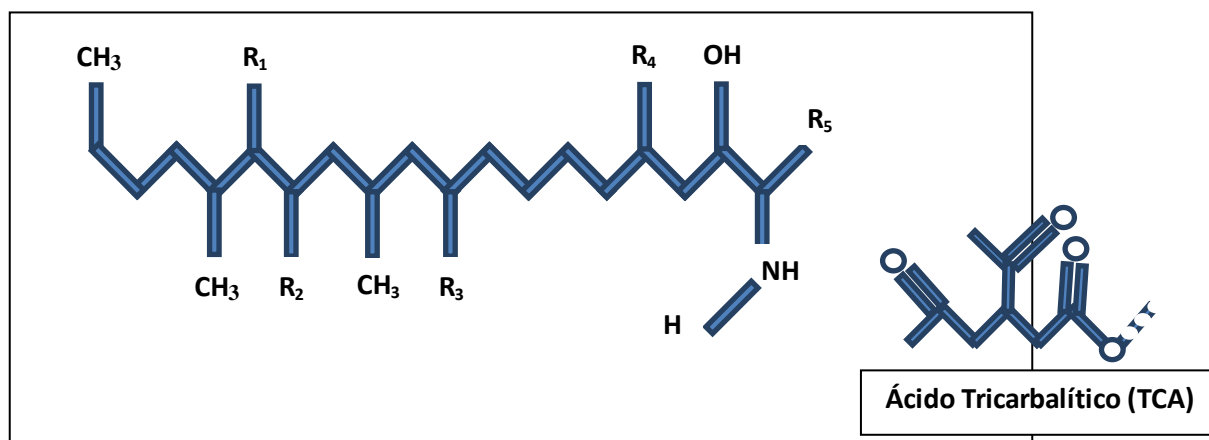
La Unión Europea mantiene que para este tipo de sustancias no existe ningún umbral por debajo del cual no se hayan observado efectos nocivos, por lo tanto, no se considera pertinente fijar una dosis diaria tolerable. Sin embargo se ha fijado los límites más bajos posibles, la concentración permitida de AFB₁ para cereales y ciertos frutos es de **2 µg/kg de pc/día** y para **AFM₁ de 0.05 ng/ml en lácteos**. La FDA estimó en 1978 que la ingesta alimentaria de AFB₁ era en promedio de 2.73 ng/kg pc/día. en E.U., con un máximo de 9.03 ng/kg pc/día (Fernández & Ferrer, 2007), lo cual expone una dosis tolerable. (Riley, 2005)

La AFM₁ es utilizada como biomarcador a la exposición de AFB₁. Se pueden medir los aductos AFM-NF-guanina en orina para evaluar exposiciones a aflatoxinas en las últimas 24 horas, o el complejo albumina-AFM1 en sangre, que es más precisa.

2.3.6. Fumonisinias

A través de la historia se han descrito algunas enfermedades como la leucoencefalomalacia equina, el edema pulmonar en cerdos y el cáncer de esófago e hígado en humanos que no fue sino hasta 1988 que se pudo obtener la raíz de estas. La causa fue relacionada a la presencia de sustancias tóxicas denominadas Fumonisinias producidas por especies del género *Fusarium* (Desjardins, 2006).

Las fumonisinas son un grupo de micotoxinas elaboradas por varias especies del género *Fusarium* y por *Alternaria alternata f. sp. Lycopersici*. Actualmente se conocen al menos 15 tipos de fumonisinas (F) agrupadas en cuatro series: Del tipo A, B, C y P (figura 9). Siendo la FB₁ la más tóxica y la que se encuentra normalmente en los alimentos, el grupo amino libre de la serie B parece ser el responsable de la actividad biológica y toxicológica de dichos compuestos (Pfohl-Leskowicz & Castegnaro, 1999).



	R1	R2	R3	R4	R5
FB1	TCA	TCA	OH	OH	CH3
FB2	TCA	TCA	H	OH	CH3
FB3	TCA	TCA	OH	H	CH3
FB4	TCA	TCA	H	H	CH3
BC1	TCA	TCA	OH	OH	H
FC2	TCA	TCA	H	OH	H
FC3	TCA	TCA	OH	H	H
FC4	TCA	TCA	H	H	H
AP1	OH	OH	OH	OH	CH3

Figura 9. Estructura química de las fumonisinas

Fuente: (Molinié, Faucet, Castegnaro, & Pfohl-Leskowicz, 2005)

Las fumonisinas tienen una estructura similar a la esfingosina y a la esfinganina que es un componente de la larga estructura de los esfingolípidos; componentes activos de las membranas celulares. La rotura de sus metabolitos puede provocar una serie de efectos

serios en el crecimiento y diferenciación celular y en la respuesta inmunitaria de los organismos. Las fumonisinas son capaces de romper el ciclo de la esfingomielina por inhibición de la ceramida sintasa y de la enfingonina-N-acetiltransferasa dando como resultado una acumulación sobre todo de esfinganina y en menor cantidad de esfingosina (Ver figura 10) (Soriano & González, 2005) . La esfinganina se acumula dentro del hígado y una parte se distribuye por la sangre.

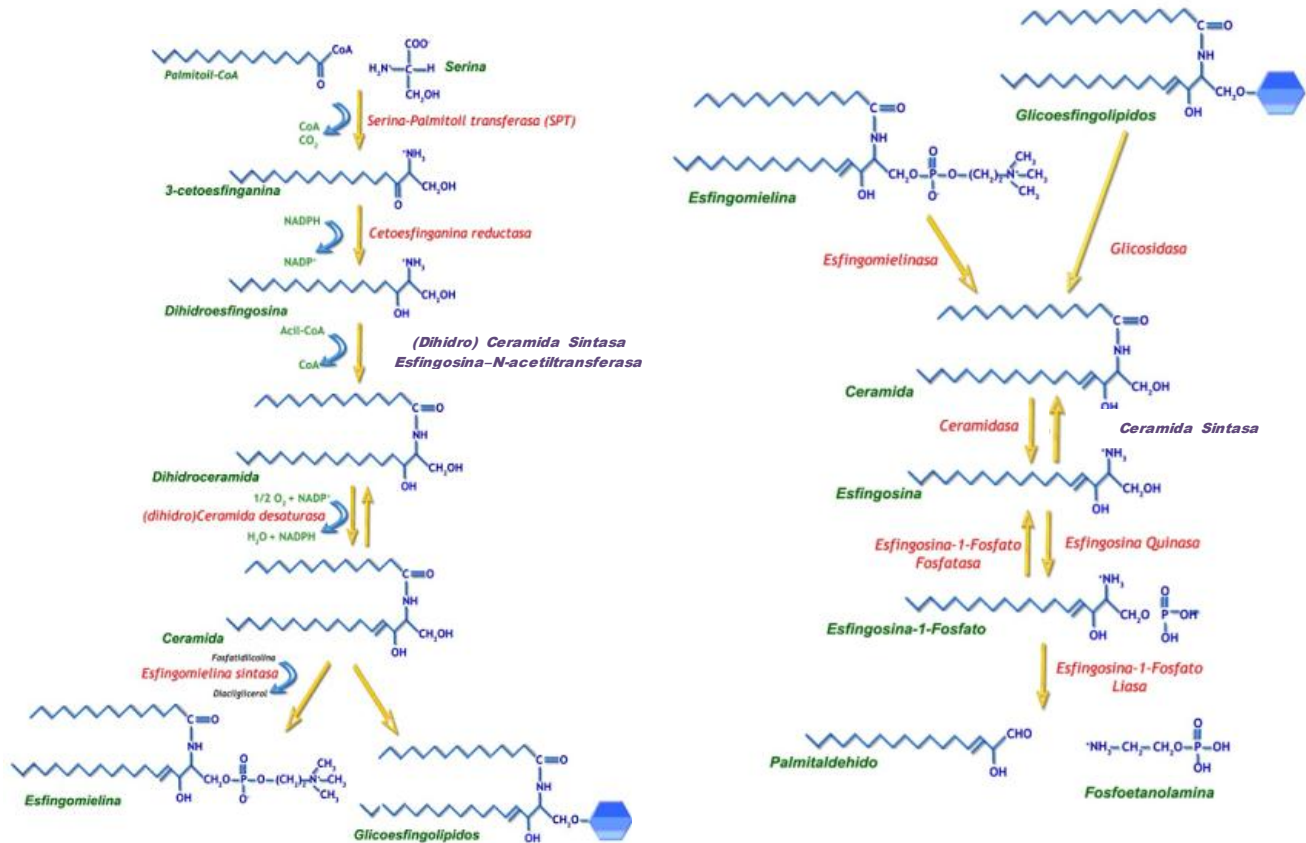


Figura 10. Ciclo de la esfingomielina

Fuente: (Sterin-Speziale & Leocata, 2007)

El maíz y sus derivados son la principal fuente de estas micotoxinas, en diversos estudios se ha encontrado que no existe una ingesta diaria sin embargo en algunas dietas europeas se reportan se ha llegado a consumir 1.4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ pc/semana (EMAN, 2000).

La nixtamalización, es un proceso que permite lograr, a través de la cocción del maíz en agua adicionada con cal, la gelificación de los almidones, este proceso favorece la hidrólisis de la FB1 produciendo un compuesto con menor absorción por lo que una combinación de

nixtamalización y calentamiento a alta temperatura puede reducir de manera efectiva esta toxina (Dragacci & Soriano, 2007).

2.3.7. Métodos de cuantificación e identificación de micotoxinas

La importancia del análisis de micotoxinas en alimentos reside en el cumplimiento de las reglamentaciones y en la verificación de los sistemas de control de seguridad alimentaria con el fin de preservar la salud de la población (Codex Alimentarius, 2009).

Los métodos normalizados de análisis para diferentes micotoxinas, validados por estudios inter laboratorios, han sido recomendados por parte de la Asociación de Químicos Analíticos Oficiales (AOAC, por sus siglas en inglés).

Los análisis de micotoxinas requieren de un alto grado de exactitud, precisión y reproducibilidad, por esta razón se recomienda el uso de procedimiento de garantía de la calidad incluidos los materiales de referencia certificados y las comparaciones inter laboratorio (Molto, Soriano, & Mañes, 2007).

La preparación de la muestra a analizar requiere procesos de extracción y purificación. Las micotoxinas en los alimentos presentan una distribución poco uniforme por lo que se requiere una cuidadosa homogeneización de la matriz previa a la extracción de los residuos.

Existen 3 tipos de análisis para micotoxinas.

1. **Extracción y Purificación:** Se realiza con un disolvente, elegido de acuerdo a la polaridad de la micotoxina y a la naturaleza de la muestra que cuando la matriz es sólida se utilizan disolventes orgánicos como el etanol, acetona, acetato de etilo, acetonitrilo, diclorometano, hexano y mezclas de ellos (Scott, 1995). En algunas ocasiones se adicionan sales y ajustes de pH, para mejorar el rendimiento, así como una etapa de limpieza o purificación que permita obtener resultados más limpios. En la tabla 15 se muestran algunas metodologías de extracción.

Tabla 15. Metodologías de extracción de micotoxinas

Extracción	Descripción	Medio de separación	Micotoxinas extraídas
Fase Sólida	Extrae las micotoxinas disueltas en una matriz acuosa, al atravesar un soporte sólido, previamente acondicionado donde quedan retenidas. Se eluye posteriormente con una cantidad pequeña de disolvente.	Fase sólida: Octadecilsílice (C18) Florisil Cianopropilsílice (CN)	Tricotecenos A
Columnas Mycosep	Son una mezcla de varios adsorbentes empaquetados en un tubo de plástico. Cuando las toxinas se introducen a la columna origina la separación de las micotoxinas al cabo de 10 a 30 segundos.	Absorbentes: carbón, celita, resinas de intercambio iónico	Tricotecenos B, A, Fumonisin y patulina.
Dispersión de matriz en fase sólida.	Se dispersa la muestra problema con una fase sólida comercial hasta conseguir una mezcla homogénea, que se introduce en una columna de vidrio, a la que se le puede añadir una fase solida de diferente polaridad. Posteriormente se eluyen con diferentes disolventes orgánicos	Fase sólida comercial: (C18), octilsílice (C8), aminopropilsílice (NH ₂), CN. Fase solida: Florisil, sílica gel Disolventes: Acetonitrilo, hexano, acetato de etilo y/o diclorometano.	Zearalenona, Aflatoxina.
Micro extracción en fase sólida.	Basada en la absorción de las micotoxinas sobre una fase absorbente emplazada en el extremo de una micro jeringa modificada que se inyecta a un cromatógrafo.		Ocratoxina A, ácido ciclopiazónico y ácido tenuazónico
Columnas de Intercambio iónico	Retiene a la micotoxina por su forma iónica y los compuestos aniónicos se aíslan mediante columnas aniónicas.		Fumonisin y Moniliformina
Columnas de Inmunoafinidad	La micotoxina problema se unirá a los anticuerpos monoclonales fijados en la columna de inmunoafinidad y mediante un líquido de lavado podrán eliminarse los restos del extracto. La elución de la micotoxina permitirá continuar el análisis.	Transportadores que unen al anticuerpo con la fase estacionaria: Agarosa, sefarosa o dextrano.	Aflatoxinas B, G, M Ocratoxina A, Deoxinivalenol, Fumonisin, Toxina T2 Zearalenona.

Fuente: Modificado de (Soriano del Castillo, 2007)

2. **Técnicas presuntivas o screening:** Su finalidad es la de descartar, de una manera rápida, las muestras negativas y reducir al máximo el número de análisis. En la tabla 16 se muestran algunas de ellas.

Tabla 16. Metodologías presuntivas para micotoxinas

Técnica		
Inmunoensayos	Radio Immuno Assay (RIA)	Se añade al medio de reacción un anticuerpo específico y una cantidad conocida de la micotoxina marcada radioactivamente, después de la incubación, se mide la radioactividad emitida por la muestra.
	Enzyme linked Immunosorbent Assay (ELISA)	Basada en la reacción específica antígeno-anticuerpo (Ag-Ac) y puede ser tipo competitivo directo o indirecto.
Biosensores	Óptico	Se coloca un dispositivo compacto de análisis que incorpora un elemento de reconocimiento biológico (un anticuerpo) asociado a un sistema de transducción, que permite procesar la señal producida por la interacción entre el elemento de reconocimiento y la micotoxina. Se basan en la medición de las variaciones que se producen en las propiedades de la luz.
	Piezoeléctrico.	Una vez colocado el anticuerpo, mide cambios directos de masa inducidos por la formación del complejo antígeno-anticuerpo.

Fuente: Modificado de (Soriano del Castillo, 2007)

3. **Técnicas de confirmación.** Se han empleado por mucho tiempo, y cada vez son mas actuales, utilizándose cromatografía en capa fina, electroforesis capilar, cromatografía gaseosa, cromatografía líquida (Ruiz, 2007).

2.3.8. Legislación de micotoxinas en alimentos

Desde el descubrimiento de las aflatoxinas en los años 60, y con mayor o menor prontitud, los gobiernos de la mayoría de los países del mundo han ido fijando límites máximos aceptables para distintas micotoxinas en los alimentos y piensos, mediante la promulgación de reglamentación particular, lo que ha ocasionado la aparición de una amplia

legislación en el ámbito internacional que para una misma micotoxina, diferente en los niveles de aceptación según el país (FAO, 2004).

Mediante una encuesta realizada por la FAO en el 2004, se encontró que 99 de 119 países contaban con legislación sobre micotoxinas, la no existencia de información o reglamentos se dió en pocos países de América Latina, y una buena parte del continente africano y asiático (Sharma, 2004).

Existen reglamentos armonizados o en vías de armonización entre países del mundo pertenecientes o no a determinados organismos, tal es el caso de los reglamentos armonizados de Australia y Nueva Zelanda, de los países de la UE, del MERCOSUR, la Asociación Europea de Libre Comercio (AELC), la Asociación de Naciones del Sudeste de Asia (ANSEA) y los miembros del Codex Alimentarius.

En la tabla 17, se resumen los niveles máximos permitidos para micotoxinas en algunos países, así como el tipo de alimento en los que son legislados.

Tabla 17. Límites permitidos para micotoxinas en diferentes países

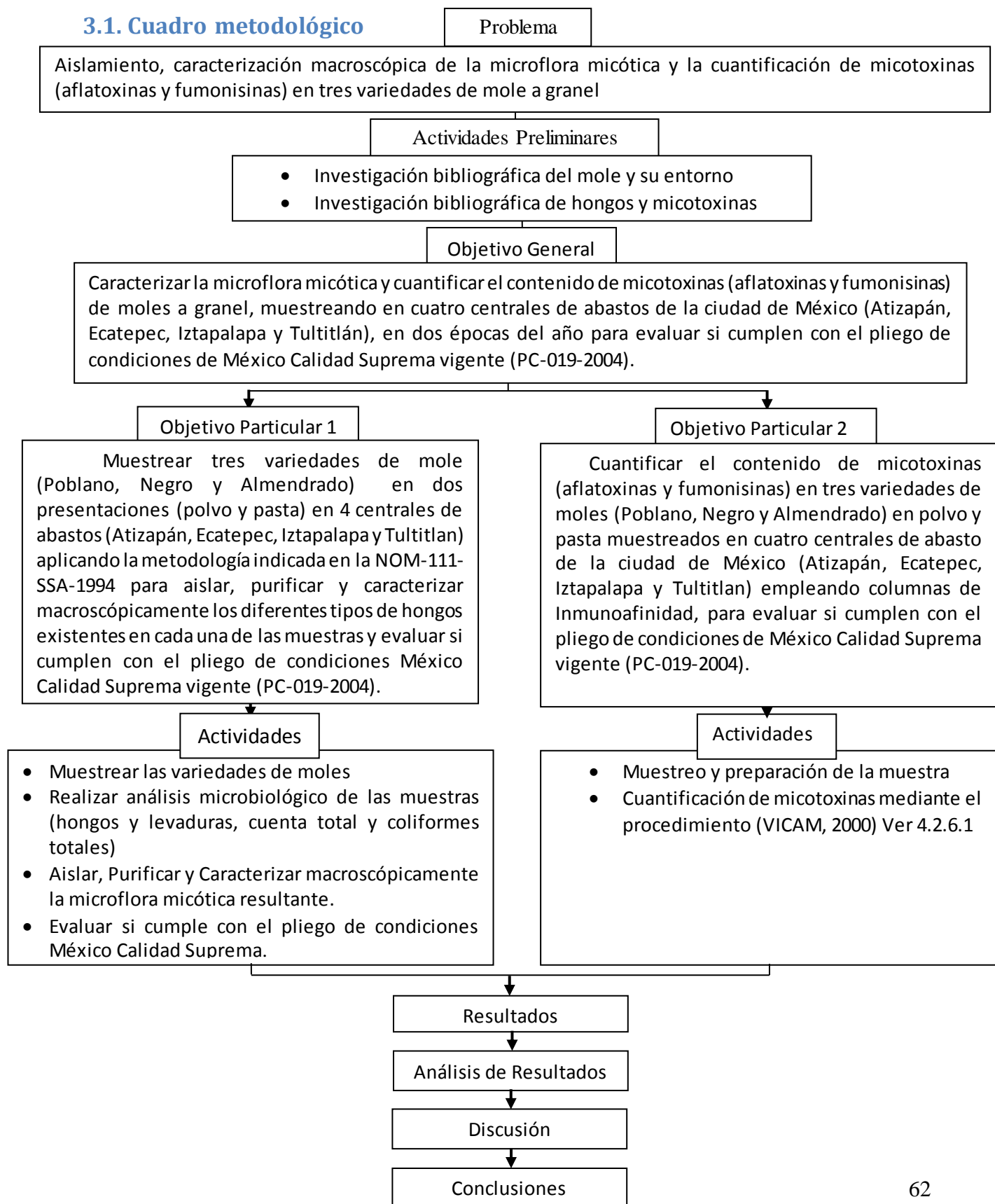
Pais	Micotoxinas	Límite máximo permisible (ppb o mg/kg)	Tipo de alimentos
Estados Unidos	Aflatoxinas B2, B2, G1, G2	20	Alimentos para consumo humano
	Aflatoxinas M1	0.5	Leche y derivados
	Aflatoxinas B1, B2, G1, G2	100 - 300	Alimentos para consumo animal
	Aflatoxinas B1.	5	Especies (Capsicum y pimienta, nuez moscada, jengibre y cúrcuma)
Union Europea	Aflatoxinas B1, B2, G1, G2	2	En cereales, nueces, frutas deshidratadas y productos procesados
	Aflatoxina M1	0.05	Leche y derivados
	Aflatoxinas B1, B2, G1, G2	15	Cacahuates
	Aflatoxinas B1, B2, G1, G2	100 - 200	Alimentos para consumo animal
	Aflatoxinas B1, B2, G1, G2	10	<i>Capsicum spp.</i> (frutos desecados, enteros o triturados, con inclusión de los chiles, el chile en polvo, la cayena y el pimentón)
	Patulina	50	Productos con jugo de manzana
	Fumonisina (B1 + B2 + B3)	4	Productos de maíz (Consumo humano)
		20 – 30	Alimentos para ganado
Ocratoxina A	5	En granos y cereales (consumo humano)	
Comision del Codex	Patulina	50	Jugo de manzana y productos con jugo de manzana
	Aflatoxinas B1, B2, G1, G2	15	Cacahuates
	Aflatoxina B1	0.5	Leche
Mexico	Aflatoxinas B1, B2, G1, G2	20	Cereales para consumo humano y animal
Perú	Aflatoxinas B1, B2, G1, G2	5	Ají Páprika (<i>Capsicum annum</i>) (Chiles secos)

Fuente: (Ruiz, 2007)

Metodología Experimental

3. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

3.1. Cuadro metodológico



3.1.1. Objetivos

Objetivo General: Caracterizar la microflora micótica y cuantificar el contenido de micotoxinas (aflatoxinas y fumonisinas) de moles a granel, muestreados en cuatro centrales de abastos de la ciudad de México (Atizapán, Ecatepec, Iztapalapa y Tultitlan), en dos épocas del año para evaluar si cumplen con el pliego de condiciones de México Calidad Suprema vigente (PC-019-2004).

Objetivo Particular 1. Muestrear tres variedades de mole (Poblano, Negro y Almendrado) en dos presentaciones (polvo y pasta) en 4 centrales de abastos (Atizapán, Ecatepec, Iztapalapa y Tultitlan) aplicando la metodología indicada en la NOM-111-SSA-1994 para aislar, purificar y caracterizar macroscópicamente los diferentes tipos de hongos existentes en cada una de las muestras y evaluar si cumplen con el pliego de condiciones México Calidad Suprema vigente (PC-019-2004).

Objetivo Particular 2. Cuantificar el contenido de micotoxinas (aflatoxinas y fumonisinas) en tres variedades de moles (Poblano, Negro y Almendrado) en polvo y pasta muestreados en cuatro centrales de abasto de la ciudad de México (Atizapán, Ecatepec, Iztapalapa y Tultitlan) empleando columnas de Inmunoafinidad, para evaluar si cumplen con el pliego de condiciones de México Calidad Suprema vigente (PC-019-2004).

3.2. Materiales y Métodos

El trabajo experimental se realizó en 4 etapas: muestreo, aislamiento - purificación del hongo, identificación macroscópica de estructura micótica y la cuantificación de micotoxinas; dichas etapas fueron realizadas en el Laboratorio de Tecnología en Análisis de Calidad de Alimentos (LTCA) de la Unidad de Posgrado FES Cuautitlán y en el Laboratorio de Micología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia - C.U.

3.2.1. Material biológico

Se seleccionaron las 3 variedades de moles más consumibles de la zona centro de la República Mexicana resultando el mole poblano en primer lugar, seguido del mole negro y del mole almendrado. Estos moles fueron analizados en dos presentaciones, en polvo y en pasta (Ballesteros, Fernández, & Hernández, 2010).

3.2.2. Muestreo

Se realizó el muestreo del material biológico en 4 centrales de abastos de la zona metropolitana de la ciudad de México (Iztapalapa, Atizapán de Zaragoza, Tultitlán y Ecatepec) de acuerdo a la NOM- 109- SSA1-1994 en las cuales se muestrearon 3 variedades de moles (Poblano, Negro y Almendrado) en dos presentaciones (polvo y pasta) adquiridos en dos locales seleccionados aleatoriamente. Este muestreo se realizó en 2 épocas del año Febrero – Marzo y Agosto – Septiembre del 2009.

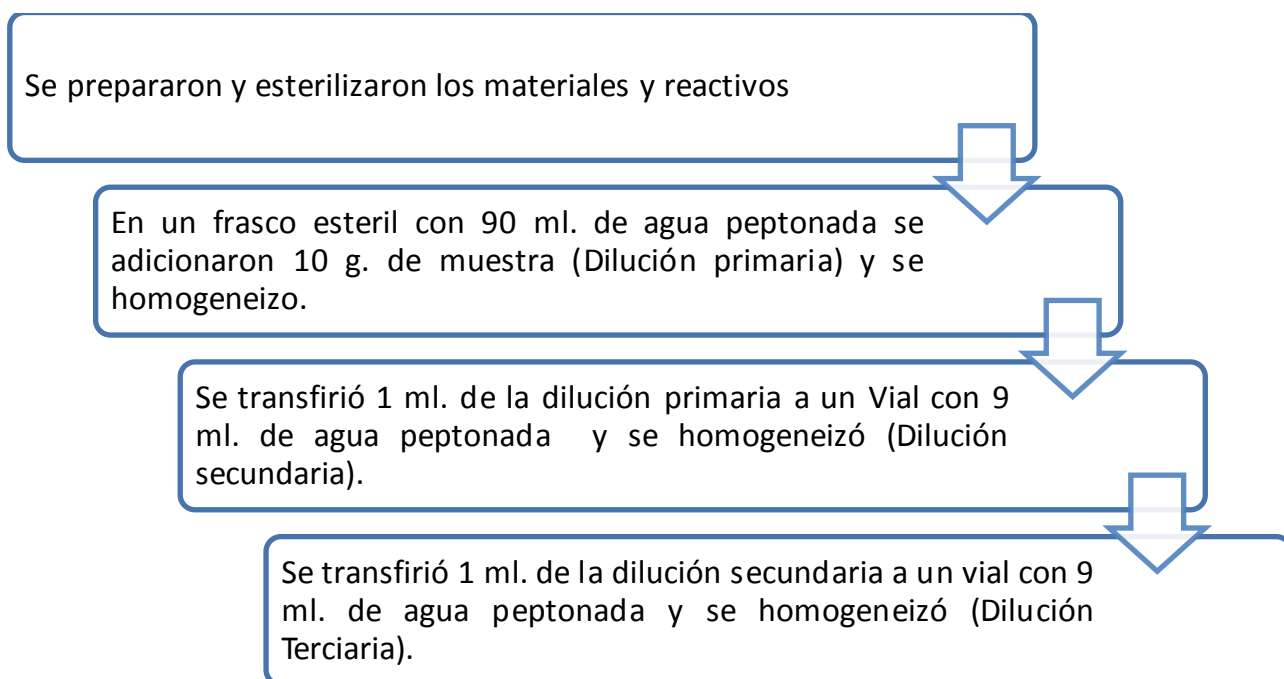
El muestreo se realizó por cuarteos hasta llegar a 1 kg. de mole, la toma de muestra se realizó con guantes, utensilios y se guardó en frascos de vidrio esterilizados previamente, tomando dos muestras por cada factor. Una vez obtenida la muestra de trabajo, se selló y etiquetó con el tipo de mole y su procedencia, así como la fecha de muestreo.

El manejo y transporte de las muestras al LTCA se efectuó de tal manera que se impidiera su ruptura, alteración o contaminación y evitando su exposición a la luz solar directa (NOM-109-SSA1, 1994).

3.2.3. Siembra microbiológica de las muestras

Para la siembra se consideró el tamaño de las poblaciones microbianas que pueden estar presentes en la muestra, que van desde algunos miles hasta varios millones de células por gramo, su determinación cuantitativa requiere de la preparación de diluciones conocidas de la muestra, y se utilizan cifras decimales conocidas para facilitar los cálculos. (NOM-110-SSA1-1994).

Las diluciones de la muestra se realizaron de acuerdo al siguiente procedimiento basado en la NOM-110-SSA1-1994.



Se realizó una siembra en superficie de acuerdo a la metodología establecida en la norma actual vigente (NOM-111-SSA1, 1994). (Anexo 3)

3.2.4. Aislamiento del hongo

Después de observar el crecimiento que los hongos desarrollaron en las cajas petri durante su incubación (72hr. 25 ± 1), se procedió a realizar el aislamiento de cada uno de los

hongos diferentes, ya que en muchas ocasiones se observó el crecimiento de varios de estos. Para esto se aplicó la técnica de aislamiento en caja. (El procedimiento se muestra en el anexo 3)

Posteriormente para el mejor manejo de la cepa se sembraron los hongos en viales, con su respectivo medio de cultivo, dejándose incubar a 22°C por 72 hr. Una vez crecidas las cepas se colocaron en refrigeración a 5°C para su posterior consulta e identificación en base a características macroscópicas.

3.2.5. Identificación macroscópica del hongo

Se observó el crecimiento y desarrollo del hongo en los viales durante las 72 horas posteriores a la incubación, describiendo así sus características macroscópicas (Color adverso y reverso del micelio, textura, apariencia, formación de oncoesporas y angiosporas), posteriormente se comparó contra manuales de identificación, la referencia que se empleó para la identificación fue Larone, H. D. (1995). *Medically Important Fungi. A guide to Identification*. ASM Press. Washington, D.C. pp 3-17, con ello se determinó el género de cada uno de los hongos.

Las cepas cuya identificación no era posible conocer mediante sus características macroscópicas, se identificaron mediante la observación de estructuras micóticas:

a) En el estudio microscópico de las estructuras micóticas, se tomó una pequeña porción del micelio con un asa micológica (doblada en L) y se colocó sobre un portaobjetos al cual se le ha añadido una gota de azul de lactofenol. Con dos agujas de disección se disgregó suavemente el trocito de micelio y luego se le sobrepuso un cubreobjetos. La preparación se calienta levemente pasándola sobre la llama de un mechero para favorecer la penetración del colorante. De esta manera pueden observarse las hifas y determinar si son septadas o no, y si presentan color; también estructuras de reproducción, el tamaño y morfología de las esporas, tamaño y forma de las cabezas conidiales, morfología de los conidióforos así como otros detalles morfológicos importante para la respectiva identificación. (Garcia, 2004)

b) Otras técnicas empleadas fueron el uso de micro cultivos.

3.2.6. Cuantificación de micotoxinas

La cuantificación de micotoxinas se llevó a cabo en el LTCA, en el cual la determinación de micotoxinas se realizó mediante columnas de inmutioafinidad Aflatest y Fumonitest, método de referencia por el AOAC 991.31 y 2001.04 respectivamente, que permite la medición de aflatoxinas y fumonisinas totales, haciendo la lectura en un fluorómetro VICAM VI, Serie 4, la metodología seguida se muestra en el anexo 3.

3.2.7. Análisis estadístico

Las determinaciones se realizaron por triplicado, mediante un diseño factorial de múltiples variables, sacando promedios y comparando los resultados encontrados entre si mediante un análisis de varianza a un nivel de significancia del 95% auxiliándose de un programa estadístico Minitab 15.

Resultados y Discusión

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Determinación de microflora micotica

En la tabla 18 se muestran los resultados de la determinación de micobiota micótica para las 48 muestras evaluadas, en la cual se observa el número de cepas encontradas en cada muestra y su posible género, así como la numeración asignada a cada cepa. (Las características observadas en cada cepa se presentan en el anexo 2).

Se encontró que las muestras con mayor variedad de cepas a identificar fueron la 6 y 22 con mole almendrado en polvo procedente de Atizapan recolectada en el segundo periodo de muestreo y la de mole negro en polvo procedente de Ecatepec del mismo periodo con 7 cepas diferentes en cada una de ellas, mientras que las muestras 16 (Polvo- Iztapalapa- Negro- 2), 19 (Polvo- Ecatepec- Poblano- 1) y 33 (Pasta- Tultitlán- Negro- 1) mostrarán una menor diversidad de cepas.

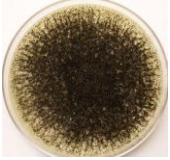
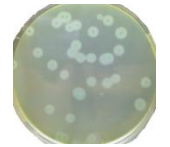

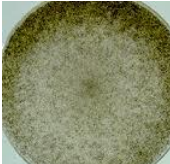


Por otra parte, se lograrán aislar 13 cepas de la muestra 20 con mole poblano en polvo procedente de Ecatepec recolectada en el segundo periodo de muestreo, sin embargo la mayoría de estas fueron pertenecientes al mismo género solo que en diferente estadio de madurez, por lo cual fueron agrupadas en éste. (Se encontraron varias muestras con esta misma tendencia).

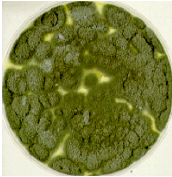
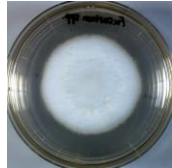
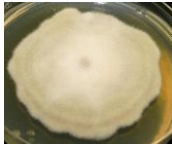

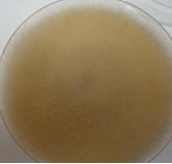
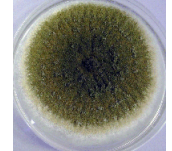
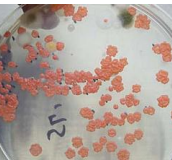
A su vez se realizó la identificación macroscópica de las cepas obtenidas durante la experimentación, éstas se resumen en la tabla 19, donde se observa la clave de identificación de cada uno de los géneros encontrados, así como el número de cepas determinadas en cada uno de ellos, las características generales observadas y su posible origen así como el porcentaje correspondiente para cada uno de ellos.

Tabla 18. Resultados de la identificación de micobiota micotica en moles a granel

Procedencia	Tipo de Mole	No. Muestreo	Polvo				Pasta			
			Muestra	No. Cepas	Numeración Asignada	Identif. de los presuntos géneros encontrados	Muestra	No. Cepas	Numeración Asignada	Identif. de los presuntos géneros encontrados
Atizapán	Poblano	1	1	4	1 a 4	A, B, C, D	25	5	114 a 118	D, L, A
		2	2	4	5 a 8	A, E, F, C	26	4	119 a 122	G, D, L
	Negro	1	3	4	9 a 12	A, G, H	27	5	123 a 127	A, G, B, D
		2	4	5	13 a 17	B, G, A, I, J	28	6	128 a 133	B, L, D, A, M
	Almendrado	1	5	3	18 a 20	K, B	29	4	134 a 137	G, H, A
		2	6	7	21 a 27	A, L, G, K, E, A, I	30	3	138 a 140	L, D
Tultitlán	Poblano	1	7	7	28 a 34	G, D, C, L, F, G	31	11	141 a 151	L, B, A, G, H, D
		2	8	4	35 a 38	L, A	32	5	152 a 156	A, L, D, B
	Negro	1	9	9	39 a 47	G, B, C, L, A	33	3	157 a 159	A
		2	10	3	48 a 50	I, L, F	34	3	160 a 162	L, H, D
	Almendrado	1	11	4	51 a 54	J, A, L, G	35	4	163 a 166	M, B, L
		2	12	2	55 a 56	L, C	36	3	167 a 169	H, B, L
Iztapalapa	Poblano	1	13	2	57 a 58	A, L	37	4	170 a 173	L, D, G
		2	14	5	59 a 63	D, K, A, L	38	7	174 a 180	B, G, A, H, L
	Negro	1	15	7	64 a 70	G, B, L, C, G, A	39	10	181 a 189	A, B, D, G, H, L
		2	16	1	71	L	40	5	190 a 194	L, D
	Almendrado	1	17	3	72 a 74	D, K	41	7	195 a 201	B, L, I, D, G
		2	18	3	75 a 77	I, A, G	42	3	202 a 204	L, B, D
Ecatepec	Poblano	1	19	1	78	D	43	5	205 a 209	G, D, L, H
		2	20	13	79 a 88	J, L, K, A, G, D	44	5	210 a 214	G, L, H
	Negro	1	21	3	89 a 91	A, D	45	6	215 a 220	A, D, L, E, M, K
		2	22	12	92 a 103	J, B, D, L, G, K, A	46	7	221 a 227	J, D, A, B, M, G
	Almendrado	1	23	6	104 a 109	L, D, C, G	47	4	228 a 231	J, D, L
		2	24	4	110 a 113	J, A, I, B	48	5	232 a 236	I, L, K

Tabla 19. Géneros aislados y características observadas.

Clave Identif.	Género	Cepas aisladas	%	Características macroscópicas principales	Origen	Imagen
A	<i>Aspergillus niger</i>	37	15.67	La colonia es lanosa, va de blanco a amarillo y posteriormente de café a negro, el reverso es blanquecino o amarillento. Colonias con formas planas, grandosas, negras y limitadas. Forma esporangiosporas	Hongo de deterioro avanzado /Medio ambiente	
B	<i>Saccharomyces spp.</i>	20	8.47	Sus colonias crecen rápidamente, son planas, suaves, húmedas, brillantes u opacas color crema. Contienen blastoconidios, ascosporas y fermentan.	Contaminante	
C	<i>Colletotrichum spp.</i>	7	2.96	El micelio es ramificado, esponjoso, denso y septado con coloración castaño, rosa, lila, morado ó rosapálido. Su colonia es radial con bordes enteros.	Hongo de Campo	
D	<i>Rhizopus spp.</i>	30	12.71	El micelio es algodonoso, de crecimiento rápido, su color va de blanco a gris o café amarillento, el reverso es blanco-grisáceo. Forma esporangiosporas	Hongo de deterioro avanzado	
E	<i>Cephalosporium spp.</i>	3	1.27	Micelio rampante, con hifas aéreas, de color blanco, entretejidas, coloración ligeramente rosada con reverso pardo oscuro, agrietando el medio de cultivo. Los esporoforos nacen como ramas laterales.	Hongo de Campo	
F	<i>Trichothecium spp.</i>	3	1.27	Colonias planas, granulosas y polvosas, con reverso de blanco a durazno. Hifas septadas, conidióforos largos, con células en forma de pera. Conidióforos	Hongo de Campo	

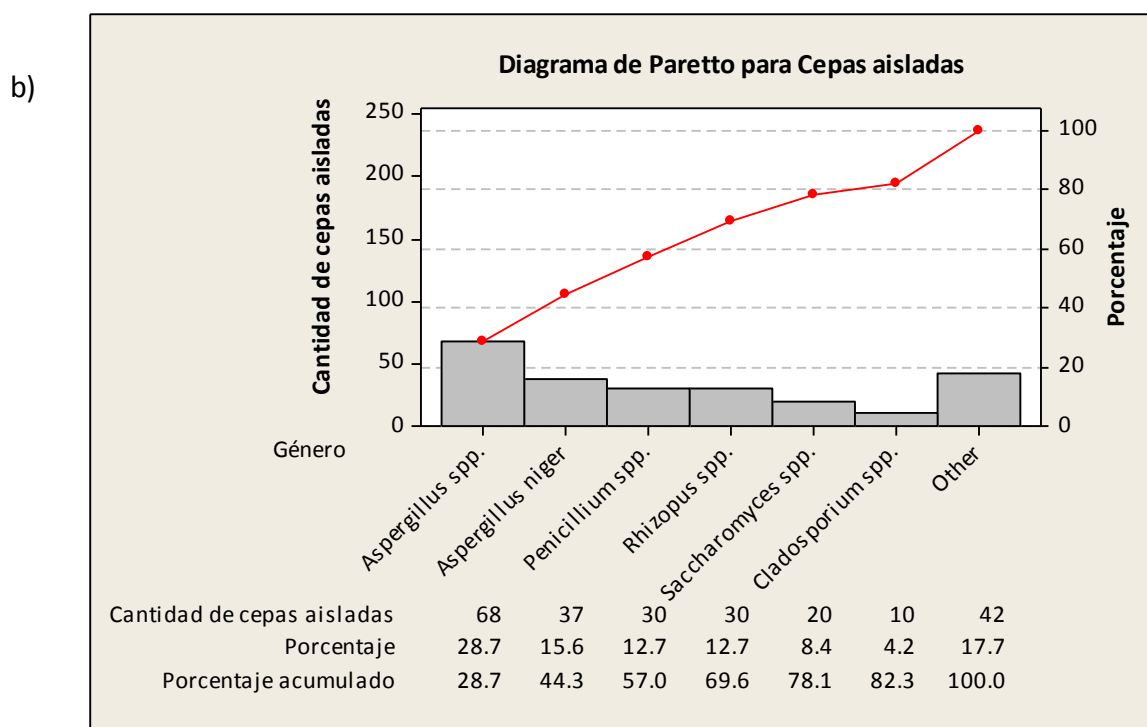
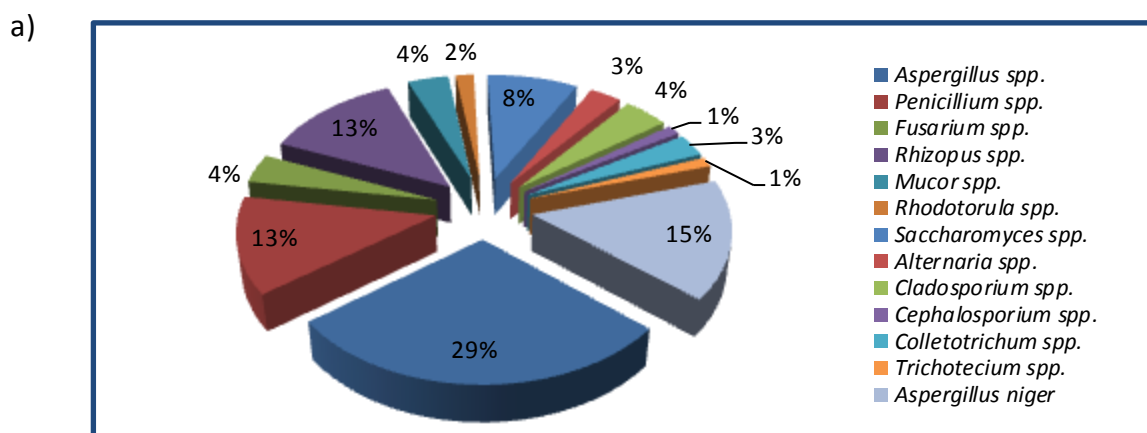
G	<i>Penicillium spp.</i>	30	12.71	Micelio verde o azul, con halo blanquecino en la periferia. La textura es aterciopelada, lanosa y depende de la disposición de las estructuras microscópicas	Hongos de Almacén	
H	<i>Fusarium spp.</i>	9	3.81	Micelio de color blanco, posteriormente toma tonalidades naranja o violeta-lila, tiene una forma vellosa-seca.	Hongos de Campo	
I	<i>Alternaria spp.</i>	7	2.96	Presenta una forma plana, aterciopelada, seca y en ocasiones lo cubre en velo vellosa blanco.	Hongo de Campo	
J	<i>Cladosporium spp.</i>	10	4.23	Presenta un color verde oscuro, las colonias de esta especie son planas, secas, aterciopeladas, hongo septado y obscuro (café verdoso), el tipo de estructuras son conidióforos cortos.	Hongo de Campo	
K	<i>Mucor spp.</i>	9	3.81	Micelio de blanco a marrón con reverso blanquecino y de textura algodonosa. Presenta hifas aseptadas y gruesas. Contiene esporangióforos con esporangio esférico, carece de apotisis, estolón y rizoides.	Contaminante / Suelo	
L	<i>Aspergillus spp.</i>	68	28.81	Colonias de diferentes coloraciones, formadas por densas agrupaciones de conidióforos, posee vesícula, estípe y célula pie.	Hongos de Almacén	
M	<i>Rhodotorula spp.</i>	4	1.69	Colonia rosada cremosa y/o rojo anaranjado, suave, brillante. Contienen blastoconidios globosos y elongados, así como pseudo hifas. No fermenta.	Contaminante	

En general se aislaron un total de 236 cepas, obteniéndose diversos presuntos géneros como *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Rhizopus* entre otros, mostrados en la tabla 19.

Se encontró que el género identificado con mayor frecuencia fue *Aspergillus spp.* con 105 muestras, de las cuales 37 pertenecieron a *A. niger* y 68 a otras especies de *Aspergillus*, con una equivalencia del 44% de la totalidad de cepas, por el contrario se observaron e identificaron 3 cepas de *Cephalosporium spp.* y 3 de *Trichothecium spp.*

En el gráfico 3a, se puede observar la distribución de acuerdo al tipo de género perteneciente; se identificaron 13 géneros diferentes cuyos orígenes provienen del Almacén, Campo, Deterioro Avanzado, Suelo y Medio ambiente.

Gráfica 3. Distribución de géneros encontrados en el aislamiento de cepas



Sin embargo el 80 % de las cepas identificadas correspondió a los géneros *Aspergillus spp.*, *Penicillium spp.*, *Rhizopus spp.*, *Saccharomyces spp.* y *Cladosporium spp.* como se observa en el grafico 3b, logrando así deducir e identificar las áreas de oportunidad en los diferentes moles.

Cabe destacar que el 28.81% de cepas provienen del género *Aspergillus spp.*, 15.67% de *A. Niger* y que es probable que hallan producido aflatoxinas durante su periodo vegetativo o germinativo. A su vez, se encontró que el 12.71 % de cepas son del género *Penicillium* posible productor de algunas micotoxinas y el 3.81 % fué del género *Fusarium* capaz de elaborar Fumonisinias (Soriano, 2007).

Conviene subrayar que la existencia de un hongo micotoxigénico no debe inferir la existencia de micotoxinas y a su vez, la ausencia de estos hongos no debe eximir la inclusión de ellas como menciona Silvestre, 1998 en sus investigaciones, ya que la ausencia del hongo puede deberse a que al no haber condiciones idóneas para su crecimiento, este murió dejando la micotoxina latente y por otra parte existen cepas micotoxigénicas sin la capacidad de generar micotoxinas.

Moreno, 1991., reporta que el género *Aspergillus* se caracteriza por no requerir agua libre para su desarrollo, algunas especies pueden hacerlo en productos con una actividad acuosa muy baja como es el caso del mole, producto de la investigación del presente trabajo.

En general se encontró que el 38.98% de las cepas pertenecían a hongos de almacén, de acuerdo a la clasificación de Christensen & Sauer, 1982, lo cual infería un mal manejo y manipulación del producto, así como una posible falla en los parámetros de conservación de los ingredientes.

Por otra parte se encontró que el 17.79 % son hongos provenientes del medio ambiente, (este porcentaje es principalmente de la presentación en polvo); la presencia de este tipo de hongos expresa una alta exposición a factores medio ambientales durante el procesamiento o análisis del alimento, así como una deficiencia en los estándares de limpieza de la planta o comercializadora del producto (Urrego, 2006 y Soriano, 2007). Al mismo tiempo, el 3.81 % del total de las cepas son de suelo, y su existencia pudo ser debido a malas prácticas en el procesamiento del producto (Montes, 2004 y Alexopoulos, 1985).

El 16.52 % de las cepas provienen del campo, como *Fusarium spp*, *Alternaria spp*, *Cladosporium spp*, *Cephalosporium spp*, *Colletotrichum spp* y *Trichothecium spp*. de estas cepas la presencia de *Fusarium*, *Alternaria* y *Trichothecium* es de suma relevancia ya que son productoras de micotoxinas. (Barug, Bhatnagar, Van Egmond, Van der Kamp, W.A., & A., 2006).

En base a la micobiota aislada de las 48 muestras de mole estudiadas, es obvio que en su elaboración se emplearon materias primas e ingredientes de baja calidad, las cepas aisladas muestran que algunas cepas llegaron a los productos desde el campo, lo cual implica Malas Prácticas Agrícolas (Cantu, 2001)

Por otra parte, Moreno, 1988 menciona que la presencia de cepas de campo deduce una mala conservación del alimento, ya que este tipo de hongos siguen persistiendo y aún no han desaparecido.

El 10.16 % correspondió a microflora contaminante y de competencia, la cual pudo presentarse por diversos factores, entre los que destacan la exposición al medio ambiente, el mal manejo del alimento y/o por contaminación cruzada.

A pesar de que en México se han hecho muchos esfuerzos para mejorar la calidad de los alimentos, se encontró que el 12.71% de cepas aisladas son hongos de “deterioro avanzado” lo cual indiscutiblemente evidencia la mala calidad de los ingredientes y resulta en productos de mala calidad.

Se han realizado varios estudios evaluando la diferente microflora micótica contenidas en diversos alimentos como frutas, hortalizas y otros alimentos; numerosos estudios coinciden en indicar que *Aspergillus* es el género más encontrado en Chile y derivados (Fazekas et al., 2005; Klieber, 2001; Reddy, 2001; Santos 2008; Shundo et al., 2009).

Por otra parte, Saeed, 2004, realizó una investigación para determinar la microflora micótica en chiles deshidratados, encontrando 13 géneros diferentes de los cuales los más identificados fueron: *Aspergillus niger*, *A. Flavus*, *A. fumigatus*, *A. Ochraceus*, *Penicillium chrysogenum* and *Rhizopus stolonifer*, congruente con los encontrados en el presente estudio.

Todo lo anterior, concuerda con lo que reporta Vargas, 2006., quien determinó la micobiota en chiles secos de diversas calidades, encontrando las mismas especies identificadas en esta investigación. Por lo que se podría decir que el problema principal de contaminación en el mole, parte del mal manejo que se tiene de los ingredientes y su almacenamiento.

Es importante considerar la presencia de hongos micotoxigenicos en el mole, ya que como se observó, algunas de las cepas identificadas son productoras de micotoxinas, no solo Aflatoxinas y Fumonisin, sino también Ocratoxina, Tricotecenos, Toxina T2, Nivalenol, Deoxinialenol y Diacetoxiscirpenol entre otras que no fueron consideradas en la presente investigación, pero que son de suma importancia para la inocuidad de este producto y seguridad de los consumidores.

4.2. Determinaciones microbiológicas

En cuanto a los resultados de los análisis microbiológicos para cada una de las muestras, se evaluaron mesófilos aerobios, coliformes totales, hongos y levaduras obteniendo los resultados expresados en la tabla 20.

Todas las muestras mostraron crecimiento de microorganismos y se observó que en ambas presentaciones para mesófilos aerobios, existen varias muestras con cargas microbianas tan altas que no fue posible su cuantificación, superando las legislaciones para moles en México.

En general se encontraron 3 muestras fuera de especificación en mesófilos aerobios (incontable), 1 muestra en mohos y levaduras y otra en coliformes para moles en pasta, mientras que en moles en polvo se encontraron 6 muestras fuera de especificación en mesófilos aerobios (incontable), 3 muestras en mohos y levaduras y 1 muestra en coliformes totales, comparado con lo estipulado en el pliego de Condiciones Mexico Calidad Suprema PC-019-2004.

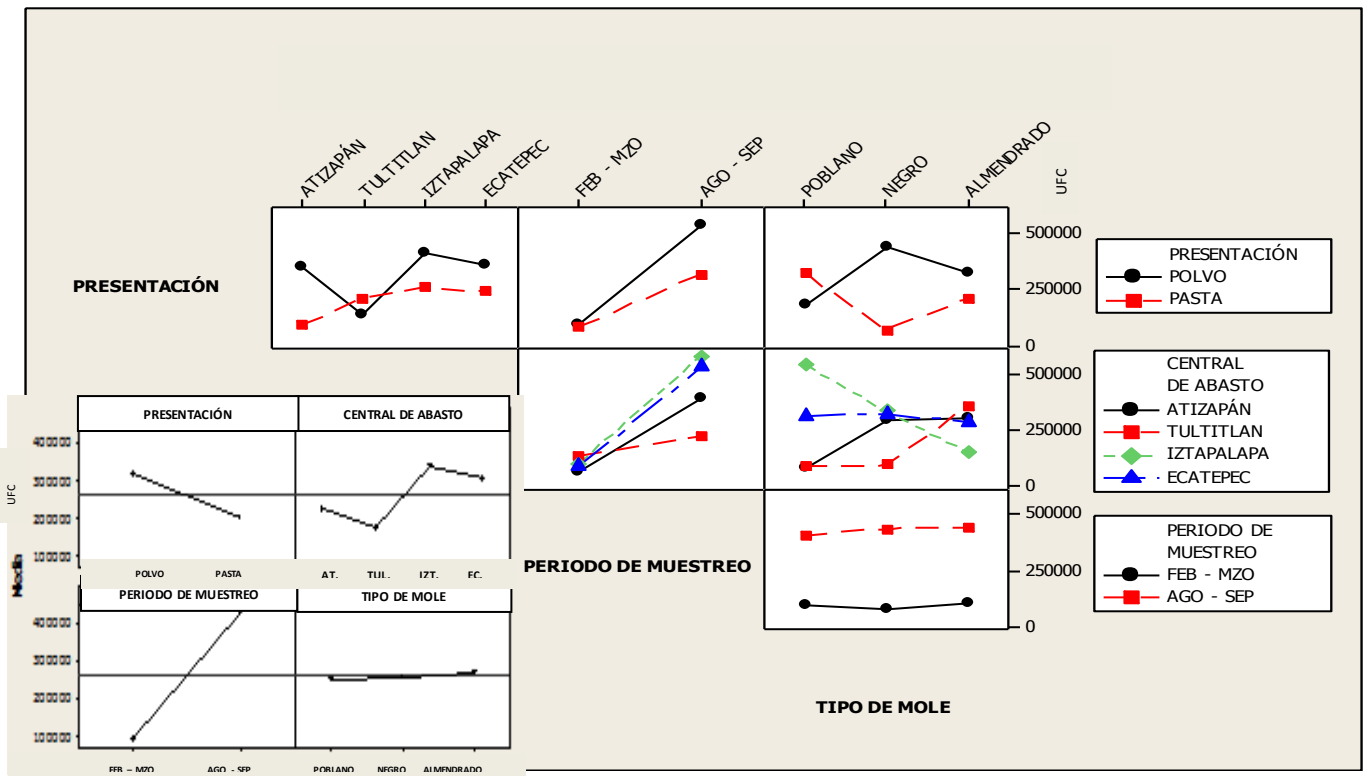
Tabla 20. Resultados de Análisis Microbiológico de moles a granel

Procedencia	Tipo	Período	Polvo				Pasta			
			Muestra	Microorganismo			Muestra	Microorganismo		
				Mesófilos UFC/g	Mohos y Levaduras UFC/g	Coliformes T. UFC/g		Mesófilos UFC/g	Mohos y Levaduras UFC/g	Coliformes T. UFC/g
Atizapán	Poblano	1	1	49500	100	0	25	108500	20	0
		2	2	23000	450	0	26	140000	150	0
	Negro	1	3	50000	10	175	27	15000	10	0
		2	4	Incontable	250	0	28	98500	650	0
	Almendrado	1	5	9500	10	0	29	112000	200	0
		2	6	Incontable	600	0	30	90000	250	0
Tultitlán	Poblano	1	7	127000	10	0	31	115000	450	950
		2	8	24000	850	150	32	66500	20	0
	Negro	1	9	226000	40	0	33	34500	20	0
		2	10	83500	1500	3700	34	24500	40	0
	Almendrado	1	11	247500	20	0	35	52500	10	0
		2	12	115500	5000	0	36	Incontable	700	150
Iztapalapa	Poblano	1	13	95500	10	0	37	55500	40	0
		2	14	Incontable	3000	0	38	Incontable	2500	50
	Negro	1	15	141000	10	0	39	28500	30	0
		2	16	Incontable	250	0	40	159500	200	10
	Almendrado	1	17	70000	10	10	41	194500	400	0
		2	18	187000	10	0	42	133000	200	60
Ecatepec	Poblano	1	19	117500	20	0	43	108000	450	30
		2	20	20500	150	0	44	Incontable	200	40
	Negro	1	21	51500	10	0	45	89500	150	0
		2	22	Incontable	400	0	46	132500	80	10
	Almendrado	1	23	9000	10	0	47	122000	150	40
		2	24	Incontable	250	0	48	14500	300	0
Referencia PC-019-2004				500 000	1000	500		500 000	1000	500

A su vez, se encontró que en la evaluación de hongos y levaduras la muestra de mole almendrado procedente de Tultitlán en el periodo 2 (muestra 12) contenía 5000 UFC/g resultando la más alta del estudio. Por otra parte en coliformes totales se encontrarón diversas muestras con varias Unidades Formadoras de Colonias (UFC), algunas de las cuales pudieron ser coliformes fecales.

Se realizó un análisis factorial de multiples variables para ver si existían efectos e interacciones de cada una de las variables independientes con la variable dependiente resultando lo mostrado en las gráficas 4, 5 y 6, en cuanto a mesófilos aerobios.

Gráfica 4. Interacción de variables para mesófilos aerobios en moles



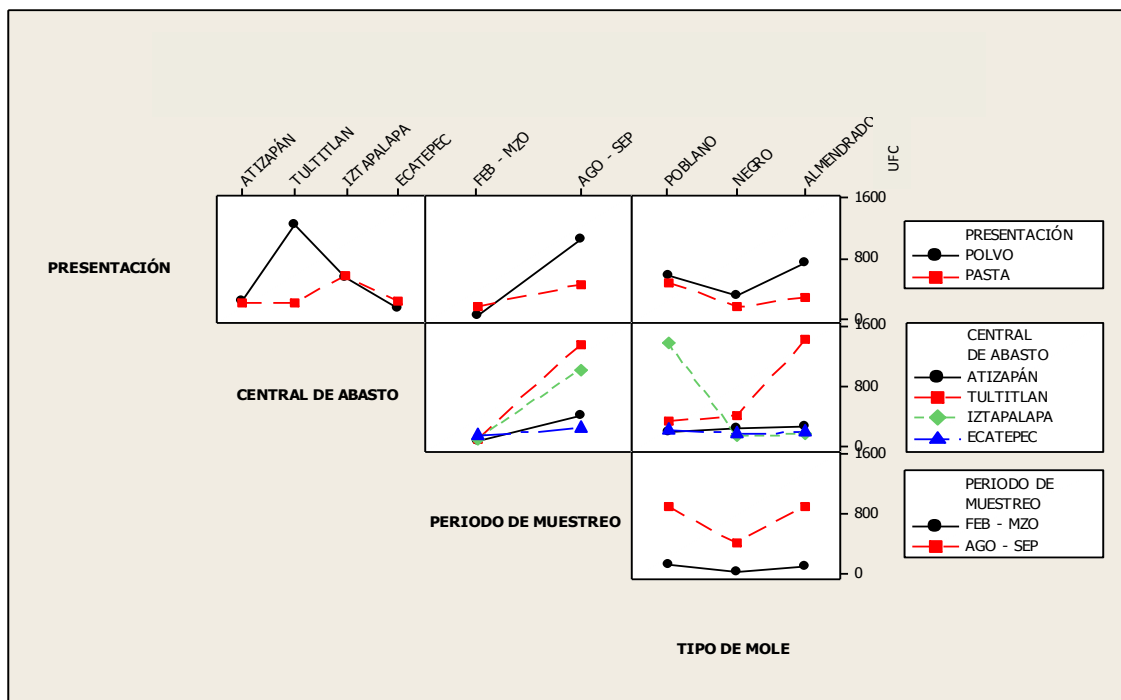
En la gráfica 4, se puede observar que los valores del mole en pasta para mesófilos son similares en las 4 centrales de abastos, sin embargo el mole en polvo está más contaminado en Iztapalapa y menos en Tultitlán. Con respecto al período de muestreo se observa un incremento considerable de mesófilos en el periodo Ago – Sep, sin importar la presentación o la central de muestreo.

En relación a la presentación, se observó que las muestras en polvo contenían una mayor carga microbiana que las de pasta, además se encontró que el mole negro en polvo es el más contaminado, así como el menos contaminado es el negro en pasta y para los demás tipos de moles no se encontró una diferencia marcada en la cuenta total de mesófilos.

En cuanto al tipo de mole, se observó que no existe una tendencia clara, sin embargo se encontró que la concentración de mesófilos en el mole negro fué muy similar en todas las centrales de abasto, por otra parte Ecatepec presentó mucha similitud en las determinaciones para cuenta total en todas las presentaciones.

En la gráfica 5, se puede observar el análisis de las interacciones de variables para Hongos y Levaduras (HL) en moles. En esta se puede encontrar que el mole muestreado en polvo en Tultitlán fue el que mayor microflora contenía, así como también se pudo observar que el resto de las centrales de abasto no marcaban diferencia con respecto al tipo de mole, sin embargo, también se encontró que en el 2do. periodo de muestreo se obtuvieron mayores valores de contaminación con respecto al tipo de mole y el lugar de procedencia que en el primero.

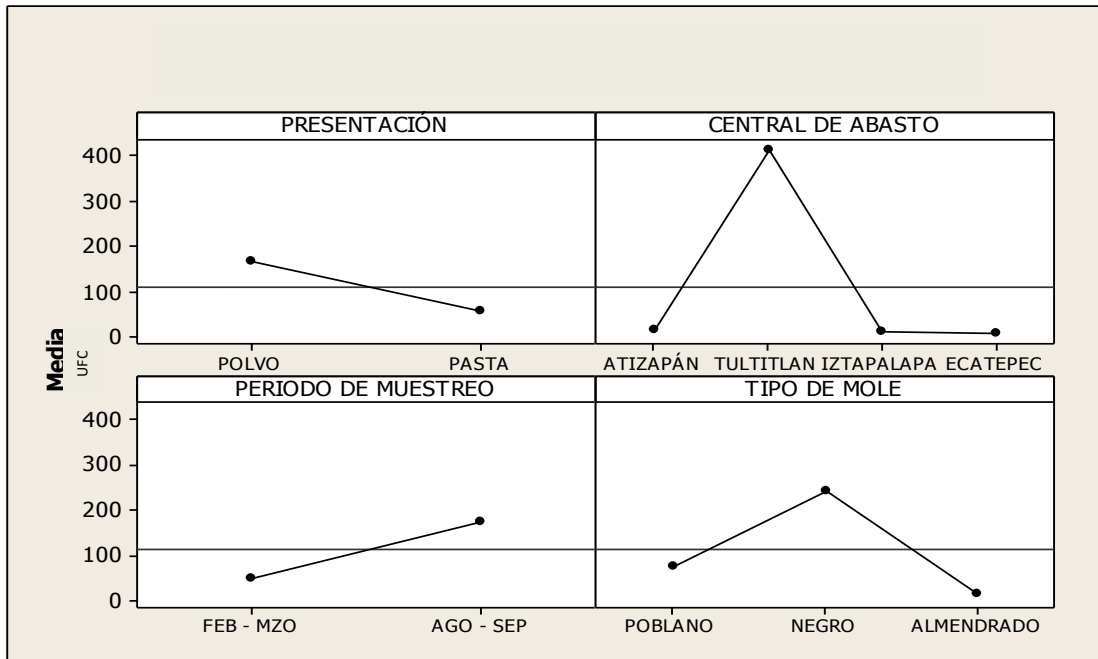
Gráfica 5. Interacción de variables para HL en moles



Por último se puede observar que existe una gran interacción entre las centrales de abasto y el tipo de mole, donde el mole negro presenta valores similares en todos los lugares de muestreo, sin embargo, el poblano en Iztapalapa y el almendrado en Tultitlán presentaron los valores más altos para HL.

En cuanto a los Coliformes totales presentes en las muestras, se encontró lo mostrado en el gráfico 6, donde el valor máximo de contaminación fué en el mole negro muestreado en Tultitlán en el periodo Ago – Sep, sin embargo, los moles en polvo mostraron más datos para este análisis, con lo cual se puede deducir el riesgo potencial que pudiera tener este tipo de producto, al ser consumido por la población.

Gráfica 6. Efectos principales para Coliformes en moles



Con respecto a las centrales de abasto, se encontró que en Tultitlán existe una mayor concentración de coliformes en cualquiera de sus presentaciones en los diferentes moles estudiados y también se determinó que los moles en polvo mostraban más datos para esta evaluación.

Por último se observó que el mole con mejor calidad en cuanto a coliformes, era el almendrado, seguido por el poblano y por último el negro. Por otra parte, los datos de las centrales

de abasto con respecto al periodo de muestreo y el tipo de mole no mostraron tener gran diferencia a excepción de los muestreados en Tultitlán los cuales dieron positivo a coliformes al igual que el mole negro muestreado en agosto – septiembre que se observó con un gran crecimiento en este parámetro.

El análisis de varianza realizado a las muestras para los diferentes parámetros microbiológicos, se resumen en la tabla 21.

Tabla 21. Análisis de varianza para las determinaciones microbiológicas en moles

Evaluación	Fuente de variación	F	P	Aceptacion de la Ho	Interpretación
Mesofilos	Presentación	1.41	0.241	Acepta Ho	No hay efecto en la variación
	Central de abasto	0.59	0.624	Acepta Ho	No hay efecto en la variación
	Periodo de muestreo	12.19	0.001	Rechaza Ho	Sí existen diferencias significativas en las muestras
	Tipo de mole	0.01	0.986	Acepta Ho	No hay efecto en la variación
HL	Presentación	0.97	0.330	Acepta Ho	No hay efecto en la variación
	Central de abasto	1.16	0.339	Acepta Ho	No hay efecto en la variación
	Periodo de muestreo	7.36	0.010	Rechaza Ho	Sí existen diferencias significativas en las muestras
	Tipo de mole	0.63	0.538	Acepta Ho	No hay efecto en la variación
Coliformes	Presentación	0.51	0.479	Acepta Ho	No hay efecto en la variación
	Central de abasto	1.63	0.199	Acepta Ho	No hay efecto en la variación
	Periodo de muestreo	0.62	0.436	Acepta Ho	No hay efecto en la variación
	Tipo de mole	0.75	0.480	Acepta Ho	No hay efecto en la variación

En los análisis de varianza para cada uno de los aspectos microbiológicos no se encontraron diferencias significativas a un nivel de significancia del 95%, por lo cual se acepta la hipótesis nula (Ho) donde todos las medias de los valores son significativamente similares y no hay diferencias entre las muestras. Sin embargo, se encontraron algunas excepciones, como es el caso del periodo de muestreo en mesófilos y HL, en los cuales $P < 0.05$, por lo que se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis nula de que sí existen diferencias significativas entre los datos ó que al menos una muestra es diferente al resto, lo cual nos dirige a poner especial atención a esta fuente de variación, que fue el periodo de muestreo.

Por otra parte para el caso de Coliformes en los moles, ninguna presentó diferencias significativas. Al realizar el ANOVA de una sola variable se encontró que en Tultitlán sí existen dichas diferencias entre los datos, determinando que fue la central donde se encontró más crecimiento en este parámetro.

En general y de acuerdo a lo observado en las tablas (20 y 21) y gráficos (4, 5, y 6) las cuentas de mesófilos aerobios, coliformes, hongos y levaduras en las muestras analizadas es variable, pero existe una marcada diferencia entre las muestras en polvo y pasta, ya que las determinaciones de muestras en polvo resultaron mas altas que las de pasta, esto puede ser debido a diversos factores fisicoquímicos intrínsecos del mole (humedad, acidez, aw), los cuales limitan la cantidad de microorganismos que se desarrollan en él, además de que el contenido de grasa en las muestras influye en estos resultados, al dificultar la absorción de nutrientes a los microorganismos y fungir como agente antimicrobiano. Duman (2010), evaluó chiles con diferentes contenidos de humedad y aceite, obteniendo resultados similares a los encontrados en esta investigación.

De igual manera el mole almendrado y negro comparten preponderancia en mesofilicos y HL, esto puede ser provocado por la red de componentes que integran a estos productos, la cual protege a los microorganismos de cambios bruscos, probablemente algunos de los microorganismos más susceptibles a dichos cambios, pudieron haberse perdido o desarrollado mas fácilmente, sobre todo por las oscilaciones de humedad y temperatura que pudieron ocurrir durante el almacenamiento, previos o durante su análisis (Santillan, 2010).

Por otra parte, se observó un incremento en los valores microbiológicos en el segundo periodo de muestreo (AGO - SEP) que en el primero (FEB - MZO), probablemente debido a factores de tipo ambientales en la toma de muestra como temperatura y humedad relativa, ya que en esa temporada es común encontrar altas precipitaciones pluviales, así como otros factores relacionados con el origen en la materia prima y fabricación del mole.

Además se observó, cuando se tomó la muestra en la central de abastos de Tultitlán, la limpieza en los locales distribuidores era deficiente, y no tenían medidas de protección para el producto, lo cual se ve reflejado en los resultados.

4.3. Análisis de Aflatoxinas

La cuantificación de aflatoxinas se realizó mediante el método de columnas de inmunoafinidad Aflatest que permiten la medición de todas las micotoxinas importantes, incluyendo las aflatoxinas (B1, B2, G1, y G2).

En la tabla 22, se observan los resultados de los promedios obtenidos de la cuantificación de aflatoxinas de los diferentes moles.

Tabla 22. Resultados de análisis de Aflatoxinas en moles a granel

Procedencia	Tipo	Periodo	Polvo				Pasta			
			Muestra	Promedio ppb	D.E.	C.V. %	Muestra	Promedio ppb	D.E.	C.V. %
Atizapán	Poblano	1	1	7.31	0.0656	0.8971	25	4.23	0.1155	2.7276
		2	2	8.22	0.0208	0.2533	26	5.03	0.0889	1.767
	Negro	1	3	5.65	0.05	0.885	27	2.79	0.0265	0.9483
		2	4	5.9	0.5292	8.9686	28	3.27	0.0306	0.9333
	Almendrado	1	5	4.16	0.0451	1.0848	29	0.3	0.0252	8.2965
		2	6	5.8	0.105	1.81	30	1.29	0.0902	6.9731
Tultitlán	Poblano	1	7	17.38	0.0354	0.2035	31	5.56	0.0529	0.9517
		2	8	19.23	0.0643	0.3344	32	8.32	0.106	1.2744
	Negro	1	9	7.8	0.0252	0.3228	33	4.07	0.09	2.2113
		2	10	9.26	0.0351	0.3791	34	4.66	0.0252	0.5404
	Almendrado	1	11	6.74	0.0529	0.7851	35	2.26	0.0351	1.5562
		2	12	7.62	0.0289	0.379	36	2.96	0.0603	2.0387
Iztapalapa	Poblano	1	13	13.4	0.0252	0.1878	37	4.77	0.0321	0.6734
		2	14	14.55	0.0451	0.31	38	6.3	0.1	1.5873
	Negro	1	15	6.07	0.0611	1.0072	39	3.86	0.0569	1.4718
		2	16	8.78	0.0721	0.8213	40	4.01	0.0907	2.2609
	Almendrado	1	17	6.75	0.0503	0.7453	41	1.5	0.0252	1.6815
		2	18	6.36	0.0513	0.8073	42	2	0.0153	0.765
Ecatepec	Poblano	1	19	9.6	0.095	0.9904	43	4.21	0.0361	0.8564
		2	20	11.67	0.4509	3.8651	44	7.04	0.0651	0.9238
	Negro	1	21	8.47	0.0462	0.5451	45	3.34	0.052	1.5557
		2	22	8.13	0.1528	1.8781	46	3.61	0.01	0.277
	Almendrado	1	23	5.97	0.0577	0.9676	47	1.05	0.0866	8.2479
		2	24	6.73	0.0416	0.6183	48	1.59	0.0115	0.7247
Límite en E.U. (ppb)				20			20			
Límite en UE. (ppb)				2			2			

En la tabla anterior se observa que las muestras en polvo contienen una mayor cantidad de aflatoxinas en comparación con las muestras en pasta, también se encontró que las muestras de mole poblano en Tultitlan fuerón las que resultaron con una mayor concentración de aflatoxinas totales, y al contrario, las muestras de mole almendrado de Atizapan obtuvieron una menor concentración de éstas.

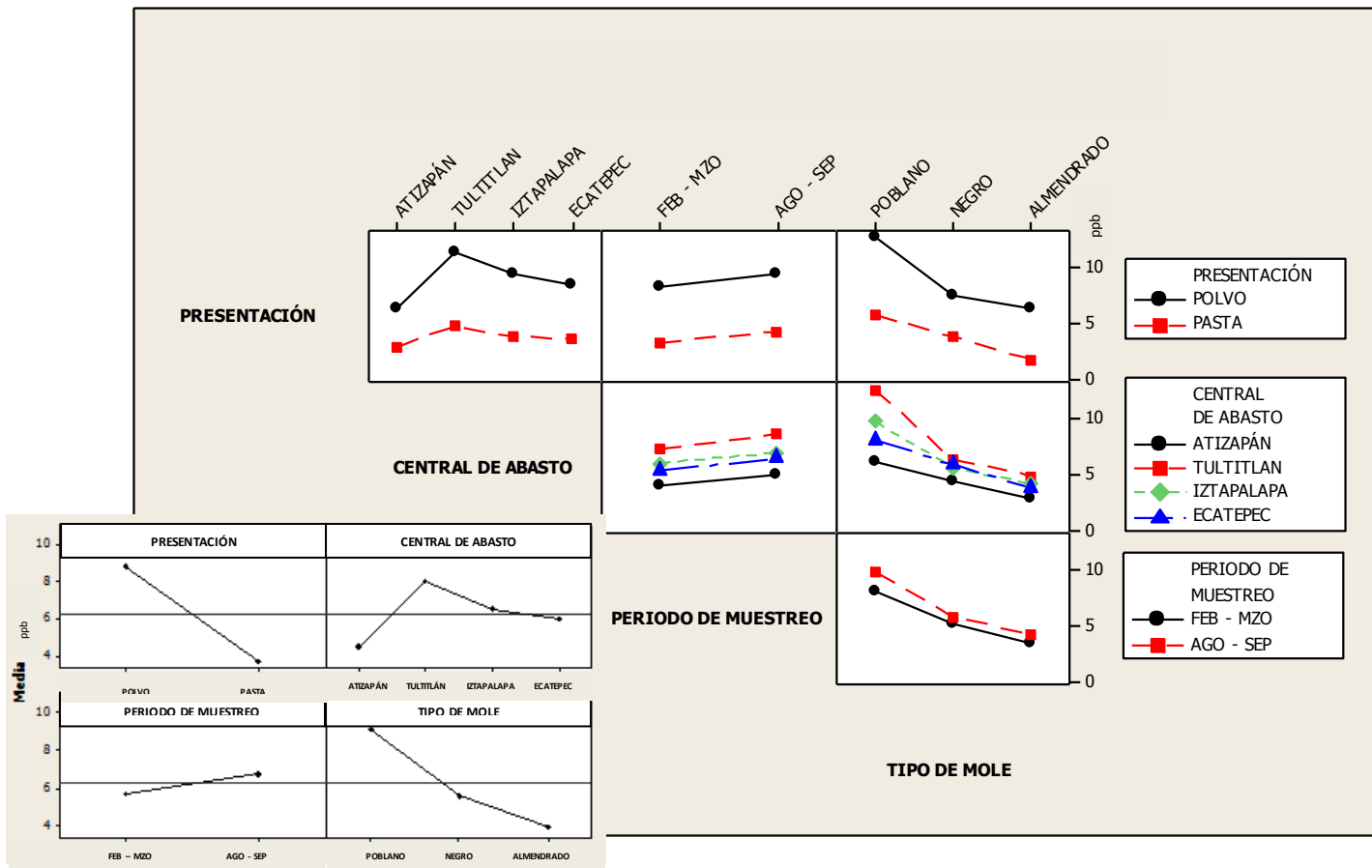
La concentración de aflatoxinas osciló entre 0.3 ppb en la muestra de mole almendrado en pasta procedente de Atizapán en el primer periodo de muestreo y hasta 19.23 en la muestra de mole poblano en polvo procedente de Tultitlán en el segundo periodo de muestreo, estas concentraciones se encuentran en el límite aceptado para alimentos en los E.U., sin embargo para la UE. se encuentran fuera de lo permitido.

Por otra parte, auxiliándose en el programa estadístico Minitab 15 se determinaron las interacciones de las variables y sus efectos principales, los cuales se muestran en el gráfico 7, donde se pudo corroborar que el mole en polvo resultó con una mayor concentración de aflatoxinas que el mole en pasta, coherente con los resultados obtenidos en la identificación de la microflora micótica, en la cual se encontraron más cepas productoras en la presentación en polvo que en pasta, lo cual nos dice que la cepa creció, produjo la toxina y murió. Además se pudo hallar una tendencia en los periodos de muestreo de tal manera que el 2do. periodo de muestreo resultó más contaminado que el muestreado en Feb – Mzo., congruente con lo anteriormente mencionado.

Por otra parte, se encontró que en todas las centrales de abasto el mole poblano tenía una mayor concentración de aflatoxinas seguido del mole negro y por último el almendrado. Esto es probable que sucediera ya que el precio del mole almendrado es mayor que del resto de los moles, incluyendo en éste, materia prima de mejor calidad que a su vez, provocó un menor crecimiento de los hongos micotoxigénicos, y a su vez de las aflatoxinas. Tambien se observó que en el mole negro muestreado en los 4 lugares, la concentración de aflatoxinas era similar.

Por otra parte, se determinó que las muestras procedentes de Tultitlán contenían una mayor concentración de esta toxina que el resto de las centrales de abasto y en menor medida Atizapán.

Gráfica 7. Interacción de los factores con las Aflatoxinas



Por último se realizó un Análisis de varianza para determinar si el efecto de las variables independientes eran significativas en la concentración de aflatoxinas o no, los resultados se muestran en la tabla 23.

Tabla 23. Análisis de varianza realizado para Aflatoxinas en moles

Evaluación	Fuente de variación	F	P	Aceptación de la Ho	Interpretación
Aflatoxinas	Presentación	121.43	0.00	Rechaza Ho	Existe diferencias significativas en al menos una de las muestras
	Central de abasto	9.57	0.00	Rechaza Ho	Existe diferencias significativas en al menos una de las muestras
	Periodo de muestreo	5.01	0.03	Rechaza Ho	Existen diferencias significativas en al menos una de las muestras
	Tipo de mole	43.71	0.00	Rechaza Ho	Existen diferencias significativas en al menos una de las muestras

En la realización del análisis estadístico, se pudo observar claramente que los datos para la presentación del mole son significativamente diferentes, así como también, para el caso de las centrales de abasto, periodo de muestreo y tipo de mole. Aceptando en todas ellas la Hipótesis nula (H_0), subrayando que todas las variables influyen fuertemente en el valor de la variable dependiente (Aflatoxinas).

En base a la tabla 19 (pag. 71) y gráfico 3a (pag. 73) se observa que *Aspergillus* fue el género más encontrado en las muestras, por lo que éstas fueron más susceptibles a la contaminación con aflatoxinas, sin importar que durante la identificación, no en todas se aisló, ya que *Aspergillus* antes del análisis creció, produjo la toxina y al no haber condiciones favorables para su desarrollo murió, dejando la toxina como está reportado en la literatura por Moreno, 1991.

Vargas, 2006., Ruiz, 2007., y Flores, 2009 realizaron trabajos experimentales en el LTCA, UNAM donde evaluaron la presencia de hongos toxigénicos, la presencia de micotoxinas y el contenido de aflatoxinas respectivamente en chiles y salsas de diferentes variedades y calidades, encontrando concentraciones de hasta 123 ppb procedentes de diversas centrales, siendo que para estos alimentos el límite en México es de 20 ppb.

Con lo anterior se comprueba que las condiciones de limpieza, manejo y almacenamiento que se tienen en las diferentes centrales de abasto han sido inadecuadas, pues sin importar con que tipo de chile o mole se trabaje, se tendrá la presencia de contaminación por hongos filamentosos (de campo, almacén y deterioro avanzado) y la presencia de micotoxinas, tanto aflatoxinas como fumonisinas.

Debido a la presencia del hongo y toxina en el ambiente, la proliferación de micotoxinas en los alimentos se considera un problema casi inevitable, la contaminación de diferentes productos alimenticios es cada vez más grande y las tolerancias de micotoxinas que se tienen para los alimentos en diferentes países varía de acuerdo a las reglamentaciones con las que cuenta cada país. En México solo están establecidos los límites máximos de aflatoxinas para leche (0.05 ppb) y cereales (20 ppb). Cabe mencionar que es de suma importancia tener una legislación para aflatoxinas en México, puesto que a nivel mundial es el segundo país con mayor producción de chile.

El pliego de condiciones México Calidad Suprema 019 para mole, no tiene especificado las tolerancias de aflatoxinas para este producto, siendo que es un producto de consumo frecuente en la dieta del mexicano, por lo cual se considera importante establecer los niveles máximos permitidos de aflatoxinas en los moles como una medida preventiva para evitar serios problemas de salud.

En la literatura Urrego, 2006, reporta que existen muchos cereales, semillas de oleaginosas, nueces y frutos deshidratados, como es el caso del chile seco y los ingredientes del mole, que son susceptibles a la contaminación con hongos toxigénicos y la formación de micotoxinas, dependiendo de las condiciones de almacenamiento que se manejen, por lo que podría existir posible contaminación con micotoxinas desde las materias que son empleadas para la elaboración, lo cual tiene serias repercusiones en la salud humana, como puede ser la presencia de cáncer en el hígado, por ello es importante tomar en cuenta que es de suma importancia mantener condiciones adecuadas de almacenamiento en los alimentos, para así evitar la presencia de hongos toxigénicos y contaminación de aflatoxinas.

Por otra parte es importante el mejorar las Buenas Prácticas Agrícolas (BPA) y las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) en toda la cadena de producción del mole para así evitar problemas de inocuidad en el producto, y posteriores problemas de salud en los consumidores.

4.4. Análisis de Fumonisin

En la tabla 24, se muestra el resultado de la determinación de fumonisin en las muestras, en ésta se observa que la mayoría de las muestras se encuentran dentro de los límites establecidos para alimentos en la UE., que es de 4ppm (Ruiz, 2007)

En general, todas las muestras analizadas de mole en polvo y pasta provenientes de las diferentes centrales de abastos están contaminadas con fumonisin.

Tabla 24. Resultados de análisis de Fumonisinias en moles a granel

Procedencia	Tipo	Periodo	Polvo				Pasta			
			Muestra	Promedio ppm	D.E.	C.V. %	Muestra	Promedio ppm	D.E.	C.V. %
Atizapán	Poblano	1	1	3.48	0.0252	0.7239	25	2.83	0.0577	2.0377
		2	2	3.93	0.0208	0.5292	26	1.6	0.1	6.25
	Negro	1	3	2.06	0.0529	2.5687	27	0.54	0.0361	6.6769
		2	4	2.43	0.03	1.2346	28	2.76	0.1528	5.5212
	Almendrado	1	5	0.28	0.0252	9.0962	29	5.53	0.2517	4.5481
		2	6	0.69	0.0379	5.4605	30	6.33	0.1528	2.4119
Tultitlán	Poblano	1	7	5.08	0.1258	2.4754	31	0.76	0.0153	2.0011
		2	8	6.54	0.04	0.6116	32	1.01	0.0854	8.4594
	Negro	1	9	4.04	0.0404	0.9995	33	2.6	0.1	3.8462
		2	10	3.79	0.0153	0.4034	34	1.3	0	0
	Almendrado	1	11	2.55	0.05	1.9608	35	4.83	0.0577	1.1945
		2	12	3.06	0.0513	1.6788	36	2.93	0.0577	1.9682
Iztapalapa	Poblano	1	13	3.92	0.1041	2.6574	37	3.16	0.2082	6.5737
		2	14	4.54	0.0321	0.7086	38	0.84	0.04	4.7619
	Negro	1	15	3.28	0.0721	2.1985	39	0.36	0.0153	4.2042
		2	16	3.44	0.0529	1.5382	40	1.53	0.0577	3.7653
	Almendrado	1	17	1.15	0.03	2.6087	41	2.43	0.0577	2.3727
		2	18	2.13	0.0751	3.5293	42	8.23	0.0577	0.7012
Ecatepec	Poblano	1	19	3.88	0.0289	0.7434	43	2.9	0	0
		2	20	4.22	0.0153	0.3623	44	2.73	0.0577	2.1123
	Negro	1	21	2.65	0.0503	1.9017	45	1.73	0.1528	8.8126
		2	22	2.82	0.0764	2.7116	46	1.4	0.1	7.1429
	Almendrado	1	23	0.85	0.05	5.8824	47	3.5	0.1	2.8571
		2	24	1.28	0.1124	8.804	48	1.33	0.0577	4.3301
Límite en UE. (ppm)				4			4			

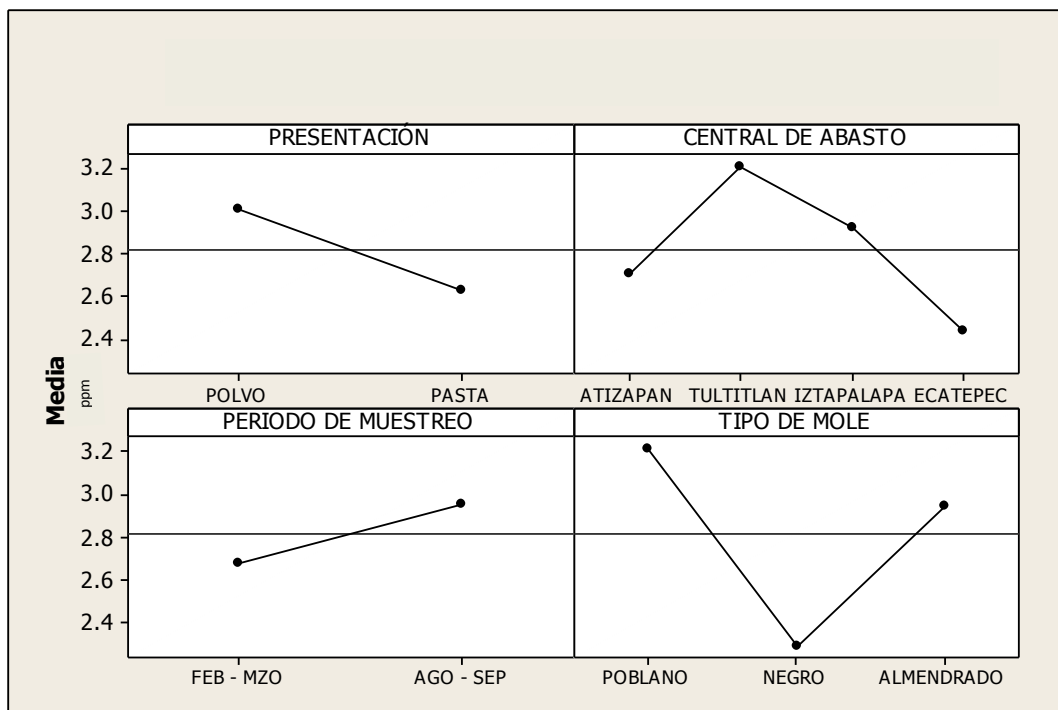
En la gráfica 8 se puede observar las interacciones de las variables independientes con la dependiente, observando que la presentación de mole que más contaminación presenta en 3 centrales de abastos fue polvo, sin embargo, en Atizapán la presentación en pasta mostró mayor cantidad de fumonisinas.

Por otra parte, se observó la misma tendencia que las aflatoxinas en el caso de las fumonisinas, con respecto al periodo de muestreo contra la presentación y centrales de abasto en las cuales los meses de Ago – Sep se ubicaron en una mayor concentración de fumonisinas.

Por último, en cuanto al tipo de mole no se encontró un comportamiento definido, aunque el poblano en polvo mostró una concentración ligeramente mayor que la encontrada en almendrado pasta, así como en las centrales de abasto se observó que el mole negro de Ecatepec presentaba una menor concentración de fumonisinas que en el resto.

A su vez, se observa que los moles en polvo presentan una mayor concentración de la toxina que los moles en pasta, de 2.6 y 3.0 ppm, respectivamente, ubicándose la media en 2.8 ppm, por otra parte, se encontró que Tultitlán fue la central de abastos donde se encontró mayor cantidad de fumonisinas, seguido de Iztapalapa y debajo de la media Atizapan y Ecatepec.

Gráfica 8. Principales efectos de las variables con las Fumonisin



Con respecto al periodo de muestreo se encontró que el 2do. periodo de muestreo de moles fue el que se encontró con mayor concentración de la toxina, ubicándose en 2.65 y 3.0 ppm que el primer muestreo, así como el mole poblano presentó mayor grado de contaminación y el negro un menor grado.

El análisis de varianza se muestra en la tabla 25, donde se observó que no existieron diferencias significativas entre los datos por lo que se rechazan las H_0 .

Tabla 25. Análisis de varianza realizado para Fumonisinias en moles

Evaluación	Fuente de variación	F	P	Aceptacion de la Ho	Interpretación
Fumonisinias	Presentación	0.53	0.472	Acepta Ho	No hay efecto en la variación
	Central de abasto	0.40	0.753	Acepta Ho	No hay efecto en la variación
	Periodo de muestreo	0.28	0.602	Acepta Ho	No hay efecto en la variación
	Tipo de mole	1.13	0.333	Acepta Ho	No hay efecto en la variación

En México no existe una normatividad que regule el contenido de fumonisinias en alimentos lo cual indica que no existe una obligación por parte de las empresas a cumplir una normatividad con respecto a esta micotoxinas. La Unión Europea regula el contenido de fumonisinias en productos del maíz por medio del Reglamento (CE) No. 1126/2007, en donde menciona que el contenido de fumonisinias totales debe de ser menor de 4 ppm y en cereales máximo de 0.8 ppm. Con base a lo anterior, algunos de los datos de fumonisinias reportados en la tabla 24, se encuentran arriba del nivel establecido por la Unión Europea para cereales.

Molinie et al. 2005., reportaron que el 94% de las muestras de maíz analizadas presentaron fumonisinias, el género *Fusarium* es un hongo con mucha incidencia en este grano, esto es de gran importancia ya que la dieta del mexicano se basa en el maíz y este esta contenido en la elaboración del mole.

Gallardo et al., (2006), en un estudio realizado en México a 76 muestras de chile reportaron concentraciones de fumonisinias hasta de 3.4 ppm, lo cual es congruente con esta investigación e indicativo de que la materia prima para la realización del mole se encuentra contaminada con fumonisinias, aunado a la posible contaminación del maíz, tortillas y otros ingredientes incluidos que al final originan que el producto contenga esta micotoxina.

Si en México se tuvieran establecidos los niveles máximos de fumonisinias en los productos que son de alta demanda, se tendrían más controladas las condiciones de almacenamiento y venta de los alimentos en general, con esto mejoraría la calidad de los alimentos. La consecuencia es que el consumo de productos contaminados con fumonisinias podría estar relacionada con las elevadas tasas de cáncer de esófago, neurotoxicidad (leuconecefalomalacia), edema pulmonar y cerebral,

hepatotoxicidad y lesiones cardiacas (Gimeno y Martins, 2001). Esto requiere modificar los niveles máximos para evitar la perturbación del mercado, a la vez que se mantiene un elevado nivel de protección de la salud pública, garantizando que la exposición de las personas se mantenga significativamente por debajo del valor orientativo recomendado para la salud.

5. CONCLUSIONES

El tipo y cantidad de cepas encontradas en el estudio demuestran que las plantas procesadoras de mole a nivel medio aún no tienen desarrollados planes de BPM y carecen de planes de control de calidad que les permitan una mayor inocuidad en sus ingredientes.

El porcentaje de hongo del género *Aspergillus spp.* (28.8 %) y *Aspergillus niger* (15.67 %) indica malas practicas de almacenamiento y deficiencia en este, así como malas condiciones en el medio ambiente, por otra parte este último hongo prevee un estado próximo de descomposición del producto y al ser estos hongos los principales productores de micotoxinas es evidente el riesgo que esto conlleva.

En todas las evaluaciones, las muestras recolectadas en el segundo periodo de muestreo Ago. – Sep. contenían una mayor concentración de contaminantes microbiológicos (microorganismos y micotoxinas) que las recolectadas en el primero Feb. – Mzo., esto puede ser debido a cuestiones ambientales, es decir, es probable que la humedad relativa en la elaboración, envasado y muestreo fuera muy alta, de tal manera que las muestras tuvieran una mayor a_w , además por el tipo de cepas encontradas en la identificación, se puede sospechar que algunos ingredientes como el chile, tomates y algunas otras frutas secas pudiesen haber estado contaminadas desde la recolección, evidenciando así la calidad de los mismos.

La presentación del mole en polvo tuvo mayor cantidad de micotoxinas y microorganismos que la presentación en pasta; esto puede ser debido a que el mole en pasta lleva una mayor cantidad de grasa, la cual controla la carga microbiana y altera la producción de micotoxinas, a su vez es probable que este tipo de presentación pueda dificultar la proliferación de microorganismos y sus metabolitos, debido a condiciones intrínsecas del producto, como su viscosidad y la biodisponibilidad de los nutrientes.

La central de abastos con mejores condiciones para conservar alimentos fue la de Atizapán, ya que la mayoría de los valores de mesófilos aerobios, HL y coliformes totales se encontraron por debajo de la media en todas las evaluaciones, aunado a que esta presentó menores cantidades de cepas de almacén. Por otro lado la central de abastos de Tultitlán fue la que presentó mayor flora de almacén lo que presume problemas de humedad, limpieza y sanitización de esta central.

En el estudio, no se encontraron diferencias entre las variables evaluadas y el tipo de mole, sin embargo, se notó que en el mole poblano la mayoría de las muestras examinadas contenía un mayor tipo de contaminación microbiana que el resto de los tipos de mole, esto por el nicho ecológico peculiar que contiene, constituido por los sustratos que proporciona el producto y el ambiente en que se conserva o se mantiene.

La presencia de las Aflatoxinas en los moles, principalmente en polvo tuvo una concentración promedio (6.8) cercana al límite permitido para alimentos en regiones como E.U. en la cual se permiten 20 ppb y en la UE. 2 ppb, obteniéndose en este trabajo una concentración promedio de 19.2 ppb, lo cual sugiere una pronta acción sobre este producto.

Las fumonisinas se encontraron en concentración promedio (2.8), pero el 9% sobrepasa los límites establecidos para alimentos en la UE. (4ppb), lo cual sugiere una pronta acción sobre esta toxina, también se encontró que un 30% de cepas de la familia Fusarium, lo que diagnostica un problema de calidad de los ingredientes.

En general el contenido de micotoxinas en los moles mexicanos no ha sido legislado como se debería, lo que ha limitado su distribución y globalización, una evaluación oportuna y un diagnóstico de esta problemática ayudará en gran medida a su desarrollo y explotación.

6. RECOMENDACIONES

- ✓ La invasión de *Aspergillus* y producción de aflatoxinas ocurre frecuentemente en el campo, por tal motivo se debería tener un mayor control durante la cosecha y almacenamiento de los cultivos, para evitar la proliferación de hongos y contaminación por micotoxinas, así como un mayor conocimiento en el uso de fungicidas.
- ✓ Es indispensable el tener un control en el almacén de los parámetros como temperatura y humedad relativa, factores determinantes en la germinación de las esporas y la proliferación fúngica, se recomienda el uso de corrientes de aire fresco y seco para controlar estos parámetros.
- ✓ El manejo inadecuado y la manipulación excesiva en la elaboración del mole representa un peligro a la salud e incrementa los riesgos de que esté presente una mayor contaminación.
- ✓ Las empresas que quieran sobrevivir en esta situación de competencia y apertura, necesitarán garantizar la seguridad (y mejorar la calidad) de sus productos, con base en estudios científicos. El mole se considera un producto estable por su baja actividad acuosa y por la presencia de algunos inhibidores naturales, como la capsaicina de los chiles, pero el proceso de elaboración puede introducir muchos contaminantes por ello para obtener productos con buena calidad microbiológica es necesario aplicar pasos ordenados a través de toda la cadena de producción, distribución y consumo.
- ✓ Es imperativo la implementación y el mejoramiento de las BPA y las BPM para así asegurar la inocuidad del mole.
- ✓ Se sugiere que el gobierno mexicano implemente una legislación para micotoxinas en los alimentos, ya que con esto, las empresas productoras del mole y de los diferentes alimentos se forzarán a poner mayor atención a su cadena de producción, el difundir estas investigaciones en mayor medida, ayudará a que se tengan más herramientas para mejorar las normativas vigentes y contribuirá a que los productores se apoyen para producir productos con mejor calidad.

7. BIBLIOGRAFÍA

- Abarca, M., Bragulat, M., Bruguera, M., Cabañes, F. (1988). Comparison of some screening methods for aflatoxigenic moulds. *Mycopathologia*, 104 , 75-79.
- Alexopoulos, C., & W.C., M. (1985). *Introducción a la micología*. Barcelona: Omega, S.A.
- Alonso, A., González, J., Rejas, L. (2002). Micotoxinas en rumiantes. Un problema del pasado y presente. *Congreso de la Sociedad Española de Medicina Interna Veterinaria*. (pp. 68-81). León: Universidad de León.
- Alonso, F. (2009). *Inocuidad alimentaria y enfermedades transmitidas por alimentos*. Chile: Departamento de biotecnología, Publicación de la Universidad de Chile.
- AMSDA-INIFAP. (2012). *Plan rector del sistema producto chile, la situación del chile en México*. Retrieved Enero 17, 2013, from www.amsda.com.mx
- Ballesteros, N. T., Fernández, A. M., & Hernández, N. H. (2010). *Estudio de viabilidad para crear una empresa productora de mole*. México, D.F.: IPN - UPIICSA.
- Barkai - Golan, R. (2008). *Aspergillus Mycotoxins*. USA: Elsevier.
- Barug, D., Bhatnagar, D., Van Egmond, H., Van der Kamp, J., W.A., V. O., & A., V. (2006). *The mycotoxin Factbook: Food and feed topics*. Netherlands: Wageningn Academic Publishers.
- Cabañes, F. J., Abarca, M. L., Bragula, M. R., & Castellá, G. (2007). Especies productoras de micotoxinas. In J. M. Soriano del Castillo, *Micotoxinas en los alimentos* (pp. 29-61). España: Ediciones Díaz de Santos.
- Cameán, A. (1997). Estado actual de la toxicología alimentaria. En M. Repetto, *Toxicología avanzada* (pp. 205-292). Madrid: Ediciones Díaz de Santos
- Campero, G. (1997). El mole de las clarisas capuchinas. *Cuadernos de Nutrición* , 20 (3), 32.
- Cantu, D. H. (2001). *Desarrollo de una cultura de calidad*. México: Mc Graw Hill Interamericana.
- Carlile, M., Watkinson, S., & Gooday, G. (2001). *The Fungi* (2ª. ed.). Londres, Reino Unido: Academic Press.
- Carrillo, I. M., Ramirez, Z. M., & Martinez Castilleja, J. (2006). Efecto de solutos sobre el crecimiento de hongos deteriorativos de alimentos. *Ciencia y tecnología alimenaria*, 5(2) , 142-146.

- Carrillo, L. (2003). Retrieved Febrero 2013, from www.unsa.edu.ar/matbib/micragri/micabricap6.pdf
- Chairez, A. (2000). Gastronomía poblana. *Guía México desconocido No.57*, 34-38.
- Chapa, M. (2005). *La república de los moles*. México: Editorial Aguilar.
- Christensen, C. (1987). Field and Storage Fungi. In L. Beuchat, *Food and Beverage Mycology* (pp. 211-232). New York: Van Nostrand Reinhold.
- Christensen, C., & Sauer, D. (1982). *Microflora. In: Storage of Cereal Grains and Their Products*, St. Paul Minnesota: American Association of Cereal Chemists.
- Codex Alimentarius, (2009). *Higiene de los alimentos*. Roma: Textos básicos OMS/FAO.
- Cruz, T. A. (2003). *Desarrollo de una tecnología para la elaboración de mole negro*. Tesis. IBQ México: ENCB - IPN.
- Cullen, J., Ruebner, B., Hsieh, L., DM, H., & DPH, H. (1987). Carcinogenicity of dietary aflatoxin M1 in male fisher rats compared to aflatoxin B1. *Cancer Res.*, 47, 1913-1917.
- Desjardins, A. (2006). *Fusarium Mycotoxins, Chemistry, Genetics and Biology*. E.U.A.: The American Phytopathological Society.
- Dragacci, S., & Soriano, J. (2007). Fumonisin. En J. M. Soriano del Castillo, *Micotoxinas en los alimentos* (pp. 223 - 237). España: Ediciones Díaz de Santos.
- Ellis, W., Smith, J., Simpson, B., & Oldham, J. (1991). Aflatoxins in food: occurrence, biosynthesis, effects on organism, detection and methods of control. *CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 30, 403-439.
- EMAN. (2000). *European Mycotoxin Awareness Network, a thematic network of the 5th Framework Programme R&D call funded by the European Union*. Retrieved Febrero 11, 2013, from <http://www.mycotoxins.org>
- FAO. (2004). *Food and Agriculture Organization: Reglamentos a nivel mundial para las micotoxinas en los alimentos y en las naciones en el año 2003*. Roma: Estudio FAO: Alimentación y Nutrición.
- FAO. (2007). Sistemas de calidad e inocuidad de los alimentos. En: *Manual de capacitación sobre higiene de los alimentos y sobre el sistema de peligros y puntos críticos de control (APPCC)* (pp. 3-45, 50-101). España: FAO-ONU.

- Fernández, M., & Ferrer, E. (2007). Aflatoxina M1. En: J. M. Soriano del Castillo, *Micotoxinas en los alimentos* (pp. 185 - 200). España: Ediciones Díaz de Santos.
- Fraizer, W. (1993). *Microbiología de alimentos*. Zaragoza, España: Acribia.
- GajduSek, D. (1953). Acute infectious hemorrhagic fevers and mycotoxicoses in the Union of Soviet Socialist Republics. *Medical Science Publication* 3(2), 58-64.
- Gallardo, R., Ibarra, M., Sánchez, M., Cuamea, C., Molina, G., Parra, V. (2006). Micobiota de Maiz (*Zea mays* L.) recién cosechado y producción de Fumonisina B1 por cepas de *Fusarium verticilloides* (Sacc.) nirenb. *Revista Mexicana de Fitopatología* , 24: 27-34.
- García Rivas, H. (1992). *Cocina prehispánica mexicana: La comida de los antiguos mexicanos*. México: Editorial Panama.
- García, C. V. (2004). *Introducción a la microbiología*. San Jose, Costa Rica: Editorial Universidad Estatal a Distancia (EUNED).
- Gimeno, A. (2008). *Las fumonisinas y sus efectos indeseables en la producción porcina*. Portugal: Ergomix.
- Gimeno, A. (2002). *Principales factores condicionantes para el desarrollo de hongos y la producción de micotoxinas*. Portugal: Engormix.
- Gimeno, A., & Martins, M. (2001). *XVII Seminario G-TEMCAL organizado por G-TEMCAL/DANONE*. Engormix. Portugal. Retrieved Enero 2013, 30, from www.engormix.com
- Gironella DeÁngel, A. (1999). *Gran Larousse de la cocina mexicana*. México: Editorial Barcelona.
- Goldblatt, L. (1972). Implications of mycotoxins. *Clin.Toxicol.* , pag. 453.
- Gómez, M., & Schwentesius, R. (1994). El chile seco en Zacatecas y sus perspectivas en el TLC. En: U. A. Chapingo, *El TLC sus repercusiones en el sector agropecuario del Centro-Norte de México*. (pp. 63-92). Zacatecas: CRUCEN.
- Gorekich, N. (1990). Risk assessment for aflatoxin: 1. Metabolism of aflatoxin B1 by different species. *Risk Anal.*, 10 , 539-559.
- Juan, C., Soriano, J. M., & Burdaspal, P. (2007). Aflatoxinas del grupo B y G. En: J. M. Soriano del Castillo, *Micotoxinas en los alimentos* (pp. 168-184). España: Ediciones Diaz Santos.

- 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.
- Larone, H. (1995). *Medically important fungi. A guide to identification*. Washington, D.C.: ASM Press.
- Lomelí, A. (1991). *El arte de cocinar con chile*. México: Editorial Contenido.
- Long-Solís, J. (1998). *Capsicum y Cultura: La historia del Chilli*. México, D.F.: Fondo de cultura económica.
- Molinié, A., Faucet, V., Castegnaro, M., & Pfohl-Leszkowicz, A. (2005). Analysis of some breakfast cereals on the French market for their contents of ochratoxin A, citrinin and fumonisin B1: development of a method for simultaneous extraction of ochratoxin A and citrinin . *Food Chemistry* ,3(4) pag. 391 - 400.
- Molto, J., Soriano, J., & Mañes, J. (2007). Análisis de micotoxinas en alimentos. En J. M. Soriano del Castillo, *Micotoxinas en los Alimentos* (pp. 91-117). España: Ediciones Díaz de Santos.
- Montes, H., & García, H. y. (2004). *Fenología del cultivo del chile (Capsicum annum L.)*. Retrieved Noviembre 2012, from www.word-pepper.org/20004/memorias2004/43_montes_hernandez-wpc2004.pdf
- Morales de León, J. (1989). Introducción a la comida mexicana. *Cuadernos de Nutrición*, 12 (4): 64.
- Moreno, E. (1988). *Manual para la identificación de hongos en granos y sus derivados*. Ciudad Universitaria, D.F., México: UNAM.
- Moreno, M. E., & Gil, G. M. (1991). *Aspergillus flavus y la producción de aflatoxinas* (1ª ed.). México D.F: UNAM.
- Moss, M. (2002). Risk assessment for aflatoxins in foodstuffs. *Biodeter. Biodegr*, 50 , 137-142.
- Moss, M. (1991). The environmental factors controlling mycotoxin formation. J. Florida: Smith, & R. Henderson, Eds. *Mycotoxins and animal foods*, pag. 37-56.
- Mossel, D. (1983). Essentials and perspectives of the microbial ecology of foods. In T. Roberts, *A food mycology: advances and prospects*. London: Academic Press.

- NMX-F-422. (1982). *Productos alimenticios para uso humano. Alimentos regionales. mole y sus variedades*. Retrieved Septiembre 2012, from www.economia.gob.mx
- NOM-109-SSA1. (1994). *Bienes y servicios. Procedimientos para la toma, manejo y transporte de muestras de alimento para su análisis microbiológico*.
- NOM-111-SSA1. (1994). *Bienes y servicios. Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos*.
- Pascual, A. M. (1999). *Microbiología alimentaria, metodología analítica para alimentos y bebidas*. España: Díaz de Santos.
- PC-019. (2004). *Pliego de Condiciones para el uso de la marca oficial México calidad suprema en mole*. Mexico: DOF.
- Pfohl-Leszkowicz, A., & Castegnaro, M. (1999). Les fumonisines. In A. Pfohl-Leszkowicz, *Les Mycotoxines dans l'Alimentation: Evaluation et Gestion du Risque*. (pp. 295-330). Paris: Editions Tec&Doc.
- Pitt, J. (1979). *The genus Penicillium and its teleomorphic states Eupenicillium and talaromyces*. New York: Academic Press.
- Quintana, P. (1992). *El sabor de México* (1era. ed.). México: Editores Japón.
- Radyx H., M. (2008). *Los moles en México. Tesis*. México: UNAM, FQ.
- Rebuffel, A. P. (1988). Desarrollo de hongos en los granos. En C. R. Sergio, *1 Seminario de postcosecha de granos en la zona sur* (pp. 17-21). Chile: Instituto de investigaciones agropecuarias.
- Ruiz, O. M. (2007). *Cuantificación de aflatoxinas en salsas picantes botaneras comerciales y 7 variedades de chiles secos de tercera calidad, expedidos en la zona metropolitana de la Ciudad de México*. Tesis. IA. México: FES- Cuautitlan. UNAM.
- Samson, F., Hoekstra, E., JC, F., & Filtenborg, O. (2000). *Introduction to food - and airborne fungus*. Utrecht: Centraalbureau voor Schimmelcultures.
- Sanchez, V., Marin, S., & Ramos, J. A. (2007). Factores determinantes en la producción de micotoxinas. En J. M. Soriano del Castillo, *Micotoxinas en los Alimentos* (pp. 63-89). España: Ediciones Díaz de Santos.

- Santillan, E. I. (2010). *Estudio microbiológico de indicadores y bacterias patógenas en moles, durante su vida de anaquel*. Tesis.QA. Ciudad Universitaria, D.F., México: UNAM.
- Scott, P. (1995). Mycotoxin methodology. *Food Addit Contam.*, 12 , 395-403.
- Sharma, R. (2004). Mycotoxins in the food chain: a look at their impact on immunological responses. Proc. Nutritional Biotechnology in the Feed and Food Industries. 20vo. *Annual Symposium Alltech* , 306-314.
- Silvestre, A. A. (1998). *Toxicología de los alimentos* (2da. ed.). Buenos Aires Argentina: Hemisferio sur.
- Soboleva, T., Pleasants, A., & Le Roux, G. (2000). Predictive microbiology and food safety. *Int. J. Food Microbiol.* , 57, 183-192.
- Soriano del Castillo, J. M. (2007). *Micotoxinas en alimentos*. Valencia, España: Ediciones Díaz de Santos.
- Soriano, J., & González, L. C. (2005). Mechanism of action of sphingolipids and their metabolites in the toxicity of fumonisin B1. *Prog Lipid Res*, 44 , 345-356.
- Sterin-Speziale, N., & Leocata, N. F. (2007). Los esfingolípidos en la muerte y proliferación celular. *Química Viva* 6(3) , 25-29.
- Taibol, P. I. (1981). *Breviario del mole poblano*. México: Terra Nova.
- Trilling, S. (2003). *Sazón de mi corazón*. México: Editorial Diana.
- Uribarren, B. T., Bazan, M. E., & Castañón, O. L. (2013). *Departamento de Microbiología y Parasitología FM, Recursos en Micología*. Retrieved Febrero 21, 2013, from Generalidades de Micología: www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/micologia/generalidades
- Urrego, J., & Diaz, G. (2006). *Aflatoxinas: Mecanismos de toxicidad, en la etiología de cancer hepático celular*. (Vol. 54). Bogota: Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia.
- USDA. (2003). *Inocuidad alimentaria y seguridad alimentaria; lo que deben saber los consumidores*. Retrieved Enero 30, 2013, from Servicio de inocuidad e inspección de los alimentos. Departamento de Agricultura de los Estados Unidos.: http://www.fsis.usda.gov/ca/topics/FoodSec_cons_SP.pdf

VICAM. (2000). *Micotoxin test. Aflatest, Fumonitest Instruction Manual*. Milford, MA. USA: Milford.

Weitzman, I., Cook, O., & Massey, J. (2001). *Investigation of foodborne illness outbreak. Compendium of methods for the microbiological examination of food*. Washington, D.C.: APHA Publ.

8. ANEXOS

Anexo 1. Descripción de ingredientes para la elaboración de moles

- **Chile:** El chile es un producto originario de nuestro país, los aztecas lo tenían como parte esencial de su dieta, su jerarquía era tal dentro de la comida de nuestro país que el padre fray Bartolomé de las casas comento:”sin chile, los mexicanos no creen que están comiendo” y tras la conquista no perdió su fuerza dentro de la dieta del mexicano, por el contrario, se volvió parte de la del conquistador español. Por esto mismo, es imposible el considerar un platillo tan mexicano y tan representativo de la cocina barroca novo hispana sin este tanpreciado ingrediente. El chile es rico en vitaminas y minerales, proporciona agua y contiene de 50 a 200 mg/100mg de vitamina C, la cantidad de nutrientes que proporcionan varían según la variedad de chile y la época de cosecha de los mismos. Dentro de los chiles que se ocupan para la elaboración del mole poblano se encuentran: Long y Carrillo (1999)
- **Chile Mulato.** El chile mulato es un chile seco de un color café negrusco, por lo general mide 12 cm. De largo y 7 de ancho, es un tipo de chile parecido al poblano cuando esta fresco y parecido al ancho cuando esta seco (Herrera, 2002). Su sabor es un poco dulce parecido al del chocolate pero puede llegar a ser picoso. También conocido como “chino” (Universidad de Guadalajara (UDG), 1999^a).
- **Chile pasilla.** El chile pasilla también es un chile seco cuyas dimensiones pueden ir de entre los 15 y 20 cm. De largo y entre dos y tres cm. De ancho. Este chile recibe el nombre de chilaca cuando esta reseco y toma el de pasilla dado que al secarse se arruga igual que como lo hiciera la uva al convertirse en pasa. En Oaxaca existe el chile pasilla de Oaxaca, por lo que el chile pasilla se le domina chile mexicano (Herrera, 2002). También se conoce como achocolatado (UDG, 1999^a).
- **Chile Ancho.** El chile ancho tiene mas dimensiones parecidas a las del mulato, por lo que muchas veces se llegan a confundir. Es de color café rojizo y de textura rugosa. Este chile al ser fresco se le denomina chile poblano (Herrera, 202). Es de sabor terroso profundo (alfaro, 2003), lo que provoca cierto amargor.
- **Chile Guajillo.** Es un fruto de forma variada, pero generalmente alargada, su cuerpo es cilíndrico, liso y con leves ondulaciones, mide en promedio 10cm. E largo y 3cm. De ancho, de color café rojizo, piel tersa, cuando esta en fresco se le conoce como el chile Mirasol.

- **Chilhuacle Negro.** Variedad de chile caracterizada por el color negro. Tiene forma de grande y gorda, es un poco mas largo que ancho pero casi cubico. Los entendidos aseguran que su sabor es afrutado con retazos de tabaco, orejones y esencia de chocolate.
- **Chipotle.** Del náhuatl chilpochtli o xipoctli que significa chile ahumado, es un tipo de chile normalmente de la variedad del jalapeño, que se ha dejado madurar hasta enrojecer y secar. Con aroma muy picante y sabor complejo.
- **Costeño.** Brillante de color ámbar, con 2 a 3 pulgadas de largo y $\frac{3}{4}$ a 1 pulgada de ancho. De carne finísima, con sabor fresco, limón-cítricos, tomate verde y tonos verdes, y un calor sutil.
- **Azúcar.** Se denomina Azúcar a la sacarosa. La sacarosa es un disacárido formado por una molécula de glucosa y una de fructosa que se obtiene principalmente de la caña de azúcar o de la remolacha. Su función en el mole es el de otorgar el dulzor a este y disminuir la sensación tánica de este.
- **Ajonjolí:** La semilla de ajonjolí proviene de la planta del ajonjolí sesame (sesamun indicum L. pedialacea); es originaria de Etiopia y es la semilla con mayor contenido de aceite (45 – 50%) (Ministerio de Agricultura y Ganadería, Costa Rica, Ajonjolí, 1991) Dentro de este platillo el ajonjolí aparece de dos formas, como decorativo al ser espolvoreado encima y como parte activa que aporta olor y sabor, así como ácidos grasos.
- **Almendra:** La almendra fue traída a nuestro país desde el lejano oriente, proveniente de china y Asia Central. La almendra no es sino el “hueso” de la fruta prunus amigdalus, el árbol de la almendra puede llegar a medir 10 m de alto (Secretaria de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos, 2005). Su efecto sobre el mole es el de proporcionar tintes tánicos al mismo, debido a que la cascara de la almendra contiene altos niveles de taninos. Es el principal cultivo del grupo de los frutos secos en el mundo. Su gran contenido proteínico lo hacen especial con un 13.3% (aminoácidos esenciales), contiene también ácidos grasos mono insaturados y una gran cantidad de minerales como calcio y fosforo.
- **Pepita de calabaza:** Es la semilla seca de la calabaza, se utiliza en la elaboración de moles, pipianes y salsas de la cocina mexicana
- **Uva Pasa:** La uva pasa no es sino la versión deshidratada de la uva. La uva es tan antigua como la humanidad, se dice que la uva pasa era utilizada en la antigüedad por los israelitas para pagarles impuestos a los reyes (Queliz, 2002). Dentro del mole, la uva pasa viene a dar un toque dulce

debido a su gran cantidad de azúcar. Por otro lado, la uva pasa contrarresta los taninos, tanto del chocolate como de las almendras.

- **Jitomate:** Proveniente de América del Sur, en específico del Perú (Taibo, 2003). Esta fruta aporta gran cantidad de vitamina C y Sales minerales (Taibo, 2003); por otro lado es indiscutible su relevancia en la comida mexicana dado que es ingrediente esencial para la elaboración de salsas. Por otro lado, tiene un alto contenido de acidez.
- **Ajo:** El ajo proviene de oriente (UDG, 1999^a). Fue traído por los españoles tras la conquista y se estableció en la cocina barroca americana, dada su importancia dentro de la comida ibérica (Taibo, 2003). El sabor del ajo es extremadamente fuerte siendo, la más fuerte de las 325 especias del género *Allium*; así mismo, menciona la gran versatilidad de esta especie aportando aroma y sabor a los platillos.
- **Romero.** (*Rosmarinus officinalis*) Es una especia del género *Rosmarinus* cuya hábitat natural es en el mediterráneo, es un arbusto leñoso de hojas perennes muy ramificado, sus hojas son pequeñas y muy abundantes, presentan forma lineal. Las flores son de unos 5mm de largo, de color blanco, azul, violeta y rosa. Dentro de sus componentes se encuentran Ácidos Fenólicos, Flavonoides y Aceites esenciales.
- **Tomillo.** (*Thymus*). Es un género con alrededor de 350 especies, procedente de Europa, África del norte y Asia. Son plantas perennes, sus hojas verdes y ovales se encuentran dispuestas en pares opuestos a lo largo del tallo y suelen ser aromáticas. El tomillo contiene aceites esenciales y oleorresinas.
- **Anís:** El anís es una planta del mediterráneo, cuyas principales características se encuentran en su sabor y su olor fuertes (UDG, 1999^a). En el mole, su participación debe ser muy cuidada dado que su presencia excesiva puede afectar el sabor del producto final (Taibo, 2003).
- **Canela:** La canela (*Cinnamomum zeylanicum*) proviene del suroeste de Asia Tropical y se puede encontrar en ramos o en polvo (Root, 1983). Se dice que los chinos la conocían ya 2800 años antes de Cristo. Como especia, su trabajo principal de este platillo es el de dar un toque aromático y de sabor. Así mismo, se debe tener mucho cuidado con su uso dado que su sabor dominante puede opacar al de otros ingredientes (Taibo, 2003). Como menciona Farrell (1990), la canela posee un

olor picante, aromático y a madera, con un sabor similar pero un poco quemante y con una persistencia astringente.

- **Clavo:** Esta especia de la familia de las mirtáceas es originaria de Indonesia (Root, 1983) y fue introducida a nuestro país por los conquistadores. “Es un árbol que alcanza de 10 a 15 metros de altura y cuyas flores rosáceas, sin arir, son las que llevan el nombre de “clavo” de especia; y es considerada la mas aromática de todas las especias, con un aroma picoso, dulce, frutal, fenólico, de madera y viejo; con un sabor similar caracterizado pro el picor, lo as tringente y lo desagradable (Farrell, 1990).
- **Chocolate:** La historia del chocolate inicia en el territorio americano, específicamente en México y América Central, miles de años antes de la época colonial. En la verdadera historia del chocolate, Coe y Coe (1999) explican que el chocolate proviene del cacao, fruto del árbol cacaotero (cuyo nombre genérico es Theobroma cacao, compuesto en primera instancia por Theobroma – “El alimento de los dioses” en latín – y cacao – del náhuatl cacahuatl “agua de cacao”-, nombre que los indígenas le tenían designado tiempo atrás). En el nuevo mundo, el cacao se utilizaba como bebida elaborada y los granos como moneda. Así mismo, revelan que si bien el “descubrimiento” del chocolate por los españoles fue en el Renacimiento, no fue sino hasta la época barroca cuando se volvió común el ingerir el chocolate. En ningún documento acerca de la cocina mesoamericana existen datos de su consumo como materia solida, sino como bebida. Según Coe y Coe (1999 “La idea de utilizar chocolate como saborizante en platos preparados hubiese sido horrorosa para los aztecas. El descubrimiento de chocolate en su versión de alimento, como el de todos los sabrosos hallazgos culinarios, viaja dentro de un sinfín de orígenes. Algunos autores e historiadores señalan que el chocolate “para comer” es obra de los italianos, basándose en recetas en donde se encuentra este ingrediente que datan de los años 1680 – 1684, curiosamente años cercanos a los que como se vio, se piensa que se creo el mole, pero según el punto de vista del autor, del mole no se tiene fecha exacta. Haya nacido donde haya nacido el chocolate en tablillas, este se volvió pieza fundamental del mole poblano, como lo comenta Taibo (2003) en el libro de todos los moles: “... junto con algunos otros condimentos alborotadores, se manifiestan tan vigorosamente en la cocina”. Entre las características peculiares del chocolate se encuentra que este producto aporta

un toque de dulzor y amargor al platillo, al mismo tiempo que agrega una cierta cuantía de taninos dependiendo de las cantidades en las que sea utilizado.

- **Pimienta:** La pimienta ha recorrido el mundo entero desde su descubrimiento; nació en la India, paso por Indonesia, luego a los países descubridores del territorio americano (Inglaterra, España, Portugal, Holanda) quienes la trajeron al nuevo mundo, entrando directamente a la cocina y al mole poblano como condimento (Taibo, 2003). Según Farrell (1990) la pimienta tiene un olor aromático y penetrante, además de un sabor caliente, caustico penetrante.
- **Galletas, Pan, Tortillas:** Variedad de harinas de maíz o trigo doradas en aceite que sirve tanto para espesar el mole, como para contribuir con su sabor.
- **Plátano Macho.** También llamado plátano de guisar o plátano hartón. Es un fruto en baya del platanero, es un arbusto de la familia de las musáceas que alcanza de 3 a 5 m de altura los racimos llegan a pesar mas de 50 kg y contener hasta 300 unidades. Se cultiva en muchas regiones del centro y Sudamérica, así como en África. Es mas grande y mucho menos dulce, pero posee abundante fécula (almidón) su Contenido en potasio es también muy alto.
- **Jengibre.** (*Zingiber officinale*) es una planta de la familia de las zingiberaceas, cuyo tallo subterráneo es un rizoma horizontal muy apreciado por su aroma y sabor picante (Los rizomas tiernos son jugosos y carnosos sin embargo los maduros son fibrosos y secos). Es producido en Australia y Asia central.
- **Tomate.** (*Solanum lycopersicum*) , la tomatara, es una planta de la familia de las solanáceas originaria de América y cultivada en todo el mundo por su fruto comestible, llamado tomate Dicho fruto es una baya muy coloreada cuando madura, típicamente de tonos que van del amarillento al rojo, debido a la presencia de los pigmentos licopeno y caroteno. Posee un sabor ligeramente ácido, mide de 1 a 2 cm. de diámetro en las especies silvestres, y es mucho mas grande en las variedades cultivadas (8 cm).
- **Tomatillo.** (*Physalis ixocarpa*) es una especie botánica originaria de México perteneciente a la familia e las solanáceas. Su fruto es pequeño, esférico y verde o violácea rodeado por una envoltura papirácea. Su sabor es ácido con compuestos muy volátiles.
- **Cacahuate.** (*Arachis hipogaea*) es una planta anual de la familia de las fabáceas, originaria de América. Los frutos crecen bajo el suelo, dentro e una vaina leñosa redondeada que contiene de

una a cinco semillas. Al poseer una cascara leñosa sin pulpa se considera un tipo de fruto seco. Sus afectaciones principales son por ciertas especies de hongos (*Aspergillus Flavus* o *A. parasiticus*) ya que contaminan las semillas con aflatoxinas.

- **Nuez.** Semilla del fruto del nogal (*Juglans regia* L.) árbol de la familia de las juglandáceas que alcanza hasta 20 m de altura. El fruto es una drupa, cuya parte carnosa (pericarpio y esocarpio) es de color verdoso; el hueso o endocarpio es leñoso y duro, pero alberga una semilla dicotiledónea muy nutritiva: la nuez. Originaria del Centro de Asia, y con un gran valor nutricional puesto que contiene ácidos grasos insaturados (Linoleico y linolenico), con abundantes poli saturados, además de lecitina.
- **Cebolla.** (*Allium cepa*) planta herbácea bienal de la familia de las amarilidáceas originaria de Asia Central con un sistema radicular formado por numerosas raicillas fasciculadas, de color blanquecino, poco profundas, que salen a partir de un tallo a modo de disco. Contiene gran cantidad de vitamina A, B1, C, E y minerales.
- **Zanahoria.** Raíz de la planta (*Daucus carota* L) herácea de la familia de las umbelíferas que alcanza hasta un metro de altura, suele ser de color anaranjado aunque también hay variedades de color amoratado o amarillos. Es uno de los alimentos más ricos en provitamina A, carotenoides (beta-caroteno), Fibra vegetal y Aceite esencial.

Oregano. (*Origanum vulgare*) es una herbácea perenne aromática del género *Origanum*, muy utilizada en la cocina mediterránea. Son las hojas de la planta las que se utilizan como condimento tanto secas como frescas. Toda la planta posee unas pequeñas glándulas donde está contenida la esencia aromática, de color amarillo limón, compuesto por un estearopteno y dos tipos de fenoles, como mayoritario el carvacrol y en menor proporción el timol.

Anexo 2. Resultados de la identificación de cepas aisladas de moles.

Características macroscópicas de las cepas					
No. Cepa	Identif.	Color	Textura	Presunto Genero	Origen
1	Ia	Puntos Negros	Polvosa	<i>Aspergillus</i>	Medio Ambiente
2	Ib	Crema - Blanco (Levadura)	Pastosa	<i>Sacchromyces</i>	Contaminante
3	Ib	Orilla blanca, micelio negro	Algodonosa	<i>Colletotrichum</i>	Campo
4	Id	Blanco con Negro	Algodón	<i>Rhizopus</i>	Deterioro Avanzado
5	Ila	Puntos Negros	Polvosa	<i>Aspergillus</i>	Medio Ambiente
6	Ilb	Melon	Levaduriforme	<i>Cephalosporium</i>	Campo
7	Ilc	Melon	Polvosa - Anulada	<i>Trichothecium</i>	Campo
8	Ild	Orilla blanca, micelio negro	Algodonosa	<i>Colletotrichum</i>	Campo
9	IIla	Puntos Negros	Polvosa	<i>Aspergillus</i>	Medio Ambiente
10	IIlb	Azul grisaeo	Polvosa, rugosa	<i>Penicillum</i>	Almacén
11	IIlc	Puntos Negros	Polvosa	<i>Aspergillus</i>	Medio Ambiente
12	IIId	Verde Olivo con reverso azul oscuro	Polvoso	<i>Cladosporium</i>	Campo
13	IVa	Crema - Blanco (Levadura)	Pastosa	<i>Sacchromyces</i>	Contaminante
14	IVb	Azul grisaeo	Polvosa, rugosa	<i>Penicillum</i>	Almacén
15	IVc	Puntos Negros	Polvosa	<i>Aspergillus</i>	Medio Ambiente
16	Ivd	Negro, Café, Blando	Pulverulento	<i>Alternaria</i>	Campo
17	Ive	Verde Olivo con reverso azul oscuro	Polvoso	<i>Cladosporium</i>	Campo
18	Va	Crema - Blanco (Levadura)	Pastosa	<i>Sacchromyces</i>	Contaminante
19	Vb	Gris palido (Adherido al agar)	Algodónosa	<i>Mucor</i>	Suelo
20	Vc	Crema - Blanco (Levadura)	Pastosa	<i>Sacchromyces</i>	Contaminante
21	Vla	Puntos Negros	Polvosa	<i>Aspergillus</i>	Medio Ambiente
22	Vlb	Amarillo, Blanco y Puntos Negros	Polvosa	<i>Aspergillus</i>	Almacén
23	Vlc	Azul grisaeo	Polvosa, rugosa	<i>Penicillum</i>	Almacén
24	Vld	Gris palido (Adherido al agar)	Algodónosa	<i>Mucor</i>	Suelo
25	Vle	Melon	Levaduriforme	<i>Cephalosporium</i>	Campo
26	Vlf	Negro Puntos, con café. Reverso café estrellado	Polvosa	<i>Aspergillus</i>	Medio Ambiente
27	Vlg	Negro, Café, Blando	Pulverulento	<i>Alternaria</i>	Campo
28	VIIa	Azul grisaeo	Polvosa, rugosa	<i>Penicillum</i>	Almacén
29	VIIb	Blanco con Negro	Algodón	<i>Rhizopus</i>	Deterioro Avanzado
30	VIIc	Amarillo Verdosa - Blanco	Polvoso, Esporulado	<i>Aspergillus</i>	Almacén
31	VIIId	Orilla blanca, micelio negro	Algodonosa	<i>Colletotrichum</i>	Campo
32	VIIe	Puntos Negros	Polvosa	<i>Aspergillus</i>	Medio Ambiente
33	VIIIf	Melon	Polvosa - Anulada	<i>Trichothecium</i>	Campo
34	VIIg	Verde azulado, estriado	Polvosa, rugosa	<i>Penicillum</i>	Almacén
35	VIIIa	Amarillo, Blanco y Puntos Negros	Polvosa	<i>Aspergillus</i>	Almacén
36	VIIIb	Negro, Café tierra	Rugosa (Estrella)	<i>Aspergillus</i>	Almacén
37	VIIIc	Puntos Negros	Polvosa	<i>Aspergillus</i>	Medio Ambiente

38	VIII d	Negro, Café Oscuro	Polvoso, esporulado	<i>Aspergillus</i>	Almacén
39	IX a	Puntos Negros	Polvosa	<i>Aspergillus</i>	Medio Ambiente
40	IX b	Azul grisaeo	Polvosa, rugosa	<i>Penicillium</i>	Almacén
41	IX c	Crema - Blanco (Levadura)	Pastosa	<i>Sacchromyces</i>	Contaminante
42	IX d	Negro Puntos	Polvosa	<i>Aspergillus</i>	Medio Ambiente
43	IX e	Negro Puntos, con café. Reverso café estrellado	Polvosa	<i>Aspergillus</i>	Medio Ambiente
44	IX f	Orilla blanca, micelio negro	Algodonosa	<i>Colletotrichum</i>	Campo
45	IX g	Azul grisaeo	Polvosa, rugosa	<i>Penicillium</i>	Almacén
46	IX h	Negro, Café tierra	Rugosa (Estrella)	<i>Aspergillus</i>	Almacén
47	IX i	Negro, Café Oscuro	Polvosa	<i>Aspergillus</i>	Medio Ambiente
48	X a	Negro, Café, Blando	Pulverulento	<i>Alternaria</i>	Campo
49	X b	Negro, Café tierra	Rugosa (Estrella)	<i>Aspergillus</i>	Almacén
50	X c	Melon	Polvosa - Anulada	<i>Trichothecium</i>	Campo
51	XI a	Verde Olivo con reverso azul oscuro	Polvoso	<i>Cladosporium</i>	Campo
52	XI b	Puntos Negros	Polvosa	<i>Aspergillus</i>	Medio Ambiente
53	XI c	Negro, Café tierra	Rugosa (Estrella)	<i>Aspergillus</i>	Almacén
54	XI d	Azul grisaeo	Polvosa, rugosa	<i>Penicillium</i>	Almacén
55	XII a	Amarillo, Blanco y Puntos Negros	Polvosa	<i>Aspergillus</i>	Almacén
56	XII b	Orilla blanca, micelio negro	Algodonosa	<i>Colletotrichum</i>	Campo
57	XIII a	Puntos Negros	Polvosa	<i>Aspergillus</i>	Medio Ambiente
58	XIII b	Amarillo Verdosa - Blanco	Polvoso, Esporulado	<i>Aspergillus</i>	Almacén
59	XIV a	Blanco con Negro	Algodón	<i>Rhizopus</i>	Deterioro Avanzado
60	XIV b	Gris palido (Adherido al agar)	Algodónosa	<i>Mucor</i>	Suelo
61	XIV c	Puntos Negros	Polvosa	<i>Aspergillus</i>	Medio Ambiente
62	XIV d	Negro, Café tierra	Rugosa (Estrella)	<i>Aspergillus</i>	Almacén
63	XIV e	Amarillo -verde	Conglomerado	<i>Aspergillus</i>	Almacén
64	XV a	Azul grisaeo	Polvosa, rugosa	<i>Penicillium</i>	Almacén
65	XV b	Crema - Blanco (Levadura)	Pastosa	<i>Sacchromyces</i>	Contaminante
66	XV c	Amarillo Verdosa - Blanco	Polvoso, Esporulado	<i>Aspergillus</i>	Almacén
67	XV d	Orilla blanca, micelio negro	Algodonosa	<i>Colletotrichum</i>	Campo
68	XV e	Verde azulado, estriado	Polvosa, rugosa	<i>Penicillium</i>	Almacén
69	XV f	Negro, Café tierra	Rugosa (Estrella)	<i>Aspergillus</i>	Almacén
70	XV g	Puntos Negros	Polvosa	<i>Aspergillus</i>	Medio Ambiente
71	XVI a	Negro, Café tierra	Rugosa (Estrella)	<i>Aspergillus</i>	Almacén
72	XVII a	Blanco con Negro	Algodón	<i>Rhizopus</i>	Deterioro Avanzado
73	XVII b	Gris palido (Adherido al agar)	Algodónosa	<i>Mucor</i>	Suelo
74	XVII c	Blanco - gris	Algodonosa, vellosa	<i>Mucor</i>	Suelo
75	XVIII a	Negro, Café, Blando	Pulverulento	<i>Alternaria</i>	Campo
76	XVIII b	Puntos Negros	Polvosa	<i>Aspergillus</i>	Medio Ambiente
77	XVIII c	Azul grisaeo	Polvosa, rugosa	<i>Penicillium</i>	Almacén
78	XIX a	Blanco con Negro	Algodón	<i>Rhizopus</i>	Deterioro Avanzado

79	XXa	Verde Olivo con reverso azul oscuro	Polvoso	<i>Cladosporium</i>	Campo
80	XXb	Negro, Café tierra	Rugosa (Estrella)	<i>Aspergillus</i>	Almacén
81	XXc	Verde Olivo con reverso azul oscuro	Polvoso	<i>Cladosporium</i>	Campo
82	XXd	Amarillo, Blanco y Puntos Negros	Polvosa	<i>Aspergillus</i>	Almacén
83	XXe	Gris palido (adherido al agar)	Algodón	<i>Mucor</i>	Suelo
84	XXf	Puntos Negros	Polvosa	<i>Aspergillus</i>	Medio Ambiente
85	XXg	Azul grisaeo	Polvosa, rugosa	<i>Penicillium</i>	Almacén
86	XXh	Negro, Café Oscuro	Polvoso, esporulado	<i>Aspergillus</i>	Almacén
87	XXi	Blanco con Negro	Algodón	<i>Rhizopus</i>	Deterioro Avanzado
88	XXj	Amarillo, Blanco y Puntos Negros	Polvosa	<i>Aspergillus</i>	Almacén
89	XXIa	Puntos Negros	Polvosa	<i>Aspergillus</i>	Medio Ambiente
90	XXIb	Puntos Negros, con café. Reverso café estrellado	Polvosa	<i>Aspergillus</i>	Medio Ambiente
91	XXIc	Blanco con Negro	Algodón	<i>Rhizopus</i>	Deterioro Avanzado
92	XXIIa	Verde Olivo con reverso azul oscuro	Polvoso	<i>Cladosporium</i>	Campo
93	XXIIb	Crema - Blanco (Levadura)	Pastosa	<i>Sacchromyces</i>	Contaminante
94	XXIIc	Blanco con Negro	Algodón	<i>Rhizopus</i>	Deterioro Avanzado
95	XXIId	Amarillo Verdosa - Blanco	Polvoso, Esporulado	<i>Aspergillus</i>	Almacén
96	XXIIe	Negro, Café tierra	Rugosa (Estrella)	<i>Aspergillus</i>	Almacén
97	XXIIf	Azul grisaeo	Polvosa, rugosa	<i>Penicillium</i>	Almacén
98	XXIIg	Negro, Café Oscuro	Polvoso, esporulado	<i>Aspergillus</i>	Almacén
99	XXIIh	Blanco con Negro	Algodón	<i>Rhizopus</i>	Deterioro Avanzado
100	XXIi	Verde Olivo con reverso azul oscuro	Polvoso	<i>Cladosporium</i>	Campo
101	XXIIj	Gris palido	Algodón adherido al agar	<i>Mucor</i>	Suelo
102	XXIIk	Puntos Negros	Polvosa	<i>Aspergillus</i>	Medio Ambiente
103	XXIII	Negro, Café tierra	Rugosa (Estrella)	<i>Aspergillus</i>	Almacén
104	XXIIIa	Amarillo, Blanco y Puntos Negros	Polvosa	<i>Aspergillus</i>	Almacén
105	XXIIIb	Amarillo Verdosa - Blanco	Polvoso, Esporulado	<i>Aspergillus</i>	Almacén
106	XXIIIc	Blanco con Negro	Algodón	<i>Rhizopus</i>	Deterioro Avanzado
107	XXIIId	Orilla blanca, micelio negro	Algodonosa	<i>Colletotrichum</i>	Campo
108	XXIIIe	Azul grisaeo	Polvosa, rugosa	<i>Penicillium</i>	Almacén
109	XXIVa	Puntos Negros	Polvosa	<i>Aspergillus</i>	Medio Ambiente
110	XXIVb	Verde Olivo con reverso azul oscuro	Polvoso	<i>Cladosporium</i>	Campo
111	XXIVc	Puntos Negros	Polvosa	<i>Aspergillus</i>	Medio Ambiente
112	XXIVd	Negro, Café, Blando	Pulverulento	<i>Alternaria</i>	Campo
113	XXIVe	Crema - Blanco (Levadura)	Pastosa	<i>Sacchromyces</i>	Contaminante
114	1a	Blanco con Negro	Algodón	<i>Rhizopus</i>	Deterioro Avanzado
115	1b	Amarillo, Blanco y Puntos Negros	Polvosa	<i>Aspergillus</i>	Almacén
116	1c	Blanco con Negro	Algodón	<i>Rhizopus</i>	Deterioro Avanzado
117	1d	Amarillo y Blanco	Polvosa - Algodón ligero	<i>Aspergillus</i>	Almacén
118	1e	Puntos Negro, con café. Reverso café	Polvosa	<i>Aspergillus</i>	Medio Ambiente

119	2a	Azul grisaeo	Polvosa, rugosa	<i>Penicillium</i>	Almacén
120	2b	Blanco con Negro	Algodón	<i>Rhizopus</i>	Deterioro Avanzado
121	2c	Verde Botella orillas blancas	Polvosa	<i>Aspergillus</i>	Almacén
122	2d	Negro, Café Oscuro	Polvoso, esporulado	<i>Aspergillus</i>	Almacén
123	3a	Negro puntos	Polvosa	<i>Aspergillus</i>	Medio Ambiente
124	3b	Azul Grisaceo, Gris, Orilla bca.	Rugosa	<i>Penicillium</i>	Almacén
125	3c	Negro Puntos, con café. Reverso café estrellado	Polvosa	<i>Aspergillus</i>	Medio Ambiente
126	3d	Crema - Blanco (Levadura)	Pastosa	<i>Sacchromyces</i>	Contaminante
127	3e	Blanco con Negro	Algodón	<i>Rhizopus</i>	Deterioro Avanzado
128	4a	Crema - Blanco (Levadura)	Pastosa	<i>Sacchromyces</i>	Contaminante
129	4b	Amarillo Huevo, Blanco orillas	Polvosa	<i>Aspergillus</i>	Almacén
130	4c	Blanco con Negro	Algodón	<i>Rhizopus</i>	Deterioro Avanzado
131	4d	Puntos Negros	Polvosa	<i>Aspergillus</i>	Medio Ambiente
132	4e	Melon (Levadura)	Pastosa	<i>Rhodotorula</i>	Contaminante
133	4f	Crema - Blanco (Levadura)	Pastosa	<i>Sacchromyces</i>	Contaminante
134	5a	Verde botella	Rugosa	<i>Penicillium</i>	Almacén
135	5b	Orilla Blanca, centro durazno	Algodón Comprimido	<i>Fusarium</i>	Campo
136	5c	Puntos Negros	Polvosa	<i>Aspergillus</i>	Medio Ambiente
137	5d	Negro Puntos, con café. Reverso café estrellado	Polvosa	<i>Aspergillus</i>	Medio Ambiente
138	6a	Negro, Café tierra	Rugosa (Estrella)	<i>Aspergillus</i>	Almacén
139	6b	Blanco con Negro	Algodón	<i>Rhizopus</i>	Deterioro Avanzado
140	6c	Negro, Café tierra	Esporulado	<i>Aspergillus</i>	Almacén
141	7a	Amarillo Verdosa - Blanco	Polvoso, Esporulado	<i>Aspergillus</i>	Almacén
142	7b	Amarillo Verdosa	Polvosa	<i>Aspergillus</i>	Almacén
143	7c	Negro, Café tierra	Rugosa (Estrella)	<i>Aspergillus</i>	Almacén
144	7d	Crema - Blanco (Levadura)	Pastosa	<i>Sacchromyces</i>	Contaminante
145	7e	Negro Puntos, con café. Reverso café estrellado	Polvosa	<i>Aspergillus</i>	Medio Ambiente
146	7f	Verde botella	Rugosa	<i>Penicillium</i>	Almacén
147	7g	Blanco y Fondo Rosa	Algodón Comprimido	<i>Fusarium</i>	Campo
148	7h	Verde azulado, estriado	Rugosa	<i>Penicillium</i>	Almacén
149	7i	Blanco con Negro	Algodón	<i>Rhizopus</i>	Deterioro Avanzado
150	7j	Negro, Café Oscuro	Polvoso, esporulado	<i>Aspergillus</i>	Almacén
151	7k	Amarillo Verdosa - Blanco	Polvosa	<i>Aspergillus</i>	Almacén
152	8a	Puntos Negros	Polvosa	<i>Aspergillus</i>	Medio Ambiente
153	8b	Amarillo Berdosa - Blanco	Polvoso, Esporulado	<i>Aspergillus</i>	Almacén
154	8c	Blanco con Negro	Algodón	<i>Rhizopus</i>	Deterioro Avanzado
155	8d	Amarillo-verde	Conglomerado	<i>Aspergillus</i>	Medio Ambiente
156	8e	Crema - Blanco (Levadura)	Pastosa	<i>Sacchromyces</i>	Contaminante
157	9a	Puntos Negros	Polvosa	<i>Aspergillus</i>	Medio Ambiente

158	9b	Puntos Negros, con café. Reverso café estrellado	Polvosa	<i>Aspergillus</i>	Medio Ambiente
159	9c	Negro, Café Oscuro	Polvosa	<i>Aspergillus</i>	Medio Ambiente
160	10a	Verde Botella orillas blancas	Polvosa	<i>Aspergillus</i>	Almacén
161	10b	Negro, Café Oscuro	Polvoso, esporulado	<i>Aspergillus</i>	Almacén
162	10c	Blanco y Fondo Rosa	Algodón Comprimido	<i>Fusarium</i>	Campo
163	11a	Blanco con Negro	Algodón	<i>Rhizopus</i>	Deterioro Avanzado
164	11b	Melon (Levadura)	Pastosa	<i>Rhodotorula</i>	Contaminante
165	11c	Crema - Blanco (Levadura)	Pastosa	<i>Sacchromyces</i>	Contaminante
166	11d	Negro, Café tierra	Esporulado	<i>Aspergillus</i>	Almacén
167	12a	Blanco y Fondo Rosa	Algodón Comprimido	<i>Fusarium</i>	Campo
168	12b	Crema - Blanco (Levadura)	Pastosa	<i>Sacchromyces</i>	Contaminante
169	12c	Negro, Café tierra	Esporulado	<i>Aspergillus</i>	Almacén
170	13a	Azul grisáceo, gris, orilla blanca	Rugosa	<i>Penicillum</i>	Almacén
171	13b	Amarillo Huevo, Blanco orillas	Polvosa	<i>Aspergillus</i>	Almacén
172	13c	Blanco con Negro	Algodón	<i>Rhizopus</i>	Deterioro Avanzado
173	13d	Verde Botella	Rugosa	<i>Penicillum</i>	Almacén
174	14a	Crema - Blanco (Levadura)	Pastosa	<i>Sacchromyces</i>	Contaminante
175	14b	Azul Grisáceo	Rugosa	<i>Penicillum</i>	Almacén
176	14c	Azul Grisáceo, Gris, Orilla bca.	Rugosa	<i>Penicillum</i>	Almacén
177	14d	Puntos Negros	Polvosa	<i>Aspergillus</i>	Medio Ambiente
178	14e	Amarillo Verdoso	Polvosa	<i>Aspergillus</i>	Almacén
179	14f	Blanco y Fondo Rosa	Algodón Comprimido	<i>Fusarium</i>	Campo
180	14g	Amarillo Verdosa - Blanco	Polvoso, Esporulado	<i>Aspergillus</i>	Almacén
181	15a	Blanco con Negro	Algodón	<i>Rhizopus</i>	Deterioro Avanzado
182	15b	Negro Puntos	Polvosa	<i>Aspergillus</i>	Medio Ambiente
183	15c	Crema - Blanco (Levadura)	Pastosa	<i>Sacchromyces</i>	Contaminante
184	15d	Blanco con Negro	Algodón	<i>Rhizopus</i>	Deterioro Avanzado
185	15e	Verde Botella	Rugosa	<i>Penicillum</i>	Almacén
186	15f	Blanco y Fondo Rosa	Algodón Comprimido	<i>Fusarium</i>	Campo
187	15g	Azul Grisáceo	Rugosa	<i>Penicillum</i>	Almacén
188	15h	Azul Grisáceo, Gris, Orilla bca.	Rugosa	<i>Penicillum</i>	Almacén
189	15i	Negro, Café tierra	Rugosa (Estrella)	<i>Aspergillus</i>	Almacén
190	16a	Amarillo Verdoso	Polvosa	<i>Aspergillus</i>	Almacén
191	16b	Blanco con Negro	Algodón	<i>Rhizopus</i>	Deterioro Avanzado
192	16c	Amarillo Verdosa - Blanco	Polvoso, Esporulado	<i>Aspergillus</i>	Almacén
193	16d	Blanco con Negro	Algodón	<i>Rhizopus</i>	Deterioro Avanzado
194	16e	Negro, Café Oscuro	Polvoso, esporulado	<i>Aspergillus</i>	Almacén
195	17a	Crema - Blanco (Levadura)	Pastosa	<i>Sacchromyces</i>	Contaminante
196	17b	Negro, Café tierra	Esporulado	<i>Aspergillus</i>	Almacén

197	17c	Puntos Negros	Polvosa	<i>Aspergillus</i>	Medio Ambiente
198	17d	Negro, Café, Blando	Pulverulento	<i>Alternaria</i>	Campo
199	17e	Blanco con Negro	Algodón	<i>Rhizopus</i>	Deterioro Avanzado
200	17f	Verde Botella	Rugosa	<i>Penicillium</i>	Almacén
201	17g	Negro, Café tierra	Esporulado	<i>Aspergillus</i>	Almacén
202	18a	Negro, Café tierra	Rugosa (Estrella)	<i>Aspergillus</i>	Almacén
203	18b	Crema - Blanco (Levadura)	Pastosa	<i>Sacchromyces</i>	Contaminante
204	18c	Blanco con Negro	Algodón	<i>Rhizopus</i>	Deterioro Avanzado
205	19a	Verde Botella	Rugosa	<i>Penicillium</i>	Almacén
206	19b	Blanco con Negro	Algodón	<i>Rhizopus</i>	Deterioro Avanzado
207	19c	Amarillo Verdosa - Blanco	Polvoso, Esporulado	<i>Aspergillus</i>	Almacén
208	19d	Negro, Café tierra	Esporulado	<i>Aspergillus</i>	Almacén
209	19e	Blanco con Crema	Pulverulento	<i>Fusarium</i>	Campo
210	20a	Verde Botella	Rugosa	<i>Penicillium</i>	Almacén
211	20b	Negro, Café tierra	Esporulado	<i>Aspergillus</i>	Almacén
212	20c	Rosa Palido	Algodón Comprimido	<i>Fusarium</i>	Campo
213	20d	Rosa Palido con Blanco	Algodón Comprimido	<i>Fusarium</i>	Campo
214	20e	Amarillo Verdosa - Blanco	Polvoso, Esporulado	<i>Aspergillus</i>	Almacén
215	21a	Negro Puntos	Polvosa	<i>Aspergillus</i>	Medio Ambiente
216	21b	Blanco con Negro	Algodón	<i>Rhizopus</i>	Deterioro Avanzado
217	21c	Negro, Café tierra	Rugosa (Estrella)	<i>Aspergillus</i>	Almacén
218	21d	Melon	Levaduriforme	<i>Cephalosporium</i>	Campo
219	21e	Melon (Levadura)	Pastosa	<i>Rhodotorula</i>	Contaminante
220	21f	Gris palido (Adherido al agar)	Algodónosa	<i>Mucor</i>	Suelo
221	22a	Verde Olivo con reverso azul oscuro	Polvoso	<i>Cladosporium</i>	Campo
222	22b	Blanco con Negro	Algodón	<i>Rhizopus</i>	Deterioro Avanzado
223	22c	Puntos Negros	Polvosa	<i>Aspergillus</i>	Medio Ambiente
224	22d	Crema - Blanco (Levadura)	Pastosa	<i>Sacchromyces</i>	Contaminante
225	22e	Negro Puntos, con café. Reverso café estrellado	Polvosa	<i>Aspergillus</i>	Medio Ambiente
226	22f	Melon (Levadura)	Pastosa	<i>Rhodotorula</i>	Contaminante
227	22g	Azul Grisaceo	Polvosa	<i>Penicillium</i>	Almacén
228	23a	Verde Olivo con reverso azul oscuro	Polvoso	<i>Cladosporium</i>	Campo
229	23b	Blanco con Negro	Algodón	<i>Rhizopus</i>	Deterioro Avanzado
230	23c	Negro, Café tierra	Rugosa (Estrella)	<i>Aspergillus</i>	Almacén
231	23d	Amarillo Verdosa - Blanco	Polvoso, Esporulado	<i>Aspergillus</i>	Almacén
232	24a	Negro, Café, Blando	Pulverulento	<i>Alternaria</i>	Campo
233	24b	Amarillo, Blanco y Puntos Negros	Polvosa	<i>Aspergillus</i>	Almacén
234	24c	Negro, Café Oscuro	Polvoso, esporulado	<i>Aspergillus</i>	Almacén
235	24d	Amarillo-verde	Conglomerado	<i>Aspergillus</i>	Almacén
236	24e	Gris palido (adherido al agar)	Algodónosa	<i>Mucor</i>	Suelo

Anexo 3. Metodologías y procedimientos seguidos en la experimentación.

Metodología seguida en la experimentación basada en la NOM-111-SSA1-1994 para la siembra en superficie.

Se prepararon y esterilizaron los materiales y reactivos¹

1. Posteriormente se vertieron 15 ml. de Agar Papa Dextrosa (PDA) en cada caja petri a utilizar y se rotularon.
2. Por otra parte se vertieron 15 ml. de Agar Dextrosa Sabouroe (SDA) en cada caja petri a utilizar y se rotularon.
3. Se dejaron las cajas para prueba de esterilidad en incubación por 24 horas.
4. Se vertieron por duplicado 1 ml. de la solución en cada caja petri (PDA y SDA) correspondiente mediante pipetas estériles.
5. Se repitió el procedimiento tantas veces como diluciones decimales se requiriera sembrar, utilizando una pipeta estéril diferente para cada dilución.
6. Se expandió cuidadosamente la muestra en la caja petri mediante movimientos giratorios para homogenizar la superficie del medio.
7. Se invirtieron las cajas y se colocaron en la incubadora a 22 ± 1 °C.
8. Pasadas 72 horas, se contaron las colonias resultantes y se aislaron para su posterior identificación.

Metodología desarrollada para el aislamiento de hongos

Se siguió el siguiente procedimiento para el aislamiento del hongo:

1. Se trabajó en área estéril (cloruro de benzalconio 1%) y con ayuda del mechero, se estuvo esterilizando una asa bacteriana al rojo ardiente.
2. Una vez teniendo el asa lista se enfrió dentro de la caja petri incrustándola en las orillas de la placa.
3. Con la punta del asa se tomaron esporas

¹ Los medios de cultivo fueron adicionados con cloranfenicol en una relación de 0.5g/L para inhibir el crecimiento bacteriano.

4. Se procedió a tomar una caja petri con los agares específicos que se emplearon (SDA y PDA) y posteriormente se inocularon por punción en el centro de la caja petrí.
5. Se incubo nuevamente a 22 °C para observar el crecimiento de cada hongo.

Metodologia indicada por el fabricante para la evaluación de Aflatoxinas y Fumonisinias.

Determinación de Aflatoxinas. (VICAM, 2000)

Extracción de las muestras

- Tomar 25 g. de muestra con 5 g. de Sal y 100 ml. de metanol - Agua (80:20).
- Moler la muestra.
- Vaciar el extracto obtenido sobre un papel filtro, colocado en un embudo.

Dilución y Filtración

- Tomar una alícuota del líquido filtrado de 10 ml.
- Diluir con 40 ml. de agua destilada
- Filtrar el extracto diluido nuevamente a través de un filtro de 1.5µm de microfibra

Afinidad Cromatografica

- Tomar 4 ml. de la mezcla filtrada
- Pasar 4 ml. de extracto filtrado por la Columna de inmunoafinidad a razón de 1 a 2 otas por segundo.
- Lavar con 10 ml. de la mezcla metanol - agua (20:80)
- Pasar 1 ml. de metanol grado HPLC por la columna de inmunoafinidad
- Recolectar 1 ml. de la muestra en un tubo de Vidrio.

Medición de Aflatoxinas

- Agregar 1 ml. del revelador Aflatest y colocar en Vortex por 10 seg.
- Colocar la muestra en el fluorometro calibrado
- Tomar la lectura en ppb despues de 1 min.

Determinación de Fumonisin (VICAM, 2000)

Para la determinación de fumonisin se utilizó fumonitest, acreditado por AOAC 2001.04..

Extracción de las muestras

- Tomar 50 g. de muestra con 5 g. de Sal y 100 ml. de metanol-agua (80:20 v/v)
- Mezclar a alta velocidad por 1 minuto
- Filtrar a través de un papel filtro plegado.

Dilución y Filtración

- Diluir 10 ml. de extracto con 40 ml. de PBS/0.1%
- Filtrar a través de un filtro de microfibras de 1.0 µm

Afinidad Cromatográfica

- Pasar 10 ml. de extracto diluido a través de la columna con un flujo de 1-2 gotas/segundo
- Lavar la columna haciendo pasar 10 ml. de la PBS/0.1% Tween-20 con un flujo de 1-2 gotas/segundo
- Eluir con 1 ml. de metanol de grado HPLC a través de la columna
- Recoger el eluido en un tubo de Vidrio.

Medición de Fumonisin

- Añadir 1.0 ml. de la mezcla reveladora A y revelador B.
- Colocar la muestra en el fluorómetro calibrado previamente
- Medir la concentración de fumonisin después de 4 minutos.