



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

"Estudio comparativo, identificación y cuantificación de las toxinas de hongos mutágenas y cancerígenas llamadas Aflatoxinas, en chile (*Capsicum* spp. L.), de México."

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO DE ALIMENTOS**

PRESENTA

CONRADO ROSAS CONTRERAS



México, D.F.

2014



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: Q.F.B. Aurora Irma Ortegón Ávila
VOCAL: Q.F.B. Juan Diego Ortiz Palma Pérez
SECRETARIO: Dra. Magda Carvajal Moreno
1er. SUPLENTE: Dra. Araceli Patricia Peña Álvarez
2° SUPLENTE: M. en C. José Guadalupe de la Rosa Canales

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

**Instituto de Biología. UNAM. Departamento de Botánica.
Laboratorio de Micotoxinas C-119**

ASESORA DEL TEMA:

Dra. Magda Carvajal Moreno

SUSTENTANTE:

Conrado Rosas Contreras

Índice	
Contenido	Página
Título	i
Jurado.....	ii
Agradecimientos.....	iii
Dedicatoria.....	iv
Índice.....	v
Lista de Tablas.....	vii
Lista de Figuras.....	viii
Resumen.....	x
Abstract.....	xi
I. Introducción.....	1
I.1. Generalidades del cultivo del chile.....	1
I.1.1. Clasificación taxonómica del chile.....	5
I.1.2. Deshidratación de chiles.....	5
I.2.1. Secado al sol.....	5
I.2.2. En paseras.....	6
I.2.3. En hornos.....	6
I.2. Importancia económica, producción y consumo mundial y en México	7
I.2.1. Área mundial cosechada de chile.....	7
I.2.2. Producción y consumo mundial.....	7
I.2.3. Producción y consumo en México.....	8
I. 3. Generalidades de las aflatoxinas.....	12
I.3.1 Definición y propiedades fisicoquímicas.....	12
I.3.2 Efectos en salud.....	14
II. Hipótesis.....	17
III. Objetivos.....	18
III.1. General.....	18
III.2. Particulares.....	18
IV. Materiales y Métodos.....	19
IV.1. Diseño Experimental.....	19
IV.1.1. Muestreo.....	19
IV.1.2. Preparación de las muestras.....	21
IV.1.2.1 Molienda y pesado.....	21
IV.1.2.2. Extracción y purificación de AF.....	21
IV.1.2.3. Derivatización.....	21
IV.1.2.4. Cuantificación e identificación por HPLC.....	22
IV.1.3. Validación del método.....	22
IV.1.3.1. Selectividad.....	22

ÍNDICE: Continuación.

	Contenido	Página
	IV.1.3.2. Linealidad.....	23
	IV.1.3.3. Porcentaje de recuperación.....	23
	IV.1.3.4. Límites de detección (LOD) y de cuantificación	24
	IV.1.3.5. (LOQ).....	
	Método estadístico.....	
V.	Resultados y Discusión.....	25
	V.1. Validación del método.....	25
	V.1.1. Selectividad.....	25
	V.1.2. Linealidad.....	26
	V.1.3. Porcentaje de recuperación.....	30
	V.1.4. Límites de detección (LOD) y de cuantificación	
	(LOQ).....	30
	V.2. Aflatoxinas en las muestras.....	31
	V.3. Análisis estadístico.....	42
VI.	Conclusiones.....	47
VII.	Bibliografía.....	48

LISTA DE TABLAS

Nº	Contenido	Página
1	Variedad de chiles mexicanos fresco y secos (Flores <i>et al.</i> , 2004).....	3
2	Kilogramo de consumo per cápita (SIAP, 2010).....	9
3	Producción de chile seco más frecuente en México (SIAP, 2010).....	10
4	Estructura, Características y propiedades físicas de las aflatoxinas (FAO, 1994; Juan <i>et al.</i> , 2007).....	13
5	Muestreo de los chiles ancho, guajillo y piquín de 3 mercados por Delegación de la Ciudad de México.....	19
6	Muestras extranjeras de chiles para análisis químico de AF.....	20
7	Constantes de cada AF para obtener su concentración.....	27
8	Curvas de calibración y regresión lineal para cada estándar de AF.....	27
9	Porcentaje de recuperación de AF para cada chile.....	30
10	LOD y LOQ para cada aflatoxina.....	30
11	Rango de Tiempos de Retención de cada AF obtenido de las pruebas de recuperación, selectividad y de las curvas de calibración.....	31
12	Cuantificación de AF ($\mu\text{g kg}^{-1}$) en chiles (ancho, guajillo y piquín).....	32
13	Cuantificación de AF en muestras extranjeras de chiles	33
14	Concentración de AFt ($\mu\text{g kg}^{-1}$) de chile ingerido por comida/ guiso.....	41
15	Prueba de Kruskal-Wallis para los diferentes tipos de chiles.....	42
16	Prueba de Kruskal-Wallis por origen.....	43

LISTA DE FIGURAS

Nº	Contenido	Página
1	Variedades secas de chile.....	1
2	Área cosechada de chile en el periodo 2008-2010 (FAO, 2012).....	7
3	Producción mundial de chile periodo 2008-2010 (FAO, 2012).....	8
4	Producción de chile seco más frecuente en México (SIAP 2012).....	9
5	Variedades y Estados productores de chile jalapeño, serrano, habanero, poblano y morrón (SIAP, 2010).....	11
6	Colonias de mohos <i>A. flavus</i> y <i>A. parasiticus</i> (USDA 2010).....	14
8	Número de países con legislación de Aflatoxinas totales en alimentos (FAO, 2004).....	17
9	Selectividad del blanco Excitación 360 y Emisión 425 y 450nm.....	25
10	Selectividad chile ancho Excitación 360 y Emisión 425 y 450nm.....	25
11	Selectividad en chile guajillo, Excitación 360 y Emisión 425 y 450nm.	26
12	Selectividad en chile piquín, Excitación 360 y Emisión 425 y 450nm..	26
13	Curva de calibración AFB ₁	28
14	Curva de calibración AFB ₂	28
15	Curva de calibración AFG ₁	29
16	Curva de calibración AFG ₂	29
17	Concentración ($\mu\text{g kg}^{-1}$) de AFB ₁ de cada chile por Delegación.....	34
18	Concentración ($\mu\text{g kg}^{-1}$) de AFB ₁ en chile extranjero por país.....	34
19	Concentración ($\mu\text{g kg}^{-1}$) de AFB ₂ de cada chile por Delegación.....	35
20	Concentración ($\mu\text{g kg}^{-1}$) de AFB ₂ en chile extranjero por país.....	35
21	Concentración ($\mu\text{g kg}^{-1}$) de AFG ₁ de cada chile por Delegación.....	36
22	Concentración ($\mu\text{g kg}^{-1}$) de AFG ₁ en chile extranjero por país.....	36
23	Concentración ($\mu\text{g kg}^{-1}$) de AFG ₂ de cada chile por delegación.....	37
24	Concentración ($\mu\text{g kg}^{-1}$) de AFG ₂ en chile extranjero por país.....	37
25	Concentración ($\mu\text{g kg}^{-1}$) de AF totales de cada chile por Delegación..	38
26	Concentración de Aflatoxinas totales ($\mu\text{g kg}^{-1}$) por origen.....	38

Lista de Figuras: Continuación.

27	Promedio de aflatoxinas totales de chiles de México ($\text{AFt} = 2.5 \mu\text{g kg}^{-1}$) y del extranjero ($\text{AFt} = 1.5 \mu\text{g kg}^{-1}$).....	39
28	Promedio de AFB_1 ($\mu\text{g kg}^{-1}$) de para chile piquín.....	43
29	Promedio de AFB_1 ($\mu\text{g kg}^{-1}$) para chile ancho.....	44
30	Promedio de AFB_1 ($\mu\text{g kg}^{-1}$) para chile guajillo.....	44
31	Concentración promedio de AF ($\mu\text{g kg}^{-1}$) en los diferentes chiles analizados.....	45

RESUMEN

El cultivo hortícola del chile tiene un significado histórico y cultural en México, es un alimento básico en la dieta del mexicano. Se consume fresco, seco o en conserva, como componente en guisos y salsas. La mayor parte de la producción del chile fresco se seca, para su posterior venta como chile entero o procesado. Los procedimientos desde la colecta en campo, almacén, transporte y empaque, hasta el secado, se llevan a cabo en su mayoría sin buenas prácticas agrícolas, y los chiles están expuestos a contaminarse por los hongos aflatoxicogénicos que trae la contaminación por AF.

Las Aflatoxinas (AF) son metabolitos secundarios, que corresponden a las bis-dihidro furano cumarinas, producidas principalmente por los hongos *Aspergillus flavus* Link. y *A. parasiticus* Speare, que son contaminantes peligrosos y naturales de diferentes cultivos como los cereales, oleaginosas, especias y sus productos derivados como harinas, alimentos balanceados para animales, leche, huevo y cárnicos y que al ser ingeridos afectan la salud animal y humana.

Hay efectos agudos de las AF cuando se ingieren en altas cantidades por poco tiempo y son vómitos, diarreas, intoxicación generalizada y muerte. Los efectos crónicos se presentan por el consumo de pequeñas cantidades de AF por largo tiempo y son: inmunodepresión, cirrosis, hepatitis, Síndrome de Reye, marasmo, Kwashiorkor, y diferentes tipos de cáncer principalmente en hígado, pero también colonrectal, en páncreas, pecho, pulmón y cervicouterino entre otros.

Siendo las AF un cancerígeno frecuente en Chile, es importante identificar y cuantificar su concentración en chiles en la Ciudad de México, que es en donde se concentra en mayor núcleo poblacional del país.

Para Chile ancho 44% ($0.1-9.85 \mu\text{g kg}^{-1}$) estaba contaminada con AFB₁; 4% ($0.01-0.42 \mu\text{g kg}^{-1}$) con AFB₂; 33% ($0.01-5.97 \mu\text{g kg}^{-1}$) AFG₁ y 20% ($0.5-2.76 \mu\text{g kg}^{-1}$) de AFG₂. Para Chile guajillo 30% ($0.1-1.5 \mu\text{g kg}^{-1}$) AFB₁; 8% ($0.01-0.39 \mu\text{g kg}^{-1}$) con AFB₂; 38% ($0.01-1.64 \mu\text{g kg}^{-1}$) de AFG₁ y 24% ($0.5-1.62 \mu\text{g kg}^{-1}$) de AFG₂. En Chile piquín 40% ($0.1-6.78 \mu\text{g kg}^{-1}$) AFB₁; 3% ($0.01-0.39 \mu\text{g kg}^{-1}$) con AFB₂; 49% ($0.01-4.87 \mu\text{g kg}^{-1}$) de AFG₁ y 9% ($0.5-1.26 \mu\text{g kg}^{-1}$) de AFG₂. Finalmente para las muestras extranjeras se obtuvo 24% ($0.10-1.21 \mu\text{g kg}^{-1}$) de AFB₁; 16% ($0.01-2.32 \mu\text{g kg}^{-1}$) con AFB₂; 32% ($0.01-3.00 \mu\text{g kg}^{-1}$) con AFG₁ y 28% ($0.5-2.42 \mu\text{g kg}^{-1}$) de AFG₂.

ABSTRACT

The chilli pepper crop has historical and cultural significance in Mexico, it is a staple in the Mexican diet, eaten fresh, dried or canned, as a component in stews and sauces. Most of the production of fresh chilli pepper is dried for later sale as whole or processed chilli. The procedures from the field collection, storage, transport and packaging, to the drying takes place mostly without good agricultural practices, and chillies are exposed to contamination by fungi that brings toxic AF contamination.

Aflatoxins (AF) are secondary metabolites, that correspond to bis-dihydro-furan coumarins, mainly produced by the fungi *Aspergillus flavus* Link. and *A. parasiticus* Speare, which are natural hazardous contaminants of various crops such as cereals, oilseeds, spices and derivated products such as flour , animal feed , milk , eggs and meat and that once ingested, animal and human health.

There are acute effects of AF when ingested in high quantities for a short time and they are vomiting, diarrhea, generalized poisoning and death. Chronic effects occur by eating small amounts of AF for a long time and are immunosuppression, cirrhosis, hepatitis, Reye syndrome, marasmus, kwashiorkor, and different cancers mainly in liver but also colorectal, pancreatic, breast, lung and cervical cancers among others.

Aflatoxins are frequent carcinogens of chilli peppers, therefore it is important to identify and quantify their concentration. Mexico City is the center where all the products are concentrated, and the most important population center of the country, therefore it is the best place to sample and analyze the chilli peppers of all the country.

Around 44% of the chilli “ancho” was contaminated with AFB₁ (0.1- 9.85 µg kg⁻¹); 4% with AFB₂ (0.01- 0.42 µg kg⁻¹); 33% with AFG₁ (0.01-5.97 µg kg⁻¹) and 20% with AFG₂ (0.5- 2.76 µg kg⁻¹). Chilli “guajillo” had a 30% contamination of AFB₁ (0.1-1.5 µg kg⁻¹); 8% with AFB₂ (0.01-0.39 µg kg⁻¹); 38% with AFG₁ (0.01-1.64 µg kg⁻¹) and 24 % with AFG₂ (0.5-1.62 µg kg⁻¹). In chilli “piquín” 40% of AFB₁ (0.1- 6.78 µg kg⁻¹); 3 % with AFB₂ (0.01-0.39 µg kg⁻¹), 49 % with AFG₁ (0.01-4.87 µg kg⁻¹) and 9 % with AFG₂ (0.5-1.26 µg kg⁻¹). Finally, foreign samples had 24% of AFB₁ (0.10-1.21 µg kg⁻¹); 16 % with AFB₂ (0.01-2.32 µg kg⁻¹); 32 % with AFG₁ (0.01-3.00 µg kg⁻¹) and 28% with AFG₂ (0.5-2.42 µg kg⁻¹).

I. INTRODUCCIÓN

I.1. Generalidades del cultivo del chile.

El género *Capsicum* (**Figura 1**) pertenece a la familia de las plantas solanáceas, denominada así en el siglo XVI por los herbarios europeos, en varias lenguas occidentales el *Capsicum* lleva un nombre relacionado con la pimienta. En inglés chilli pepper; en francés pimient enragé ó poivre rouge; en italiano peperone y pimentao que es picante en portugués (Belitz & Grosh, 1997; Long, 1998).



Figura 1. Variedades secas de chile.

La palabra española chile, modificación de la náhuatl chilli, sigue siendo utilizada en México y América central. Los Arahucos, grupo cultural de la zona del caribe, lo denominaban en el siglo XVI ají o axí. Actualmente en el lenguaje popular, se utilizan varios nombres según su apariencia, según el tamaño los colores y las formas que tiene cada variedad o bien indicando su procedencia de acuerdo a su etapa de madurez (Long, 1998).

Se considera que el chile (*Capsicum annum L.*) fue la base de la alimentación de las culturas mesoamericanas, llamados Cococ, cocopatic y cocopalatic, desde la época

prehispánica en náhuatl para categorizar la variedad de chiles según su grado de pungencia (Belitz & Grosh, 1997; Long, 1998).

El chile se adapta a diferentes tipos de suelo: arenosos, limosos o arcillosos con alto contenido de materia orgánica, y se desarrolla mejor sembrado a profundidades de 30 a 60 cm. Su desarrollo se favorece a un pH superior a 5.5 y es moderadamente resistente a la acidez y a la salinidad del suelo, en estas condiciones la asimilación de nutrientes se favorece como sucede con el nitrógeno que es vital para el cultivo y que se encuentra también en algunos tipos de fertilizante. El clima para el desarrollo del cultivo del chile debe de ser cálido, entre 10 °C y 35 °C, el relieve, el suelo, la fertilización y el agua disponible, pueden ser la diferencia entre un producto de calidad y otro para desecho (SIAP, 2010).

El género *Capsicum* comprende un grupo diverso de variedades, tanto de chiles dulces, como picantes originarios de los trópicos del continente americano. Son cinco las especies que se cultivan comercialmente (Collera *et al.*, 2004; Lannes *et al.*, 2006): *Capsicum annuum*, *C. frutescens*, *C. baccatum*, *C. pubescens* y *C. chivense*.

El color de cada una de las variedades de *Capsicum annuum* es variable, comienza con un fruto verde y al finalizar su madurez toma un color rojo a rojo oscuro, que depende de la capacidad de cada variedad para efectuar la síntesis de carotenoides y al mismo tiempo de la capacidad que tiene para retener pigmentos (Collera *et al.*, 2004) (**Tabla 1**).

Tabla 1. Variedad de chiles mexicanos fresco y secos (De Flores *et al.*, 2004).

Variedad de chile fresco	Características	Variedad de chile seco	Características
Anaheim	Chile de color verde, grande de forma cónica, cuerpo cilíndrico o aplanado. Sabor semipicante.	Largo colorado	Es el anaheim seco de color rojo cobrizo. Con cáscara delgada, fruncida alrededor de la base del tallo y pliegues irregulares hasta la punta. Sabor suave medianamente picante. Es largo con piel brillante.
Bola, bolita ó trompita.	Chile color rojo oscuro, de forma oval, seco y muy picante. También conocido como trompo, cuyo color es verde o amarillo limón.	Cascabel.	Es el chile bola o bolita seco rojo oscuro, oval, pulpa gruesa y muy picante. Su piel es suave, resistente. Mide 3 cm de largo. Las semillas se desprenden de la pulpa durante la deshidratación y producen un sonido como el de una sonaja o cascabel.
Catarina verde	Chile "catarinita" verde de forma alargada de Aguascalientes y el norte de México.	Catarina (ahumado)	Chile seco, de forma alargada, color sepia rojizo. Sabor picoso.
Costeño (verde brillante)	Chile fresco de color verde, de tamaño mediano, con variedad de formas (alargada o cilíndrica) y de sabor picante de las costas de Veracruz y de Oaxaca.	Costeño (rojo)	Es el costeño verde; al secarse toma el color rojo vivo.
Jalapeño ó cuaresmeño	Chile de color verde y rojo al madurar. De tamaño mediano, carnosos y de punta redonda. Pulpa jugosa y semipicante. Gran porcentaje de la cosecha se enlata y exporta. El chile jarocho es una variedad del chile jalapeño, es más chico.	Chipotle (ahumado)	El chile cuaresmeño secado al humo es muy picoso y perfumado. Toma un color sepia clara o sepia oscuro.
De agua (verde)	Chile verde claro fresco. Es una variedad del cuaresmeño de Oaxaca. Mide de 12 a 15 cm de largo por 5 cm de ancho. Sabor fresco y muy picante.		
Chilaca	Del Bajío, verde oscuro cuando está inmaduro y rojo oscuro al madurar, alargado delgado y ondulado, liso y semipicante.	Pasilla	Al chile chilaca seco se le conoce como chile pasilla de color negro vidrioso. Es muy picante.
		Pasilla de Oaxaca	Producido en Oaxaca y Puebla, cuando está seco es el más arrugado de todos los chiles. Se ahuma y es muy picante. Su piel es brillante de un color mora a vino tinto.
Chilcoztli ó chicoxle	Significa "chile amarillo". De tamaño grande, alargado y de forma rectangular.	Chilcoztli ó chicoxle	Al secar adquiere un tono guinda, mostaza claro. Es picoso.
De árbol (verde)	Chile de color verde, es pequeño y picoso, más delgado y largo que el chile serrano	De árbol	Es el chile de árbol verde al secar la piel toma un color rojo vivo. Retiene brillantez cuando se seca.
Mirasol o puya	Chile verde, delgado y picante, del Norte de México, más largo que el chile de árbol.	Guajillo	Chile sepia rojizo al secar. Alargado y delgado, de piel lisa y gruesa. Picante.
		Chilhuacle	Chile seco color sepia oscuro, casi negro. Es variedad del guajillo, de piel muy resistente.
Pimiento	Chile de color verde, amarillo ó morado cuando es fresco. Es grande de forma cuadrada, achatada y paredes gruesas.	Pimentón	El pimiento se convierte en rojo al madurar y al secarlo y molerlo es el pimentón ó páprika. Se produce en Sinaloa o Sonora.

Tabla 1: Continuación.

Variedad de chile fresco	Características	Variedad de chile seco	Características
Piquín o chiltepín o chile pulga	Chile de color verde cuando es fresco y cambia a rojo al madurar. Muy picante	Piquín (molido)	De color rojo sepia. Muy picante.
Poblano verde	Chile de color verde oscuro. Es grande y ancho con sabor picante moderado. También se le conoce como chile gordo, jaral.	Ancho	Es el chile poblano seco. Al madurara alcanza un color rojo oscuro y luego se seca.
Poblano negruzco	Es parecido en tamaño al chile poblano verde, pero madura en color más oscuro y tiene un sabor ligeramente dulce.	Mulato	Chile seco de color casi negro. Variedad del chile poblano. De sabor un tanto dulce
Serrano (verde)	Chile de color verde cuando es fresco, y rojo al madurar. Es pequeño alargado y puntiagudo Muy picante de pulpa gruesa, contiene muchas semillas. Se le conoce como chile verde o tampiqueño	Serrano seco	Cuando esta seco la piel toma un color ocre. Muy picante.
Largo ó güero	También conocido como carricillo, de color amarillo o verde pálido, largo y rizado, cáscara delgada, dura y tersa pero ondulada. Tiene sabor suave picante		
Tornachile	Tonalchilli. Significa chile de estío o de riego, porque se cultiva en tiempo de aguas y se cosecha en el estío. De color amarillo.		
Manzano, rocoto ó ladino	Chile fresco de color verde, rojo, anaranjado y amarillo. Muy carnosos y picante. De forma esférica. Con semillas negras y arrugadas		
Habanero	Chile de color verde cuando esta tierno y amarillo al madurar. Se le considera el más picante y aromático.		
Caribe	De color verde cuando está fresco y al madurar adquiere un tono amarillo. Es semipicante y de forma cónica triangular.		
Fresno	Chile de color amarillo, forma triangular, pequeño. Suave poco picante.		

I.1.1. Clasificación taxonómica del chile.

El chile se clasifica de acuerdo al Reino, División, Clase, Orden y Familia como se muestra a continuación (Govindarajan, 1985; Long, 1998).

Reino: Plantae

División: Magnoliophytia

Clase: Magnoliopsida

Orden: Solanales.

Familia: Solonaceae

Género: *Capsicum*

Especie: *annuum*

I.1.2. Deshidratación de chiles.

El secado es un proceso esencial en la preservación de los productos agrícolas y se ha utilizado desde hace muchos años. Los chiles secos tienen ventajas sobre los frescos, se pueden almacenar por varios meses sin que se deterioren, son más ligeros para el transporte y su precio es menos fluctuante (Long, 1998).

Debido a las condiciones climáticas de las zonas productoras de Chile y por las características inherentes de cada uno de los tipos que se cultivan, el deshidratado se lleva a cabo en diferentes formas (Long, 1998; Tunde-Akintunde *et al.*, 2005).

1.2.1. Secado al sol.

Se recomienda reducir la humedad de los chiles de 65-80% a 10% por secado para evitar el crecimiento del moho y la acumulación de AF (Iqbal *et al.*, 2010). El primer método de secado desarrollado por el hombre consistió en la exposición directa del Chile al sol, técnica todavía utilizada en el medio rural de países en desarrollo, y se obtiene un producto de mala calidad por las lluvias que lo pudren, el polvo que lo ensucia, así como del ataque de insectos. El proceso consiste en dejar que los frutos desarrollen y maduren en la planta, hasta que se presenta la primera helada, generalmente la primera quincena de noviembre, este secado se considera el más rústico y es casi exclusivo de los chiles tipo mirasol. Se suspenden los riegos antes de que la planta se seque completamente, se arranca con la raíz y luego se amontonan los frutos para su comercialización (Long, 1998).

1.2.2. En paseras.

Se emplea principalmente para los chiles tipos ancho, mulato y pasilla, consiste en cosechar los frutos maduros que se trasladan a las “paseras”, que son cámaras de aproximadamente un metro de ancho por 40 ó 50 m de longitud, con un ligero declive para evitar el encharcamiento en caso de lluvia; el declive debe orientarse hacia el sur obtener una mayor exposición a los rayos solares. Sobre el suelo limpio y parejo, se extiende una capa de paja ó hierba seca que permita el paso del aire y del agua, y en caso de lluvia, evita que los frutos se pudran (Long, 1998). Este secado varía en tiempo y depende de la nubosidad, la brillantez del sol, la temperatura y humedad relativa. Con este método también se obtienen semillas para la siembra.

En el secado, en paseras modificadas, los frutos se cubren con una tira de polietileno, transparente y se colocan piedras en las orillas del polietileno, a un metro de distancia, aproximadamente. Esta operación permite la circulación del aire por debajo del plástico, disminuyendo paulatina, pero más aceleradamente, la humedad contenida en los frutos. Con este método los frutos se voltean con menos frecuencia que en el secado en paseras y se exponen dos veces por cada cara en los 8 ó 10 días que dura el proceso. Este secado ahorra al menos la mitad del tiempo y de costo de la mano de obra con respecto al anterior y evita la pudrición de los frutos ocasionada por el agua de lluvia. A los frutos deshidratados se les atribuyen mejor sabor y color (Bosland & Votava, 2000; Long, 1998).

1.2.3. En hornos.

Otras técnicas de secado de uso muy extendido es en secadores que emplean como combustible la leña, que si bien generan un producto de mejor calidad y en menor tiempo, causan deforestación y contaminan el aire. El edificio que contiene los hornos se construye de ladrillo, tiene dos entradas y dos salidas por cada juego de túneles, en medio de ambas unidades de secado hay otro túnel (cámara de calor), también de ladrillo. La cámara de calor tiene en un extremo al “quemador” donde se inyecta al combustible, y además entradas de aire fresco.

El chile se transporta hacia dentro y fuera de los túneles en carros con bastidores, que ruedan sobre rieles empotrados en el piso. El chile se saca de los túneles, se deposita sobre el piso de concreto para que se ventile, un día después se extiende y se rocía con agua. Los chiles se amontonan y se cubren con una lona para que tengan una humedad similar; esta

operación debe ser inmediata para que los chiles no se rompan con el manejo, y finalmente se empacan (Long, 1998). Este secado ofrece calidad pero sus altos costos limitan su uso (Hernández *et al.*, 2008).

I.2. Importancia económica, producción y consumo mundial y en México

I.2.1. Área mundial de cosecha de chile

El periodo 2008-2010, presenta una superficie cosechada promedio de 1,951,055.67 hectáreas (**Figura 2**), el país con mayor aportación promedio es India, le sigue Etiopía, Myanmar, Pakistán, Tailandia, México se encuentra en el lugar 11 de área cosechada de chile (FAO 2012).

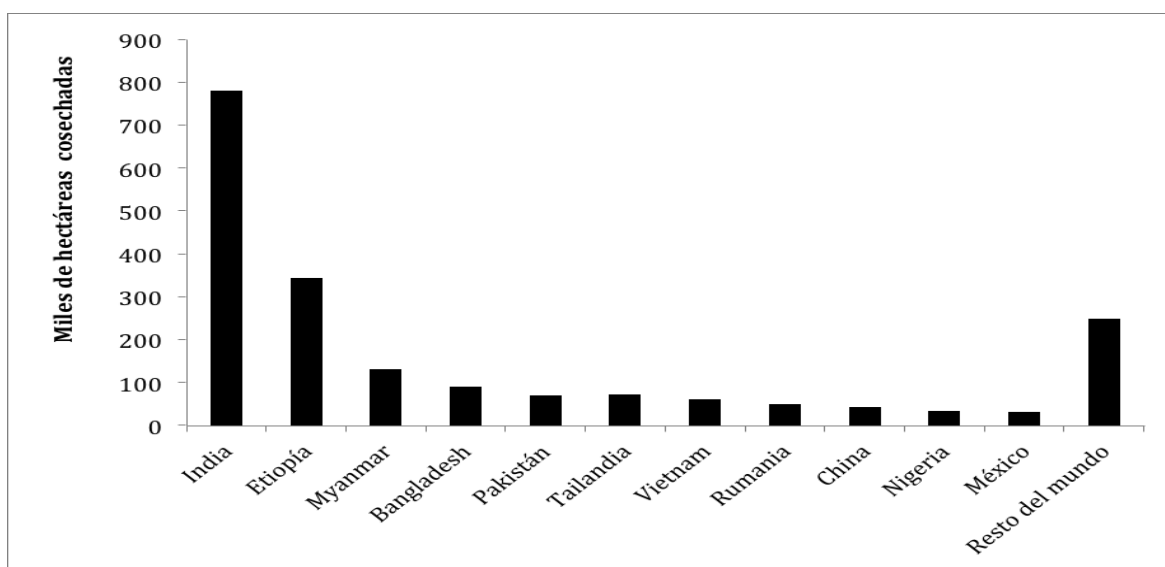


Figura 2: Área cosechada de chile en el periodo 2008-2010 (FAO 2012).

I.2.2. Producción y consumo mundial.

El chile es una de las especias favoritas del mundo, es ampliamente consumida como ingrediente alimenticio, sobre todo en el sudeste asiático y América Latina debido a su picor, sabor, aroma y color. Es susceptible a la contaminación fúngica y a la formación de micotoxinas por el medio ambiente (alta temperatura y humedad) y por las condiciones de proceso (Ozgur *et al.*, 2013).

En diez años (2000-2009) la tasa de crecimiento promedio anual del volumen exportado fue de 14.6%, mientras el valor creció 13.3 % (SIAP 2010).

En el año 2010, la producción mundial de chile vino de al menos 68 países, con una producción estimada de 3,071,177 toneladas (tons), con una aportación de India de 1,223,400 tons, le sigue China con 265,000 tons, Pakistán con 171,700 tons, Tailandia con 158,883 tons, Etiopía con 141,200 tons, Perú con 135,791 tons y México produce aproximadamente 38,800 tons.

El comercio internacional de chiles secos o deshidratados también ha ido en aumento y las importaciones de chiles secos durante 2008 fueron de 357,494 tons. Los principales países importadores de chiles secos son Estados Unidos, Malasia, México, España y Tailandia (SAGARPA, 2012). Los principales países exportadores de chiles secos son: India, China, Perú, Malasia, España, Myanmar y México (SAGARPA, 2012).

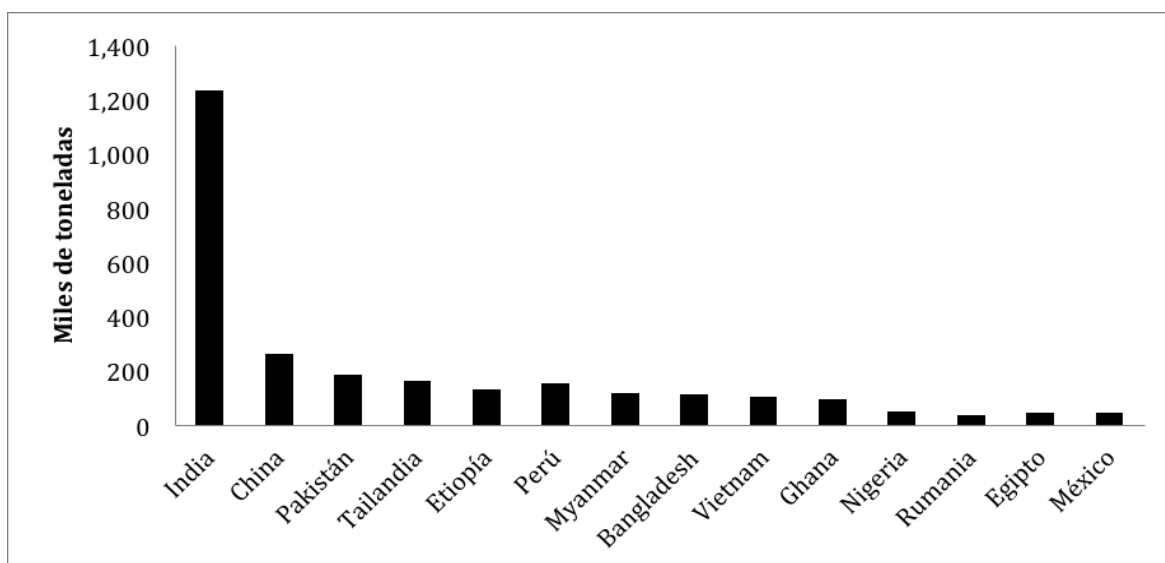


Figura 3: Producción mundial de chiles periodo 2008-2010 (FAO, 2012).

I.2.3. Producción y consumo en México

El consumo nacional aparente es una forma de medir la cantidad de alimento disponible para el consumo de una nación en el lapso de un año. El cálculo es resultado de restar a la producción interna los montos exportados y de sumar los adquiridos a otros países.

Entre los años 2000 y 2009, el consumo aparente promedió un millón 584 mil tons; no obstante, en 2008 y 2009 se situó por debajo del promedio (SIAP 2010). Lo anterior no significa que la producción haya disminuido sino que la demanda internacional del cultivo

mexicano creció considerablemente: en 2000 se exportó una de cada diez toneladas; actualmente se exportan cuatro (SIAP, 2010).

Cada mexicano consume en promedio 15 kg de chile al año (SIAP, 2010) (**Tabla 2**).

Tabla 2: Kilogramos de consumo per cápita en México (SIAP, 2010)

kg de consumo por mexicano										
Año	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009
kg	16	17	15	15	15	16	16	17	14	13

Las más de cien variedades se concentran en 12 de chiles secos (**Figura 4**) y 22 grupos de verdes (**Figura 5**), entre los cuales destacan los picantes como el jalapeño, el poblano y el serrano así como algunos considerados dulces como el morrón (*bell pepper*) (SIAP, 2010).

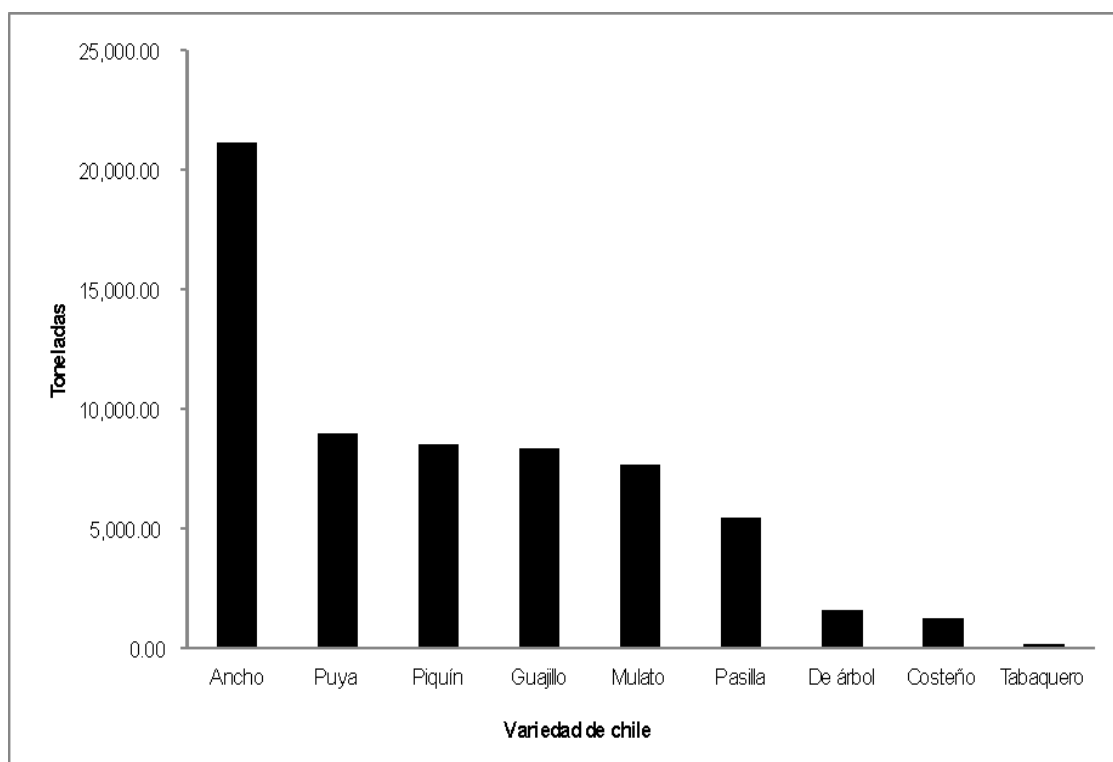


Figura 4: Producción de chile seco más frecuente en México (SIAP 2012)

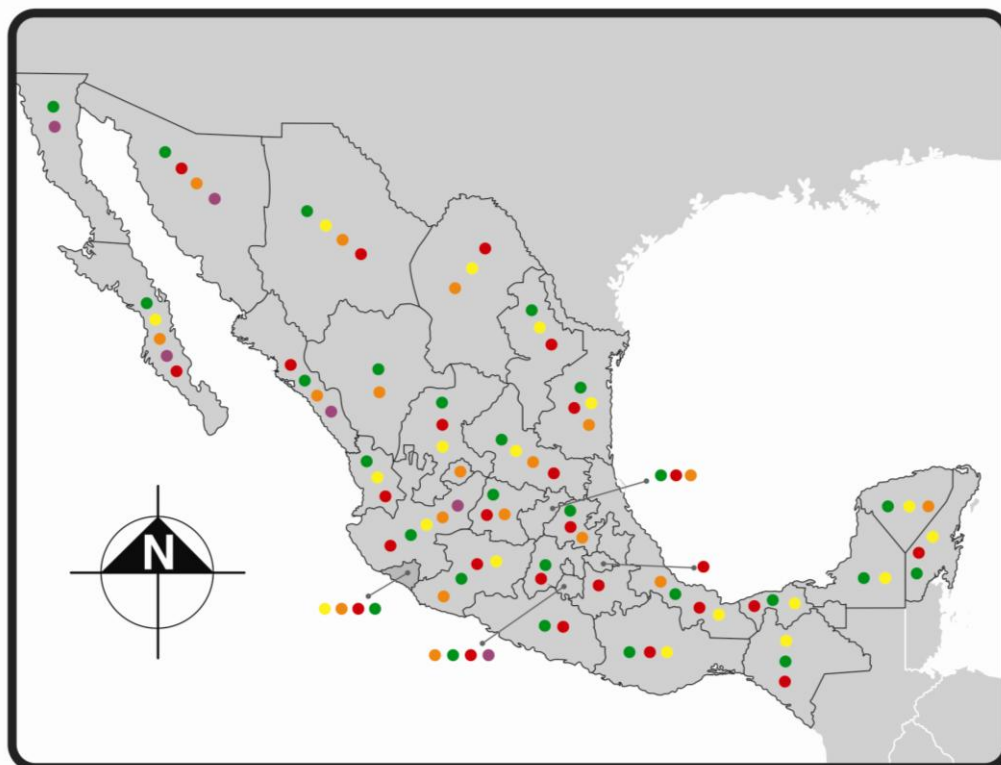
El chile se produce en prácticamente todo el territorio nacional y es en México donde se cultiva la mayor variedad de los mismos (SIAP 2010) (**Tabla 3**).

Tabla 3. Producción de chile secos en México (SIAP 2010).

Estado	Miles de tons
Chihuahua	520
Sinaloa	460
Zacatecas	288
San Luis Potosí	158
Tamaulipas	94
Jalisco	76
Sonora	47
Durango	46
Michoacán	46
Nayarit	41
Guanajuato	37
Veracruz	36
Baja California Sur	33
Baja California	21
Quintana Roo	21
Colima	20

Estado	Miles de tons
Chiapas	19
Coahuila	16
Nuevo León	12
Oaxaca	11
Puebla	9
Querétaro	9
Agascalientes	9
Hidalgo	9
Campeche	7
Guerrero	6
Yucatán	4
Tabasco	3
Edo de México	1
Morelos	1
Total	2059

El chile requiere de investigación para aumentar y establecer el rendimiento y la calidad de este cultivo (Paterson, 2007).








Nombre	Estados
Jalapeño 	Baja California Norte y Sur , Chiapas, Chihuahua, Colima, Durango, Estado de México, Guanajuato, Guerrero, Hidalgo, Jalisco, Michoacán, Morelos, Nayarit, Nuevo León, Oaxaca, Querétaro, Quintana Roo, San Luis Potosí, Sinaloa, Sonora, Tabasco, Tamaulipas, Veracruz, Yucatán y Zacatecas
Serrano 	Baja California Sur, Chihuahua, Colima, Estado de México, Guanajuato, Guanajuato, Guerrero, Hidalgo, Jalisco, Michoacán, Morelos, Nayarit, Nuevo León, Oaxaca, Puebla, Quintana Roo, San Luis Potosí, Sinaloa, Sonora, Tabasco, Tamaulipas, Tlaxcala, Veracruz, y Zacatecas.
Habanero 	Baja California Sur, Campeche, Chiapas, Coahuila, Colima, Jalisco, Michoacán, Nayarit, Nuevo León, Oaxaca, Quintana Roo, San Luis Potosí, Sonora, Tabasco, Tamaulipas, Veracruz, Yucatán y Zacatecas.
Poblano 	Aguascalientes, Baja California Sur, Chihuahua, Coahuila, Colima, Durango, Guanajuato, Jalisco, Michoacán, Morelos, Nuevo León, Puebla, Querétaro, San Luis Potosí, Sonora, Tabasco, Tamaulipas, Veracruz, Yucatán y Zacatecas.
Morrón 	Baja California Norte y Sur, Jalisco, Morelos, Sinaloa y Sonora.

Figura 5: Variedades y Estados productores de chile jalapeño, serrano, habanero, poblano y Morrón (SIAP, 2010).

I.3. Generalidades de las aflatoxinas.

I.3.1 Definición y propiedades fisicoquímicas.

Una toxina puede ser definida como una sustancia que es sintetizada por una especie de planta, animal o por microorganismos, que es perjudicial para otro organismo. Las micotoxinas son metabolitos tóxicos producidas por hongos, principalmente por los mohos saprófitos, que crecen en una variedad de alimentos, incluyendo aquellos para animales y para plantas (Turner *et al.*, 2009).

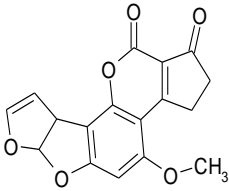
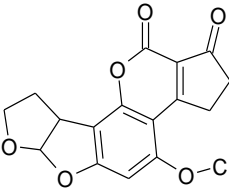
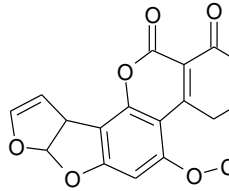
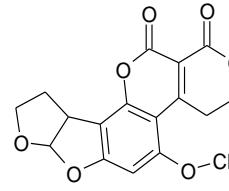
El nombre de micotoxina es una combinación de la palabra griega “mykes” que significa hongo y la palabra latina “toxicum” que significa veneno. El término de "micotoxinas" se suele reservar para lo relativamente pequeño (MW ~ 700), los productos químicos tóxicos son metabolitos secundarios formados por algunos hongos que colonizan rápidamente los cultivos en el campo y después de la cosecha. Estos compuestos representan una amenaza potencial para la salud humana y animal cuando se ingieren con los alimentos.

Generalmente, el moho crece en los cultivos que se almacenan durante días y forman las micotoxinas, que pueden producirse en las regiones templadas y tropicales del mundo. Los principales alimentos contaminados con micotoxinas son cereales, frutas secas, café, cacao, especias, semillas oleaginosas y frutas, especialmente manzanas.

La cebada, otros cereales y las uvas contaminadas producen cerveza y vino con micotoxinas. Cuando los animales son alimentados con cereales contaminados las aflatoxinas (AF) pasan a sus derivados cárnicos, huevos, leche y queso.

Gran Bretaña importó en los decada de 1960 harina de cacahuete de Brasil que estaba contaminada con aflatoxinas que causaron la muerte de más de 100,000 pavos (Enfermedad X de los pavos), y que fueron aisladas y caracterizadas (Blout, 1961; Goldblatt, 1969). Las AF son un grupo de aproximadamente 20 metabolitos secundarios de los hongos *Aspergillus* spp., y sólo las aflatoxina B₁ (AFB₁), aflatoxina B₂ (AFB₂), aflatoxina G₁ (AFG₁) y aflatoxina G₂ (AFG₂) se encuentran en alimentos de origen vegetal (Wogan *et al.*, 2012). Las AF tipo B se llaman así por su fluorescencia azul y las de tipo G por su fluorescencia verde bajo luz UV ver **Tabla 4** y la movilidad relativa en cromatografía en capa fina.

Tabla 4: Estructura, características y propiedades físicas de las aflatoxinas (FAO, 1994; Juan *et al.*, 2007).

	AFB₁	AFB₂	AFG₁	AFG₂
Estructura química				
Forma	Cristales	Cristales	Cristales	Cristales
Punto de fusión °C	268-269	286-289	244-246	237-240
Fluorescencia	Azul	Azul	Verde	Verde
Abs (nm) con UV en etanol	362	363	362	363
Peso molecular	312.0633	314.0790	328.0582	330.0739
Fórmula molecular	C ₁₇ H ₁₂ O ₆	C ₁₇ H ₁₄ O ₆	C ₁₇ H ₁₂ O ₆	C ₁₇ H ₁₄ O ₇
LD ₅₀ (pato) 50µg g ⁻¹	18.2	84.8	39.2	172.5

La aflatoxina B₁ es el compuesto biológico con más efecto cancerígeno (Squire, 1981) y el más frecuentemente producido. También es el mejor estudiado: en un gran porcentaje de los trabajos publicados, el término aflatoxina puede ser interpretado en el sentido de AFB₁. Ya que la agencia internacional para la investigación de cáncer (IARC), clasifica a esta toxina en el grupo 1^a (evidencia suficiente de carcinogenicidad para los humanos) (WHO & IARC, 1993).

Sin embargo, más de una docena de otras AF (por ejemplo, P1, Q1, B_{2a} y G_{2a}) han sido descritas, especialmente como productos de biotransformación de los metabolitos principales (Heathcote & Hibbert, 1978) en el hígado de los animales.

Las aflatoxinas son derivados difuranocumarina producidos por la vía policétido por la que muchas cepas de *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus* (**Figura 6**) y *A. nomius*, pueden crecer en una gran cantidad de alimentos incluyendo: cereales, cacahuates (Shank *et al.*, 1972), especias (Adzahan *et al.*, 2009; Candlish *et al.*, 2001; Colak *et al.*, 2006), higos y frutas secas (Shenasi *et al.*, 2002; Trucksess & Scott, 2008) y chiles (Paterson, 2007; Ravi *et al.*, 2005) (Bennett & Klich, 2003, Ardic *et al.*, 2008).

Aspergillus bombycis, *A. ochraceoroseus*, *A. nomius* y *A. pseudotamarii* también son productores de AF del mismo tipo, pero menos frecuentes (Goto *et al.* 1996; Klich *et al.*,

2000; Peterson *et al.*, 2001). Por ejemplo, sólo aproximadamente la mitad de cepas *A. flavus* producen AF (Klich & Pitt, 1988), mientras que aquellos que lo hacen pueden producir más de $106 \mu\text{g kg}^{-1}$ (Cotty *et al.*, 1994).

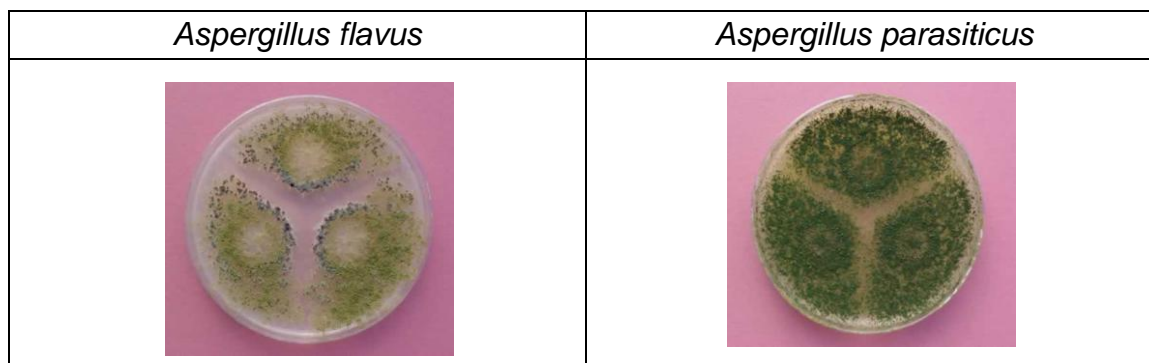


Figura 6: Colonias de mohos *A. flavus* y *A. parasiticus* (USDA, 2010).

Muchos sustratos son susceptibles al crecimiento y la producción de AF por mohos productores de aflatoxinas (Detroy *et al.* 1971; Diener *et al.* 1987).

A veces los cultivos se contaminan con AF en el campo antes de la cosecha, donde generalmente se asocian al estrés por sequía (Diener *et al.*, 1987), o por humedad y calor en el almacén, condiciones que favorecen al crecimiento del moho (Detroy *et al.*, 1971; Wilson & Payne, 1994).

La contaminación con AF se ha relacionado con una mayor mortalidad en animales de granja, el valor de los granos y como un producto de exportación (Smith & Moss, 1985).

I.3.2. Efectos en la salud.

La AFB₁ es un potente agente genotóxico y cancerígeno en muchas especies animales. En la rata, el desarrollo de carcinoma hepatocelular (HCC) es precedida por la formación de focos hepáticos y nódulos hiperplásicos (Wogan *et al.*, 1974).

El consumo de altas concentraciones de AF por poco tiempo provoca aflatoxicosis en animales y el hombre (Eaton & Groopman, 1994; Newberne & Butler, 1969; Peers & Linsell, 1973) y los síntomas agudos son diarreas, vómitos, hemorragias internas y la muerte (Azziz-Baumgartner *et al.*, 2005). La ingestión crónica resulta de consumir cantidades bajas de AF por un período largo de tiempo y puede causar inmunodepresión (Dean *et al.*, 1994), abortos, teratogenicidad (Ong, 1975), cirrosis, hepatitis, síndrome de Reye (Reye *et al.*, 1963), marasmo, Kwashiorkor (Apeagyei *et al.*, 1986) y múltiples tipos de cáncer (Shank *et al.*; 1972; Wogan, 1992), inmunosupresión, y otras condiciones patológicas "Lentas" (Hsieh, 1988).

Estudios más recientes han incluido un examen de la función de otros factores, tales como la hepatitis B (VHB) (Yeh *et al.*, 1989.)

El HCC es de etiología multifactorial en el que el VHB, la AFB₁, el consumo de alcohol, y fumar son causa de su desarrollo (Bosch & Muñoz, 1988).

El hígado es el principal órgano blanco de las AF, el daño hepático se ha visto en aves de corral, pescado, roedores y primates alimentados con AFB₁ con diferente susceptibilidad en las especies, según la edad, sexo, peso, dieta, exposición a agentes infecciosos, la presencia de otras micotoxinas y sustancias farmacológicamente activas (Bennett & Klich, 2003). Hay miles de estudios sobre la toxicidad de las AF, en su mayoría con los modelos de animales de laboratorio o de cultivos agrícolas importantes (Cullen & Newberne, 1994; Eaton & Groopman, 1994; Newberne & Butler, 1969).

Las enzimas del citocromo P450 convierten las AF en la forma reactiva AFB₁-8,9-epóxido, capaz de unirse al ADN, ARN y proteínas (Eaton & Groopman, 1994).

Se calculó que la dosis letal aguda en humanos adultos es de aproximadamente 10 a 20 mg de AF (Pitt, 2000).

Los chiles son susceptibles a la contaminación por AF (Macdonald & Castle 1995; Martins *et al.*, 2001; Reddy *et al.*, 2001; O'Riordan & Wilkinson, 2008). El límite de tolerancia de AFB₁ en los chiles es de 5 µg kg⁻¹ y para el total de AF (AFt) es 10 µg kg⁻¹ (Commission Regulation (EU), 2010).

La infección ocurre en frutos almacenados y la contaminación con AF deteriora la calidad y hace que no sean aptos para su consumo, se restringen las exportaciones (Naik *et al.*, 2003). La contaminación por aflatoxinas se puede dividir en 2 diferentes fases: en el desarrollo del cultivo en la primera fase y un incremento en la contaminación después de la maduración hasta el consumo en la segunda fase (Cotty *et al.*, 2007).

Sin embargo, México no tiene reglamentación para el chile en especial, y este hecho representa un riesgo para la salud debido al alto consumo del mismo en México.

En 1974, en la India hubo un brote de hepatopatía en el que 100 personas murieron por el consumo de maíz contaminado con AF. Algunos adultos comieron de 2 a 6 mg de AF en un sólo día (Krishnamachari *et al.*, 1975).

Una mujer que había ingerido más de 40 mg de AF purificada en un intento de suicidio seguía todavía viva 14 años más tarde. Varias pruebas de laboratorio de su orina y sangre, rayos X, ultrasonido y tomografía axial computarizada de su abdomen, el hígado y el bazo todos dieron resultados normales (Willis *et al.*, 1980).

El número de países que han reglamentado las AF ha aumentado con los años significativamente. Los reglamentos para las AF son con frecuencia detallados y específicos para los alimentos, para los productos lácteos y para las raciones animales.

Los niveles máximos tolerados para la AFB₁ en los alimentos no han cambiado de 1995 a 2003, aunque se ha reducido el rango de los límites (1-20 µg kg⁻¹), con 2 µg kg⁻¹ como el límite vigente actualmente en por lo menos 29 países. La mayoría de estos países pertenecen a la UE, con límites armonizados desde 1988 para la AFB₁ y para la suma de las aflatoxinas totales (AFt). En 2003, muchos de los países candidatos a la UE ya habían armonizado sus reglamentaciones nacionales con las de la UE anticipando su acceso el 1 de mayo de 2004. Otro valor límite importante es el de 5 µg kg⁻¹, seguido por 21 países de África, de Asia/Oceanía, de América Latina y de Europa. Los Estados Unidos y el Canadá no tienen un valor límite único para la AFB₁ (FAO, 2004).

El límite que aparece con mayor frecuencia (**Figura 7**) es de 4 µg kg⁻¹ (aplicado por 29 países). Otro nivel importante es de 20 µg kg⁻¹, aplicado por 17 países, la mitad de ellos en América Latina (donde existe también un límite armonizado en el MERCOSUR) y en varios países del África. También los Estados Unidos, uno de los primeros en fijar un límite de tolerancia para las AFt, se rigen por el valor de 20 µg kg⁻¹, al igual que 76 países en 2003 aplican este nivel.

Es discutible si un límite reglamentario para AFt, contribuye significativamente a una mejor protección de la salud pública. La AFB₁ es la más importante, tanto desde el punto de vista toxicológico como por su frecuencia, pero las otras AF también son cancerígenos probados, por lo que hay que tomarlas en cuenta.

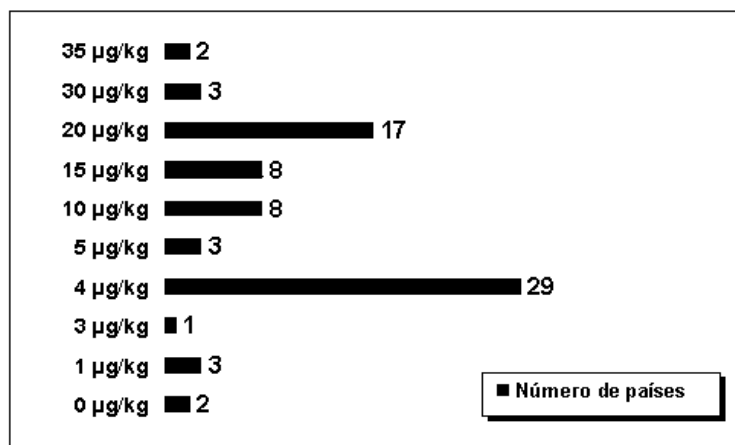


Figura 7. Número de países con legislación de Aflatoxinas totales en alimentos (FAO 2004).

II. HIPÓTESIS

Dado que las AF son contaminantes frecuentes de especias y chile, es posible que se encuentren en los 3 tipos de chile analizados en la Ciudad de México y que su detección muestre el aporte de cancerígenos que los chiles representan en la dieta del mexicano.

III. OBJETIVOS

III.1. General

- Identificar y cuantificar las AF (AFB₁, AFB₂, AFG₁, AFG₂) por cromatografía de líquidos de alta resolución, en 3 tipos de chile (ancho, guajillo y piquín) de mayor consumo en los mercados del Distrito Federal y en muestras de origen extranjero (India, Turquía y Sudáfrica), para conocer el nivel de contaminación y riesgo para la salud que representa su consumo.

III.2. Particulares.

- Muestreo de los tres tipos de chile en los 3 mercados más grandes de cada una de las 16 Delegaciones de la Ciudad de México.
- Validación de la metodología.
- Preparación de las muestras (extracción y purificación).
- Cuantificación e identificación de las Aflatoxinas del chile.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

IV.1. Diseño Experimental.

IV.1.1. Muestreo.

Se diseñó el análisis de 3 tipos de chile (ancho, guajillo y piquín) que son los más consumidos en la Ciudad de México. Se escogió el muestreo al azar de 3 mercados por cada una de las 16 Delegaciones, dando un total de 48 muestras mexicanas de cada tipo de chile (**Tabla 5**), y 8 chiles del extranjero (**Tabla 6**). Un total de 56 muestras. Con las muestras de cada tipo de chile de los 3 mercados se hizo una muestra compuesta por Delegación, se colocaron en bolsas de plástico etiquetadas y se procesaron en el laboratorio.

Tabla 5. Muestreo de los chiles ancho, guajillo y piquín de 3 mercados por Delegación de la Ciudad de México.

Fecha	Delegación	Mercado
30/ago/2012	Álvaro Obregón	Melchor Múzquiz. Av.Revolución, San Angel, 01000 México, D.F.
		Olivar del Conde. Agustín Lara y E.P. Uruchurtu, Olivar del Conde, 01400 DF
		Corpus Christi. San Luis, Corpus Christi, 01530 México D.F.
19/sep/2012	Azcapotzalco	Azcapotzalco. Azcapotzalco, Centro de Azcapotzalco, Azcapotzalco, 02000, D. F.
		Prohogar. Eje 1 poniente (Calz.Vallejo) N° 12, Pro Hogar, Azcapotzalco, 02600 DF
		Nueva Santa María. Av. Camarones, Nueva Sta María, Azcapotzalco, 02800 DF
30/ago/2012	Benito Juárez	De Mixcoac. Revolución SN, Col. Mixcoac, 03849 México D.F.
		Portales. Santa Cruz S/N Col. Portales, 03300 México, D.F.
		Independencia. Eje 6 Sur e Independencia, Col. Independencia, 03630 México DF
29 /ago/2012	Coyoacán	Ajusco-Moctezuma. Mixtecas 92 Col. Ajusco, 04300 México D.F.
		Santo Domingo Las Rosas. Papalotl Col. Pedregal de Sto Domingo, 04369 DF
		De Coyoacán. Ignacio Allende s/n, Col. Del Carmen C.P 04100 México, D.F.
13/sep/2012	Cuajimalpa	Rosas Torres. Sn José de los Cedros esq. Sauce.Sn José de los Cedros.05200 DF
		Cuajimalpa. Av. Veracruz esq. Ocampo. Col. Manzanito.05040 México DF
		Contadero. Av.16 de Sep esq. Mariano Escobedo. Loma de la Papa.05088 D.F.
6/sep/2012	Cuauhtémoc	Hidalgo. Dr Balmis. Colonia Obrera. 06800 México D.F.
		Arcos de Belén. Arcos de Belén esquina con Dr. Valenzuela. Centro. 06010 D.F.
		San Juan. Calle Ernesto Pugibet No. 71. Col. Centro. 06010 México D.F.
19/sep/2012	Gustavo A. Madero	Río Blanco. Emiliano Carranza Colonia Mártires de Río Blanco,07880 México D.F
		De la Estrella. Joyas Colonia La Estrella. 07810 México D.F
		Martín Carrera. José J. Herrera Colonia Martín Carrera, 07070 México D.F
26/sep/2012	Iztacalco	San Miguel Iztacalco. Julio García Col. Barrio de San Miguel, 08650 México D.F.
		Tlacotal. Calle Ote Colonia Gabriel Ramos Millán, 08730. México D.F.
		Santa Anita. Eje 1 Ote, Av. Andrés Molina Enríquez, Viad. Piedad 08200. Méx D.F.

Tabla 5: Continuación

Fecha	Delegación	Mercado
26/sep/2012	Iztapalapa	Central de Abastos. Eje 6 Sur esq. Río Churubusco, Central de Abasto 09040 D.F.
		Santa Cruz Meyehualco. Calle 55, Col. Sta Cruz Meyehualco. 09290. México D.F.
		Jacarandas. Manlio Fabio Altamirano Col. Jacarandas. 09280. México D.F.
12/sep/2012	La Magdalena Contreras	Cerro del Judío. Av. San Bernabé esq. Independencia. Barros Sierra. 10380 D.F.
		La Loma. José Moreno Salido esq. Fresno. Col. Pueblo Nuevo Bajo. 10640 Méx. DF
		Turístico La Magdalena. Magdalena esq. Emilio Carranza. Col Magdalena Contreas 10910 D.F.
12/sep/2012	Miguel Hidalgo	Tacubaya. Arq. Carlos Lazo esq. Arq. Luis Ruiz. Observatorio. 11860 México D.F.
		Plutarco Elías Calles, "El Chorrillo". Melchor Muzquiz esq. Parque Lira. Col. San Miguel Chapultepec. 11850 México D.F.
		Argentina. Lago Atitlán esq. Lago Viedma. Col. México Nuevo. 11260 México D.F.
5/sep/2012	Milpa Alta	San Antonio Tecómitl. Calle 5 mayo. San Antonio Tecómitl, 12100 México, D.F.
		Villa Milpa Alta. Yucatán sur. Col. Villa Milpa Alta. 12000 México D.F.
		San Pedro Actopan. Fco I. Madero. Col. San Pedro Actopan. 12200 México D.F.
27/sep/2012	Tláhuac	Colonia del Mar. Camarón. Colonia del Mar. 13270 México D.F
		La Nopalera. Falsta Colonia La Nopalera. 13220 México D.F
		Tláhuac. General Severino Cisneros Col. La Magdalena 13070. México D.F
6/sep/2012	Tlalpan	Tlalcoligia. Cristóbal Colón Col. Tlalcoligia. 14430 México D.F
		Torres de Padierna. Calle Tixpehual. Col. Torres de Padierna. 14209 México DF.
		De la Luz. Calle Francisco I. Madero Col. Tlalpan Centro, 14000 México DF.
20/sep/2012	Venustiano Carranza	La Merced. General Anaya s/n, Colonia Merced Balbuena, 15810 México DF.
		Jamaica. Guillermo Prieto 45 Depto C-15. Colonia Jamaica, 15800. México D.F.
		San Ciprián. Dulcería Hidalgo esq. Gral. Anaya/Juan de la Granja. Merced Balbuena, 15810 México D.F.
5/sep/2012	Xochimilco	De Xochimilco. Calle Morelos. Colonia El Rosario. 16070 México D.F.
		San Gregorio Atlapulco. Calle Belisario Domínguez. 16600 México D.F.
		Tulyehualco. Av. División del Norte. Col. Santiago Tulyehualco, 16700 México D.F.

Tabla 6. Muestras extranjeras de chiles para análisis químico de AF.

PAÍS	Lugar de compra de la muestra	Fecha de compra
India	Mercado de Bophal	Noviembre/2010
Turquía	Mercado de Estambul	Mayo/2005
Turquía	Mercado de Estambul	
Turquía	Mercado de Estambul	
Turquía	Mercado de Estambul	
Turquía	Mercado de Estambul	
Turquía	Mercado de Estambul	
Sudáfrica	Mercado de Pretoria	Julio/2010

IV.1.2. Preparación de la muestras

IV.1.2.1. Molienda y pesado.

Las muestras fueron de 50 g de peso seco por cada uno de los 48 mercados, se etiquetaron y se pre-molieron en licuadora (Oster Mod. 465-43, USA) para su mejor homogeneización y que la concentración de AF fuera representativa.

Las muestras de los países del extranjero se compraron en los mercados de Estambul y Bhopal, se secaron en horno (Novatech BTC-9100, Houston Texas, USA) y se pesaron en una balanza granataria (Ohaus 700 Series, Parsippany, NJ, USA). Posteriormente se molieron en grano fino.

IV.1.2.2. Extracción y purificación de AF.

A los 50 g de muestra se les adicionaron 100 mL de metanol (J.T. Baker, Center Valley, PA, USA) /agua (80/20 v/v) y 2 g de NaCl (J.T. Baker), se molieron por 1 minuto en una licuadora (Oster Mod. 465-43). La mezcla se filtró con papel filtro de poro fino, se colectó el filtrado, del cual se tomaron 2 mL y se diluyeron con 14 mL de buffer de fosfatos (PBS). La preparación del PBS se realizó con 10.0 g de cloruro de potasio (KCl) (J.T. Baker), 10.0 g de fosfato de potasio monobásico (KH_2PO_4) (J.T. Baker), 58.0 g de fosfato de sodio monobásico hidrogenado (Na_2HPO_4) (J.T. Baker), 400.0 g de cloruro de sodio (NaCl) (J.T. Baker), 2.5 g de azida sódica (NaN_3) (J.T. Baker) y se aforó con agua destilada a 5 L, al final de su preparación se ajustó el pH a 7.4 (Norma Oficial Mexicana, 2002).

La columna de inmunoafinidad para AFt (Easi-Extract R-Biopharm Rhône LTD, UK), se equilibró pasándole 20 mL de PBS, después recibieron los 16 mL de filtrado diluido a una gota por segundo, y se lavó con 20 mL de agua destilada. Se eluyó (se separaron las AF de sus anticuerpos del gel de agarosa) con 1.5 mL de metanol HPLC por gravedad pero jalando el émbolo de la jeringa para romper el gel y separar con mas facilidad a las AF, finalmente se añadieron 1.5 mL de agua destilada y se recibió el eluido en un vial ámbar etiquetado con el número de muestra. Los eluidos se secaron en un horno (Novatech BTC-9100) a temperatura constante de 40 °C.

IV.1.2.3. Derivatización.

Se hizo un ensayo de derivatización para encontrar las mejores condiciones de la misma. En el caso del análisis de estándares de AF para las curvas de calibración se usaron

200 μL de acetonitrilo (ACN) con 800 μL de la solución derivatizante (5 mL de ácido trifluoroacético (ATF) (Sigma-Aldrich, St. Louis MO, EEUU) + 2.5 mL ácido acético glacial (Merck, Naucalpan, Edo. Mex., México) + 17.5 mL de agua desionizada), se mezclaron los reactivos en un agitador orbital (Vortex G-560, Bohemia, N.Y., EEUU) por 30 segundos, y los viales se mantuvieron en un baño María a 65 °C por 10 minutos. En el caso de las muestras secas se resuspendieron con 100 μL de acetonitrilo (ACN), y 400 μL de la solución derivatizante con objeto de aumentar su fluorescencia según describen Akiyama *et al.* (2001) y Kok (1994), y se continuó con el calentamiento antes descrito.

IV.1.2.4. Cuantificación e identificación por HPLC.

Los estándares de AF y muestras derivatizadas se llevaron a temperatura ambiente y se inyectaron 60 μL en el cromatógrafo de líquidos de alta eficiencia (HPLC) con loop de 20 μL para su análisis por triplicado. El HPLC (Series 1200) contó con una bomba isocrática (G1310A Serie DE62957044), detector de fluorescencia (G1321A Serie DE60456380) y automuestreador (G1329A Serie DE64761666), todos de Agilent Technologies. Se usó una columna cromatográfica Agilent Eclipse XDS-C18, 4.6 \times 250 mm, 5 μm de grosor de partícula y el programa utilizado fue ChemStation 32. La fase móvil o solución isocrática para el HPLC se preparó con $\text{H}_2\text{O}/\text{ACN}/\text{MeOH}$ (65:15:20 v/v/v) y se filtró al vacío para desgasificarla. Las características de los reactivos fueron: metanol (CH_3OH) (J.T. Baker N° Cat. 9093-03), acetonitrilo (CH_3CN) (J.T. Baker N° Cat. 9017-03) y agua destilada ($\text{H}_2\text{O}_{\text{dest}}$). Los solventes tuvieron pureza cromatográfica HPLC.

IV. 1.3. Validación del método.

Para la validación del método se consideró hacer las siguientes pruebas:

IV.1.3.1. Selectividad.

IV.1.3.2. Linealidad con las curvas de calibración.

IV.1.3.3. Porcentaje de recuperación.

IV.1.3.4. Límites de detección (LOD) y de cuantificación (LOQ).

IV.1.3.1. Selectividad.

Es el grado al cual el método puede determinar al analito, sin interferencia de la matriz. Uno de los objetivos de la selectividad es comprobar que no haya interferencia entre los 4 estándares de AF, 100 ng de cada una de las 4 AF juntas, y las matrices.

Se tienen 3 matrices de chile: 1) guajillo, 2) piquín y 3) ancho, de modo que se escogieron las 3 muestras no tuvieran contaminación por AF que son:

- 1) Para el chile guajillo el mercado de la Delegación Benito Juárez.
- 2) Para el chile piquín el mercado de la Delegación La Magdalena Contreras.
- 3) Para el chile ancho el mercado de la Delegación Miguel Hidalgo.

Se pesó un gramo de cada muestra y se enriqueció con 100 ng de cada una de las AF (AFB₁ + AFB₂ + AFG₁ + AFG₂) juntas. Se analizaron por HPLC.

IV.1.3.2. Linealidad.

Es la aptitud para obtener resultados proporcionales a la concentración de analito. Se realizó analizando soluciones estándar de AFB₁ (0.1, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 8.0, 16.0, 32.0, 64.0 y 128.0 ng mL⁻¹), AFB₂ (0.01, 0.05, 1.0, 5.0, 10.0, 20.0, 40.0, 70.0, 100.0 y 200.0 ng mL⁻¹), AFG₁ (0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1.0, 4.0, 16.0, 100.0 y 128.0 ng mL⁻¹) y AFG₂ (0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 8.0, 16.0, 32.0, 64.0, 100.0, 200.0, 600.0, 800.0 y 1000.0 ng mL⁻¹) en diferentes concentraciones. Las curvas de calibración se construyeron graficando las áreas de los picos contra las concentraciones de cada solución estándar de AF.

IV.1.3.3. Porcentaje de recuperación.

Es la eficiencia del método para detectar toda la sustancia a estudiar en una muestra. Se colocó un gramo de cada tipo de chile, guajillo, piquín y ancho, que no tuviera contaminación por AF, en un tubo de centrifuga (Falcon) de 50 mL, y se fortificó con 100 ug kg⁻¹ de cada una de las 4 AF por separado, se añadieron 3 mL de MeOH, 2 mL de agua destilada, y un gramo de NaCl y se colocaron en la centrífuga (ALC 4235 con sistema de enfriamiento CWS) a 4000 rpm por 15 minutos. Se utilizaron los sobrenadantes diluidos en PBS a 7.4 de pH para pasarlos por la columna de inmunoafinidad previamente equilibrada con 20 mL de PBS. Dichas columnas se lavaron con agua y se eluyeron con 1.5 mL de MeOH HPLC y después con 1.5 mL de agua retrayendo el émbolo de la jeringa para romper al gel de agarosa y que hubiera un contacto más completo con los solventes.

Los eluidos se secaron en horno a 40 °C, se derivatizaron y se inyectaron 60 µL en el HPLC por triplicado. Se calculó la cantidad de cada AF recuperada para ajustar las concentraciones de cada AF de las muestras.

IV.1.3.4. Límites de detección (LOD) y de cuantificación (LOQ).

El límite de detección (LOD) se calculó por medio de un análisis de regresión de la curva de calibración de la AF correspondiente. El LOQ es la cantidad más pequeña de AF encontrada en una muestra y se calcula en alrededor de 5 veces el LOD.

IV.1.3.5. Método Estadístico

Se aplicó la prueba de Kruskal-Wallis (también llamada prueba H) para datos no paramétricos, que utiliza rangos de datos muestrales de tres o más poblaciones independientes. Se utiliza para probar la hipótesis nula de que las muestras independientes provienen de poblaciones con medianas iguales; la hipótesis alternativa es la aseveración de que las poblaciones tienen medianas que no son iguales.

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

V.1. Validación del método.

V.1.1. Selectividad.

La selectividad es un método analítico para evitar la interferencia entre las AF y otros metabolitos endógenos, compuestos de la matriz, etc. Para revisar la selectividad con el método propuesto se muestran los siguientes cromatogramas: blanco (**Figura 9**); chile ancho (**Figura 10**), chile guajillo (**Figura 11**) y chile piquín (**Figura 12**) fortificados con 100 ug kg-1 de las AFB₁, AFB₂, AFG₁ y AFG₂. Se observa si es que hay interferencia con el tiempo de retención de cada AF en las matrices estudiadas. El propósito de este método es el poder discriminar entre los componentes del analito y de la matriz.

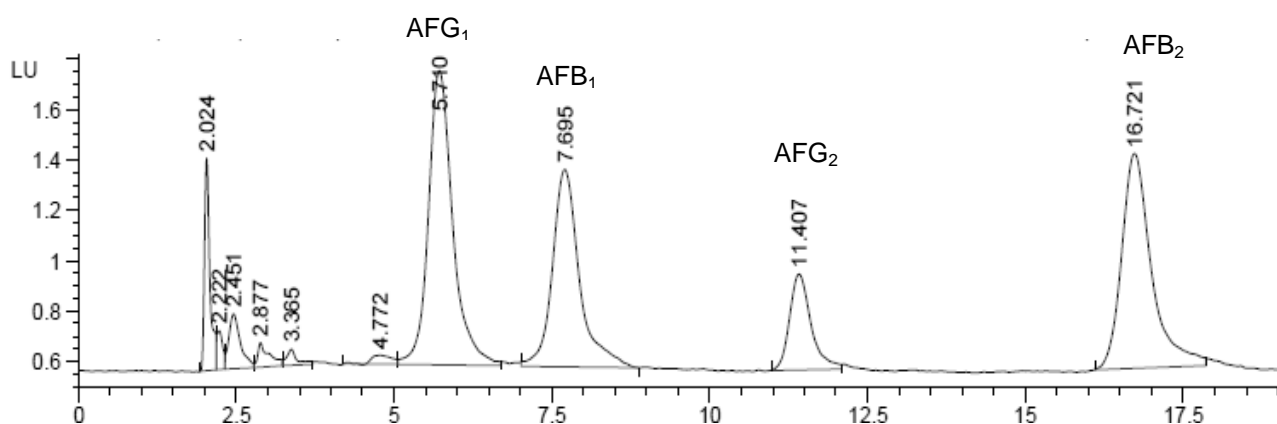


Figura 9. Selectividad del blanco, Excit 360 y Emisión 425 y 450nm.

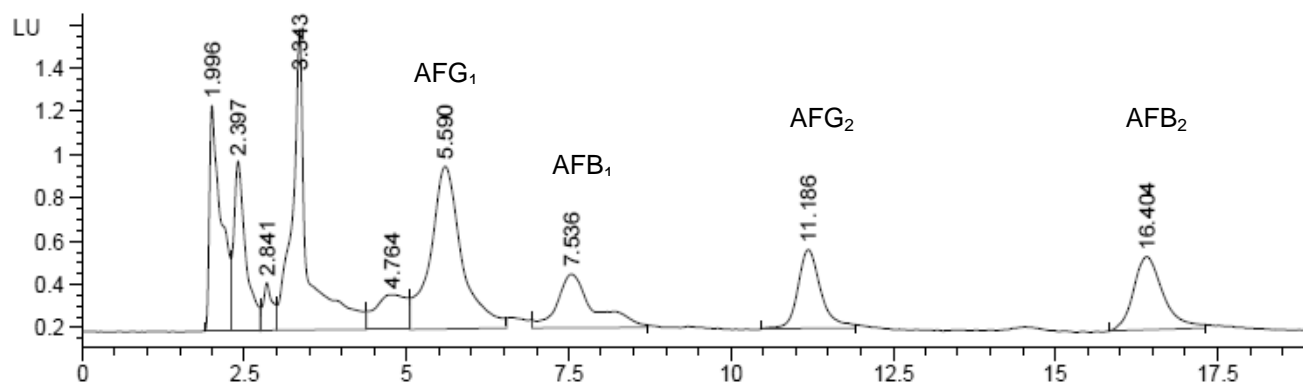


Figura 10. Selectividad chile ancho, Excit 360 y Emisión 425 y 450nm.

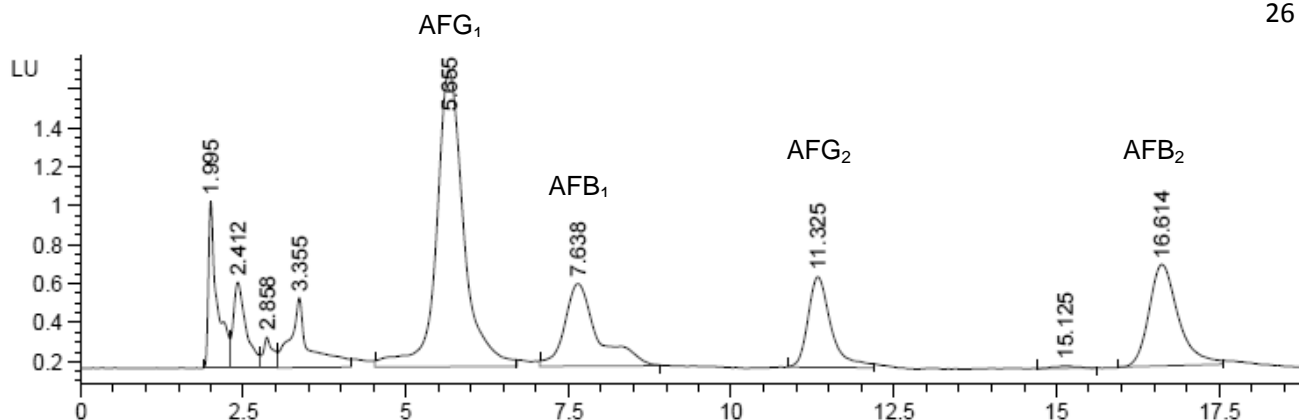


Figura 11. Selectividad en chile guajillo, Excit 360 y Emisión 425 y 450nm.

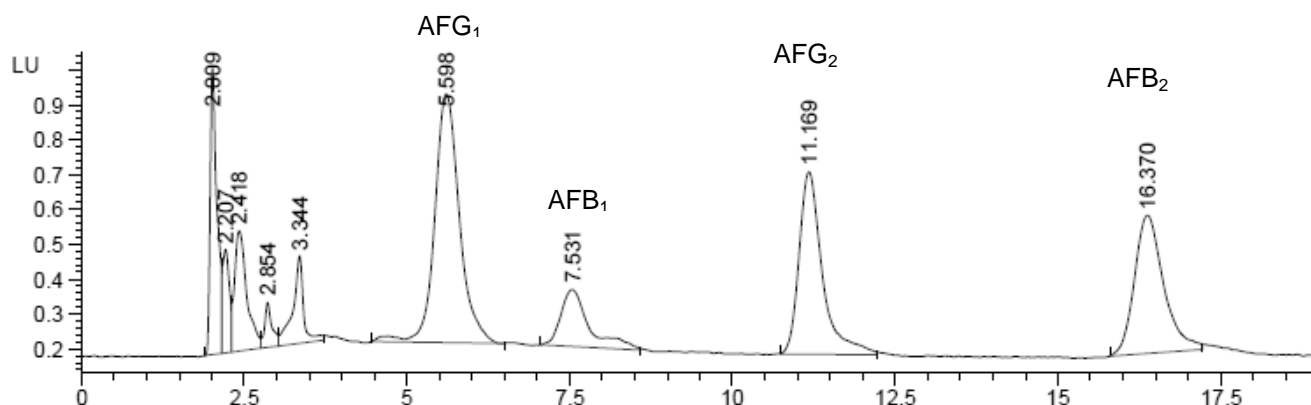


Figura 12. Selectividad en chile piquín, Excit 360 y Emisión 425 y 450nm.

V.1.2. Linealidad

Medición de un $\mu\text{g mL}^{-1}$ de AF por espectrofotometría.

Las curvas de calibración son la referencia para la medición en el HPLC. Para elaborar las curvas de calibración se procedió a preparar una solución patrón ó stock de $1 \mu\text{g mL}^{-1}$ de cada AF, AFB₁, AFB₂, AFG₁ y AFG₂ por separado. Los estándares de AF en su vial sellado se inyectaron con una solución de 1 mL de benceno: acetonitrilo (98:2 v/v), de acuerdo a las indicaciones sugeridas por los Métodos Oficiales AOAC 970.43 para micotoxinas (AOAC International, 1995) y se homogeneizó en un agitador orbital. Después se tomó un poco del estándar de AF en benceno/acetonitrilo y se midió la Absorbancia en un espectrofotómetro (Genesys 10 UV Modelo Thermo Electron Corporation, Massachusetts, EEUU). En una celda de cuarzo se colocó metanol como blanco y se ajustó la calibración a cero para que se le reste la absorbancia del mismo a la medición del estándar de AF. Se colocó la solución de AF en metanol dentro de una 2^a celda y se midió la absorbancia en el espectrofotómetro. Se escogió la absorbancia en 362 nm. Se aplicó la siguiente fórmula para hacer una

concentración de $1 \mu\text{g AF mL}^{-1}$, en donde se usó el peso molecular (PM) de la AF y el coeficiente de extinción (CE).

$$\frac{\text{Absorbancia de AF a } 362\text{nm} \times \text{Peso molecular de la AF (PM)}}{\text{Coeficiente de extinción de la AF (CE)}} = \mu\text{g AF mL}^{-1}$$

Cada solución patrón se calculó con los pesos moleculares y coeficientes de extinción correspondientes a cada AF presentados en la Tabla 7.

Tabla 7. Constantes de cada AF para obtener su concentración.

Aflatoxinas	Peso molecular	Coeficiente de extinción
B ₁	312	21,800
B ₂	314	24,000
G ₁	328	17,700
G ₂	330	17,100

A partir de la solución stock se construyeron las curvas de calibración utilizando las concentraciones que se presentan en la **Tabla 8**, se graficó el área obtenida en el cromatograma respecto a la concentración (ng mL^{-1}) de cada dilución. Para AFB₁ (**Figura 13**), AFB₂ (**Figura 14**), AFG₁ (**Figura 15**) y AFG₂ (**Figura 16**), y se obtuvo la regresión lineal para cada AF con el programa Excel.

Tabla 8. Curvas de calibración y regresión lineal para cada estándar de AF.

AFB ₁		AFB ₂		AFG ₁		AFG ₂	
Conc (ppb)	Área	Conc (ppb)	Área	Conc (ppb)	Área	Conc (ppb)	Área
0.1	1.3	0.01	0.027	0.01	0.05	0.5	2.83
0.5	2.7	0.05	0.12	0.05	0.15	1	1.80
1	3.87	1	2	0.1	0.23	2	3.40
2	9.63	5	6.6	0.5	0.96	4	6.00
4	15.6	10	23	1	3.23	8	10.43
8	31.17	20	38.4	4	12.47	16	17.16
16	51.4	40	93	16	21.93	32	42.90
32	93.97	70	149.7	100	181.53	64	74.70
64	184.4	100	173.9	128	221.7	100	107.37
128	357.05	200	345.4	-	-	200	216.97
-	-	-	-	-	-	600	715.28
-	-	-	-	-	-	800	1016.70
-	-	-	-	-	-	1000	1252.00
Ecuación curva de calibración							
AFB₁		AFB₂		AFG₁		AFG₂	
y=2.8299x		y=1.7786x		y=1.7607x		y=1.2411x	
R ² = 0.9973		R ² = 0.9892		R ² = 0.9969		R ² = 0.9986	

Curva de AFB₁

La curva de AFB₁ se presenta en la **Figura 13**. Con concentraciones de 0.1, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 8.0, 16.0, 32.0, 64.0 y 128.0 ng mL⁻¹.

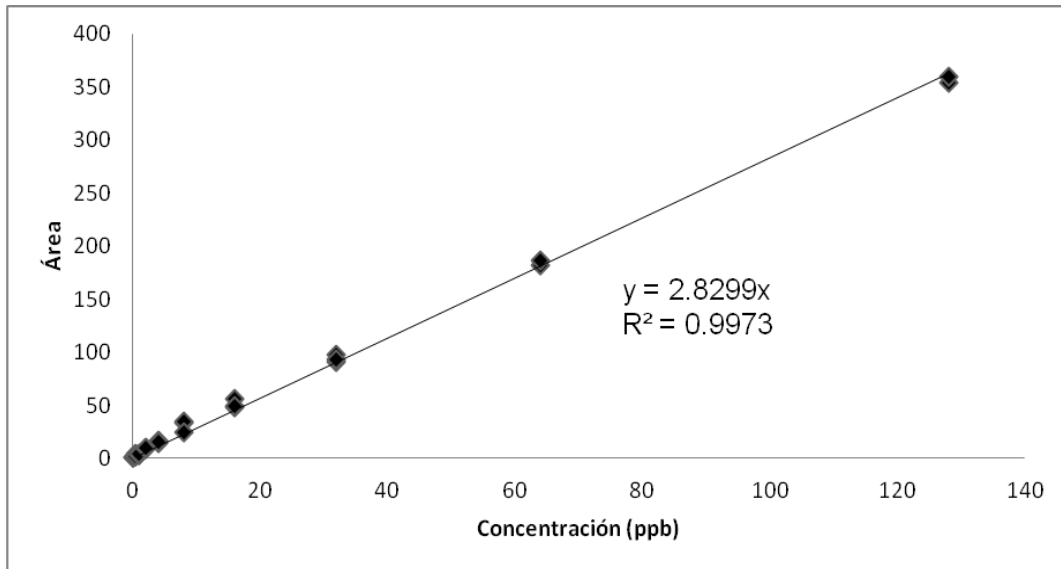


Figura 13. Curva de calibración AFB₁

Curva de AFB₂

La curva de AFB₂ se presenta en la **Figura 14**. Con concentraciones de 0.01, 0.05, 1.0, 5.0, 10.0, 20.0, 40.0, 70.0, 100.0 y 200.0 ng mL⁻¹.

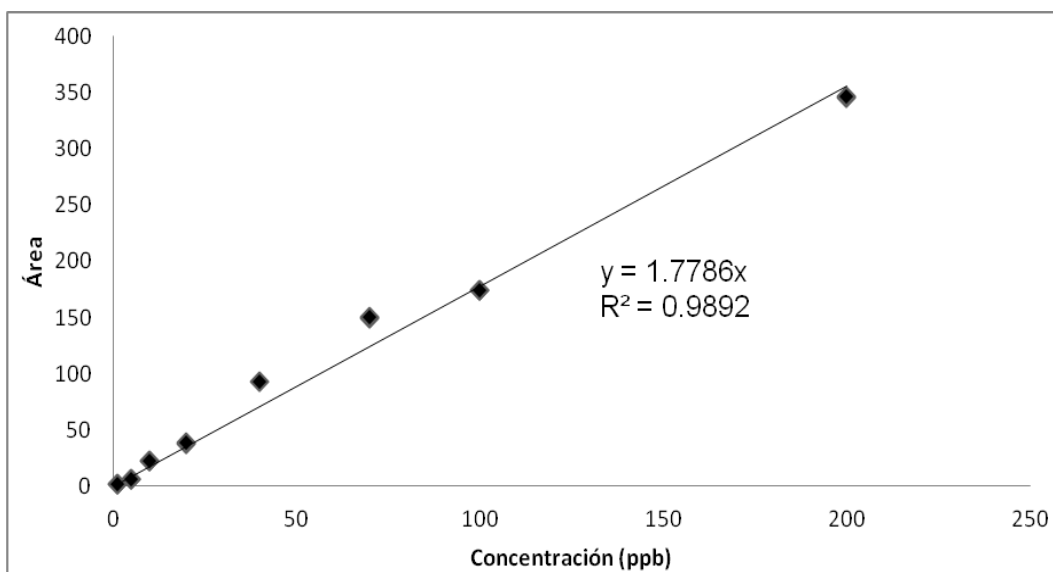


Figura 14. Curva de calibración AFB₂

Curva de AFG₁

La curva de AFG₁ se presenta en la **Figura 15**. Con concentraciones de 0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1.0, 4.0, 16.0, 100.0 y 128.0 ng mL⁻¹

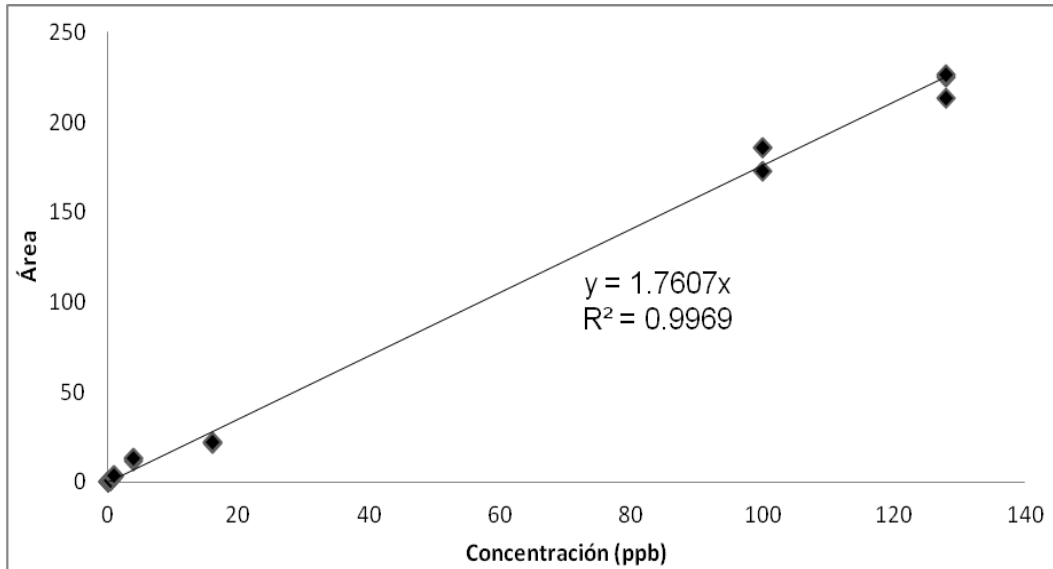


Figura 15. Curva de calibración AFG₁.

Curva de AFG₂

La curva de AFG₂ se presenta en la **Figura 16**. Con concentraciones de 0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 8.0, 16.0, 32.0, 64.0, 100.0, 200.0, 600.0, 800.0 y 1000.0 ng mL⁻¹.

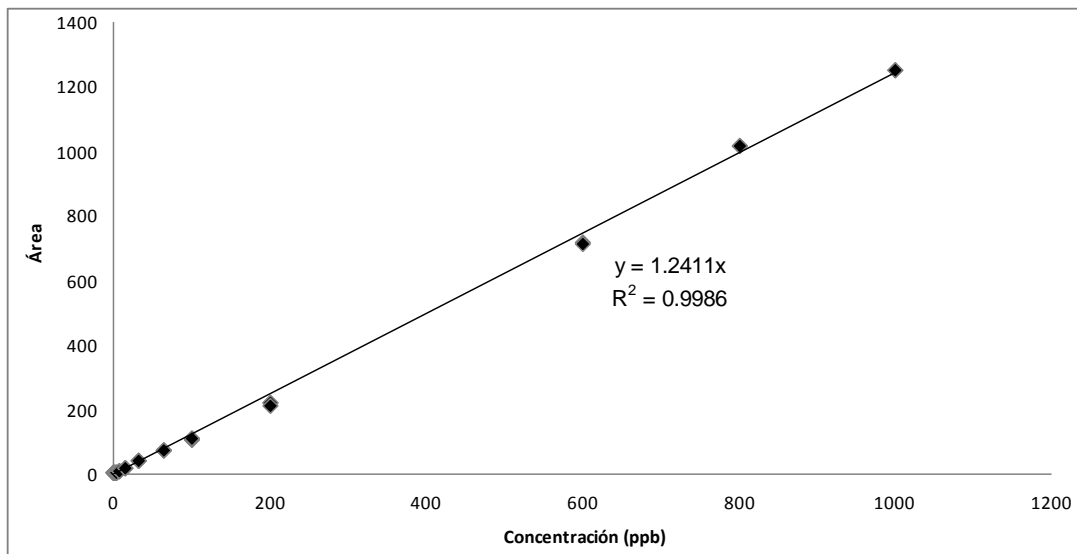


Figura 16. Curva de calibración AFG₂.

V.1.3. Porcentaje de recuperación.

Se llevó a cabo el porcentaje de recuperación (**Tabla 9**). Los rangos estuvieron en un porcentaje entre 67.25% (AFG₂) y 97.77 (AFG₂) para chile guajillo chile piquín respectivamente. Para las muestras extranjeras (chile de la India, Turquía y Sudáfrica se hizo un promedio de cada AF para los 3 chiles (chile ancho, guajillo y piquín)

Tabla 9. Porcentaje de recuperación de AF para cada chile.

Muestra	Porcentaje de recuperación			
	AFB ₁	AFB ₂	AFG ₁	AFG ₂
Piquín	84.44	71.46	97.77	92.82
Ancho	80.82	73.67	93.14	76.88
Guajillo	82.88	77.98	97.66	73.88
Extranjeras	82.71	74.37	96.19	81.2

V.1.4. Límites de detección (LOD) y de cuantificación (LOQ)

El límite de detección proporciona información sobre la mínima cantidad que el HPLC puede detectar, donde tuvo una mayor detección para la AFG₁ y AFB₂ seguida de AFB₁ y AFG₂. El límite de cuantificación da la cantidad mínima que se puede cuantificar con el HPLC de manera confiable y reproducible en la matriz. Cuando una prueba devuelve un nivel por debajo del límite de detección, se informa que es "menor al límite de detección".

Tabla 10. LOD y LOQ para cada Aflatoxina.

AF	LOD (ng)	LOQ (ng)
AFB ₁	0.1	0.5
AFB ₂	0.01	0.05
AFG ₁	0.01	0.05
AFG ₂	0.5	2.5

V.2. Aflatoxinas en las muestras.

Para calcular la concentración de AF en las muestras de chiles se tomó en cuenta el tiempo de retención de las curvas de calibración, selectividad y porcentaje de recuperación para cada chile, para las muestras extranjeras se escogió el menor y el mayor valor para cada aflatoxina de los tres chiles (ancho, guajillo y piquín) así como de la curva de calibración que se presenta en la **Tabla 11**.

Tabla 11. Rango de Tiempos de Retención de cada AF obtenido de las pruebas de recuperación, selectividad y de las curvas de calibración.

Tipo de chile	Parámetro	Tiempos de retención (Tr)				Rango de Tr considerado			
		AFB ₁	AFB ₂	AFG ₁	AFG ₂	AFB ₁	AFB ₂	AFG ₁	AFG ₂
	Curva de calibración	7.612-8.158	17.59-18.260	5.642-5.930	11.319-11.568				
Ancho	Selectividad	7.524-7.537	16.374-16.403	5.57-5.593	11.161-11.186	7.504-8.158	15.13-18.260	5.57-5.930	10.327-11.568
	% de Recuperación	7.504-7.549	15.130-15.289	5.790-5.812	10.327-10.386				
Guajillo	Selectividad	7.634-7.954	16.611-17.291	5.655-5.875	11.325-11.783	7.508-8.158	15.119-18.260	5.655-5.930	10.269-11.783
	% de Recuperación	7.508-7.567	15.119-15.218	5.77	10.269-10.319				
Piquín	Selectividad	7.519-7.557	16.362-16.385	5.581-5.598	11.15-11.18	7.519-8.158	15.173-18.260	5.598-5.930	10.368-11.568
	% de Recuperación	7.598-7.706	15.173-15.347	5.832-5.862	10.368-10.461				
Sudáfrica Turquía India						7.504-8.158	15.119-18.260	5.57-5.930	10.269-11.783

Las concentraciones obtenidas de las muestras de chiles de origen mexicano (ancho, guajillo y piquín) se encuentran en la **Tabla 12**, mientras que la de los chiles de origen extranjero (India, Turquía y Sudáfrica) se presenta en la **Tabla 13**.

Tabla 12. Cuantificación de AF ($\mu\text{g kg}^{-1}$) en chiles (ancho, guajillo y piquín).

Muestra	Concentración de Aflatoxinas ($\mu\text{g kg}^{-1}$) en chiles.														
	Ancho					Guajillo					Piquín				
	AFB ₁	AFB ₂	AFG ₁	AFG ₂	AFt	AFB ₁	AFB ₂	AFG ₁	AFG ₂	AFt	AFB ₁	AFB ₂	AFG ₁	AFG ₂	AFt
Álvaro Obregón	<LOD	0.2	0.08	<LOD	0.31	0.11	0.01	0.52	<LOD	0.64	0.15	0.08	0.93	<LOD	1.16
	<LOD	0.5	0.12	0.73	1.35	<LOD	0.02	0.14	<LOD	0.16	0.13	0.16	2.73	<LOD	3.01
	<LOD	0.3	0.11	<LOD	0.38	<LOD	0.04	0.17	<LOD	0.21	<LOD	0.24	2.32	<LOD	2.56
Azcapotzalco	<LOD	0.02	0.09	<LOD	0.11	0.34	0.06	0.12	<LOD	0.52	0.21	<LOD	0.23	<LOD	0.44
	<LOD	0.1	0.09	<LOD	0.14	0.39	0.11	0.15	<LOD	0.65	0.17	<LOD	0.20	<LOD	0.37
	<LOD	0.2	0.08	<LOD	0.25	0.32	0.03	0.17	<LOD	0.52	0.14	<LOD	0.46	0.52	1.13
Benito Juárez	0.23	0.05	3.31	<LOD	3.59	<LOD	0.02	0.08	<LOD	0.10	<LOD	0.16	0.93	<LOD	1.09
	0.45	0.02	9.21	<LOD	9.68	<LOD	0.02	0.13	<LOD	0.16	0.10	0.79	1.28	<LOD	2.17
	2.49	0.15	2.50	1.71	6.85	<LOD	0.02	0.04	<LOD	0.07	0.67	0.24	1.84	<LOD	2.75
Coyoacán	3.63	0.53	6.85	2.83	13.85	0.58	0.02	1.03	<LOD	1.63	1.55	0.16	0.29	<LOD	2.00
	3.65	0.21	4.09	2.20	10.14	0.43	0.02	0.52	<LOD	0.98	1.84	0.02	0.10	<LOD	1.96
	3.52	0.51	6.98	2.62	13.64	0.26	0.02	0.15	<LOD	0.42	1.44	0.02	0.41	<LOD	1.86
Cuajimalpa	2.72	1.04	8.29	3.04	15.09	0.11	0.04	0.05	<LOD	0.19	0.33	0.39	3.49	2.26	6.47
	2.77	0.21	8.11	2.52	13.61	<LOD	0.02	0.55	<LOD	0.57	0.33	0.24	3.78	1.01	5.35
	2.89	0.15	8.29	1.99	13.32	<LOD	0.01	0.12	<LOD	0.13	0.38	0.16	3.60	<LOD	4.14
Cuauhtémoc	9.36	0.10	0.01	1.68	11.15	1.28	0.01	0.41	<LOD	1.70	6.82	0.02	0.35	<LOD	7.19
	9.58	0.20	0.43	3.25	13.45	1.33	0.02	0.47	<LOD	1.82	6.82	0.02	0.76	<LOD	7.59
	10.62	0.15	0.02	3.35	14.15	1.04	0.02	0.03	<LOD	1.09	6.70	0.06	0.29	<LOD	7.05
Gustavo A. Madero	2.05	0.11	0.02	<LOD	2.19	<LOD	0.03	1.99	<LOD	2.02	1.38	0.31	2.56	<LOD	4.25
	<LOD	0.04	0.04	<LOD	0.07	0.20	0.01	1.51	<LOD	1.73	1.42	0.25	2.21	<LOD	3.88
	<LOD	0.03	0.05	<LOD	0.08	0.43	0.03	1.42	<LOD	1.87	0.84	0.24	2.03	1.26	4.36
Iztacalco	6.16	<LOD	0.85	0.65	7.67	0.34	0.04	0.87	1.80	3.05	0.88	0.04	1.05	<LOD	1.96
	9.75	0.38	0.04	<LOD	10.17	0.23	0.09	1.51	1.44	3.27	0.88	<LOD	0.81	<LOD	1.69
	<LOD	0.04	0.06	<LOD	0.10	0.21	0.15	0.58	<LOD	0.95	0.63	0.02	0.70	<LOD	1.34
Iztapalapa	<LOD	0.05	0.09	1.41	1.56	1.83	0.07	0.29	<LOD	2.20	0.46	<LOD	3.26	<LOD	3.72
	<LOD	0.08	0.10	<LOD	0.19	1.66	0.03	0.16	<LOD	1.85	0.36	0.03	4.53	<LOD	4.93
	<LOD	0.05	0.07	1.10	1.21	0.99	0.06	0.22	0.77	2.03	0.21	0.03	4.18	<LOD	4.42
Magdalena Contreras	<LOD	0.04	0.10	<LOD	0.14	<LOD	0.04	0.13	<LOD	0.18	<LOD	0.02	0.08	<LOD	0.10
	<LOD	0.04	0.07	<LOD	0.11	0.10	0.07	0.17	<LOD	0.35	<LOD	0.02	0.12	<LOD	0.14
	<LOD	0.02	0.09	<LOD	0.11	<LOD	0.10	0.19	<LOD	0.29	<LOD	0.02	0.12	<LOD	0.13
Miguel Hidalgo	<LOD	0.05	0.04	<LOD	0.09	0.36	0.42	0.24	<LOD	1.01	0.88	0.02	0.12	<LOD	1.02
	<LOD	0.04	0.05	<LOD	0.08	0.26	0.49	0.16	<LOD	0.90	0.96	0.02	0.15	<LOD	1.13
	<LOD	0.03	0.04	<LOD	0.07	<LOD	0.27	0.16	<LOD	0.43	0.96	0.03	0.10	<LOD	1.09
Milpa Alta	<LOD	0.08	0.09	<LOD	0.17	<LOD	0.03	0.16	<LOD	0.19	3.68	0.18	4.88	<LOD	8.74
	<LOD	0.10	0.21	<LOD	0.31	<LOD	0.07	0.19	<LOD	0.26	3.39	0.14	1.86	<LOD	5.39
	<LOD	0.02	0.12	<LOD	0.14	<LOD	0.06	0.15	<LOD	0.21	3.15	0.05	2.32	0.92	6.44
Tláhuac	<LOD	0.03	0.11	<LOD	0.14	<LOD	0.03	0.12	0.60	0.75	3.31	0.04	5.23	1.86	10.43
	<LOD	0.05	0.09	<LOD	0.14	<LOD	0.10	0.13	<LOD	0.23	3.31	0.02	4.88	0.91	9.11
	<LOD	0.02	0.06	<LOD	0.08	<LOD	0.06	0.06	<LOD	0.13	3.61	0.04	4.51	0.81	8.97
Tlalpan	<LOD	0.08	0.07	<LOD	0.15	<LOD	0.07	0.39	<LOD	0.46	0.33	0.05	0.46	<LOD	0.85
	<LOD	0.11	0.07	<LOD	0.18	<LOD	0.14	0.42	<LOD	0.57	0.26	0.01	0.05	<LOD	0.32
	<LOD	0.19	0.05	<LOD	0.24	0.10	0.12	0.35	0.50	1.07	0.21	0.01	0.04	<LOD	0.26
Venustiano Carranza	<LOD	0.15	0.09	<LOD	0.24	<LOD	0.09	0.41	<LOD	0.49	0.23	0.03	0.12	0.66	1.04
	<LOD	0.14	0.09	<LOD	0.23	<LOD	0.12	0.38	0.62	1.13	0.42	0.03	0.13	<LOD	0.58
	<LOD	0.06	0.09	<LOD	0.15	<LOD	0.01	0.21	0.54	0.76	0.25	0.02	0.23	0.67	1.18
Xochimilco	<LOD	0.17	0.07	<LOD	0.23	0.14	0.18	0.66	0.53	1.51	<LOD	0.02	0.64	<LOD	0.65
	<LOD	0.20	0.05	<LOD	0.25	0.13	0.30	0.70	<LOD	1.12	0.42	0.02	1.86	<LOD	2.30
	<LOD	0.13	0.05	<LOD	0.18	<LOD	0.14	0.39	0.84	1.37	0.19	0.04	1.98	<LOD	2.20
Promedio	4.7	0.2	1.3	2.1	3.5	0.5	0.1	0.4	1	1.0	1.4	0.1	1.6	1.1	3.1

Tabla 13. Cuantificación de AF en muestras extranjeras de chiles .

Muestra	Concentración AF ($\mu\text{g kg}^{-1}$) corregida				
	AFB ₁	AFB ₂	AFG ₁	AFG ₂	AFt
India a	<LOD	0.11	0.12	<LOD	0.23
	0.43	0.23	0.10	<LOD	0.75
	0.51	0.14	0.11	<LOD	0.76
India b	0.70	0.11	0.43	<LOD	1.25
	0.70	0.15	0.28	<LOD	1.13
	0.44	0.11	0.35	<LOD	0.90
India c	0.10	0.05	0.12	<LOD	0.28
	<LOD	0.08	0.18	<LOD	0.25
	0.16	0.07	0.12	<LOD	0.34
Promedio de India	0.4	0.1	0.2	0	0.7
Turquía a	1.11	0.09	1.77	<LOD	2.97
	0.68	0.08	1.44	0.51	2.72
	0.25	0.10	1.65	<LOD	2.00
Turquía b	1.20	0.11	1.24	0.82	3.37
	1.16	0.03	0.34	<LOD	1.53
	1.28	0.06	0.41	0.69	2.45
Turquía c	<LOD	0.06	0.67	0.61	1.35
	<LOD	0.06	0.68	1.53	2.28
	<LOD	0.05	0.71	1.50	2.25
Promedio de Turquía	1	0.1	1	1	2.3
Sudáfrica	0.65	0.38	0.65	0.51	2.18
	0.65	0.23	0.28	<LOD	1.15
	0.43	0.10	0.30	<LOD	0.82
Promedio de Sudáfrica	0.7	0.1	0.6	0.9	1.5
Promedio de muestras extranjeras	0.7	0.1	0.6	0.9	1.5

Los 3 chiles de origen mexicano estuvieron contaminados con las 4 tipos de AF, en concentraciones trazas. La AFB₁ es el compuesto genotóxico y cancerígeno más potente, comúnmente en productos agrícolas (Sweeney & Dobson, 1998)

El porcentaje de contaminación para AFB₁, es de 44% para chile ancho, 30 % para el chile guajillo, 40 % en chile piquín, 24 % para las muestras extranjeras.

Para la AFB₁ en muestras de origen nacional las concentraciones más altas y sus Delegaciones fueron: para chile ancho Cuauhtémoc ($9.85 \mu\text{g kg}^{-1}$), para chile guajillo Iztapalapa ($1.5 \mu\text{g kg}^{-1}$), y para chile piquín Cuauhtémoc ($6.78 \mu\text{g kg}^{-1}$), **Figura 17.**

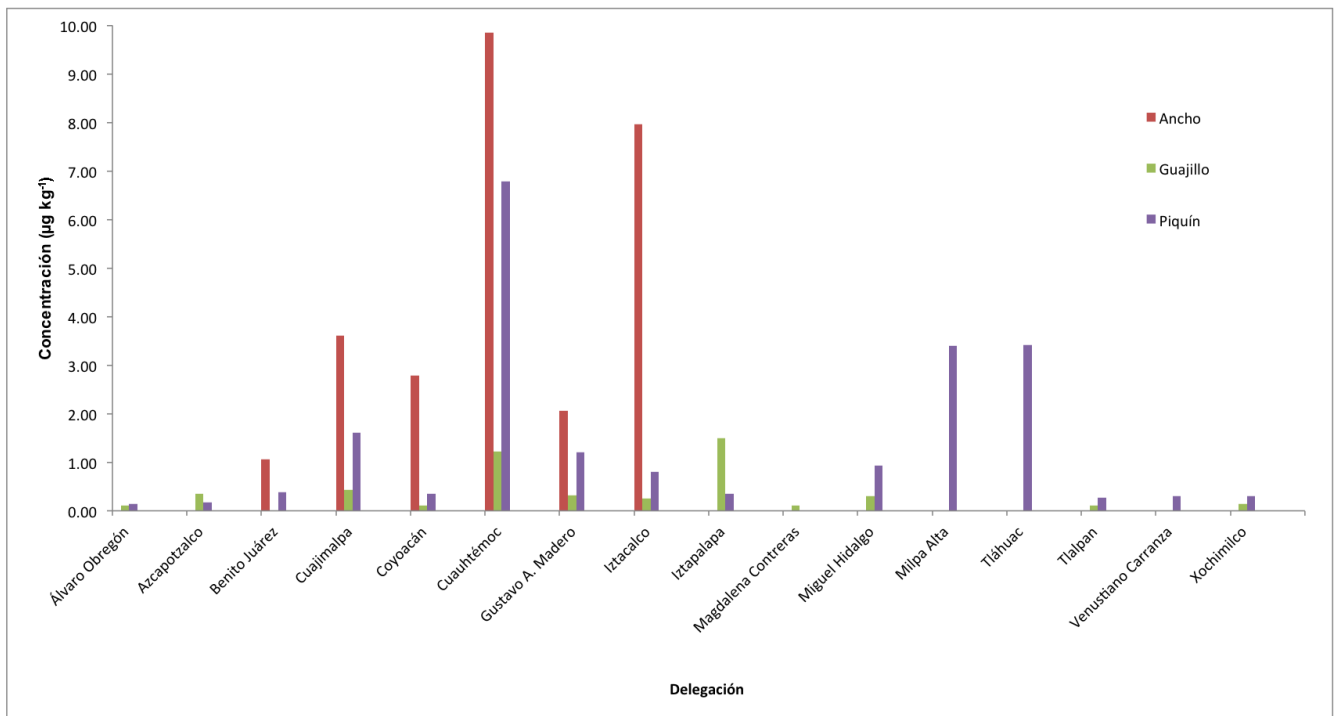


Figura 17. Concentración de AFB₁ (µg kg⁻¹) de cada chile por Delegación.

La muestra de origen extranjero más contaminada con AFB₁ fue la Turquía b (1.21 µg kg⁻¹), la Turquía c (<0.1 µg kg⁻¹) tuvo cantidades traza, **Figura 18.**

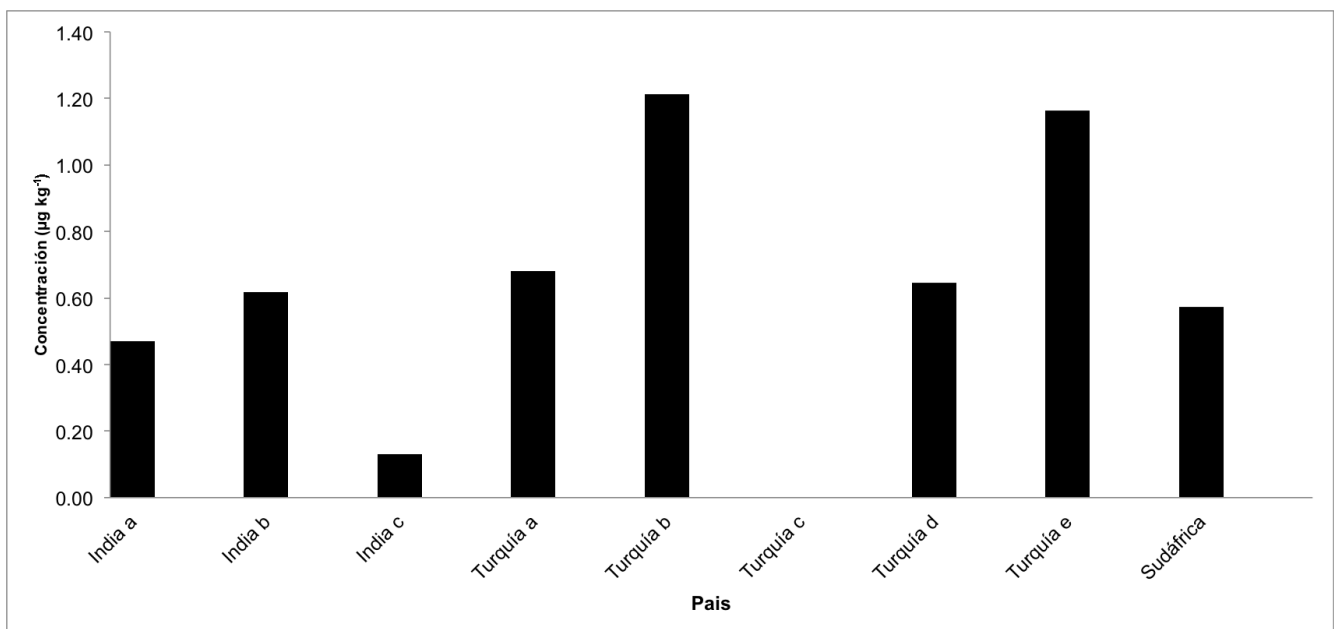


Figura 18. Concentración de AFB₁ (µg kg⁻¹) en chile extranjero por país.

Para la AFB₂ en muestras de origen nacional las concentraciones más altas y sus Delegaciones fueron: en chile ancho (0.42 µg kg⁻¹) en Coyoacán, en chile guajillo (0.39 µg kg⁻¹) en la Miguel Hidalgo y en chile piquín (0.39 µg kg⁻¹) en la Benito Juárez, **Figura 19.**

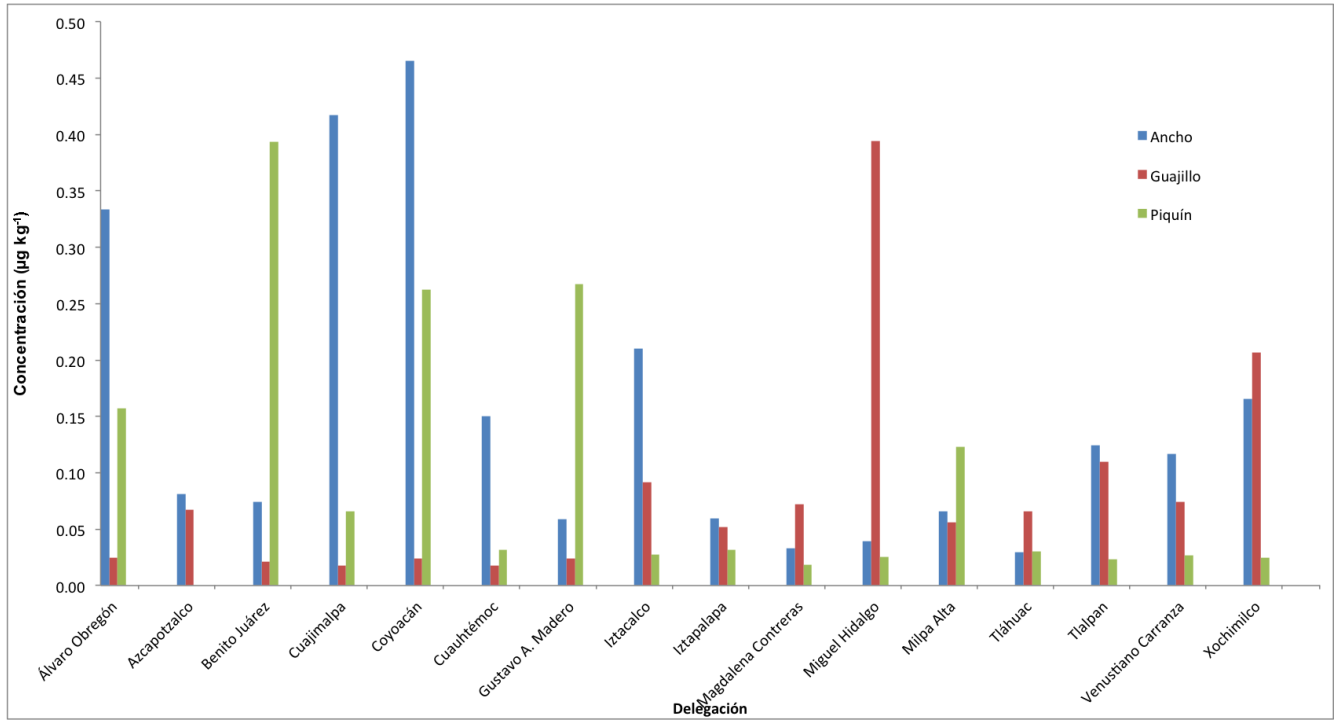


Figura 19. Concentración de AFB₂ (µg kg⁻¹) de cada chile por Delegación.

La muestra de origen extranjero más contaminada con AFB₂ fue Turquía d (2.32 µg kg⁻¹) **Figura 20.**

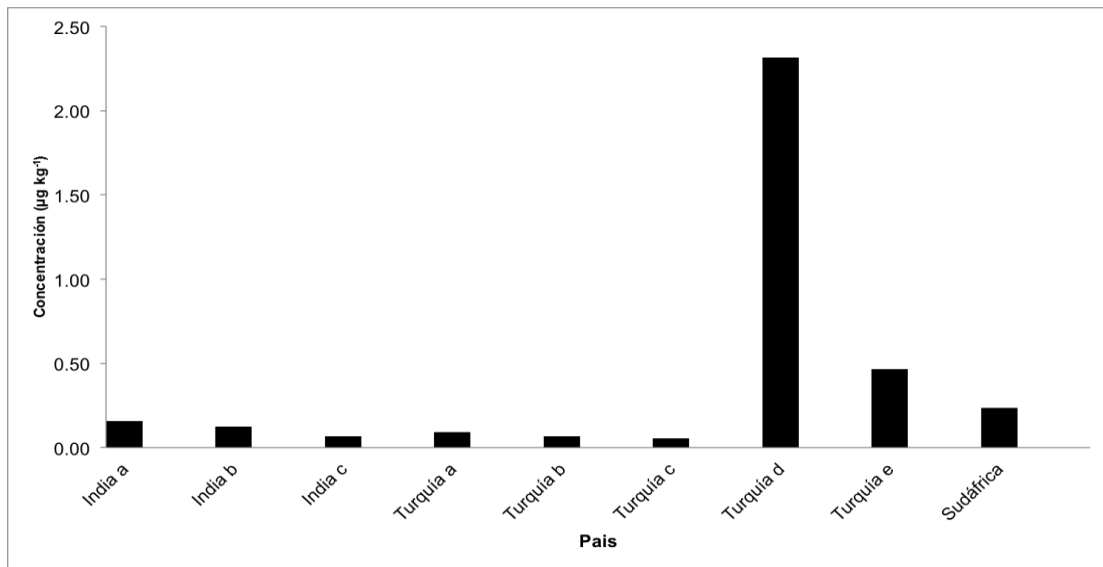


Figura 20. Concentración de AFB₂ (µg kg⁻¹) en chile extranjero por país.

Para la AFG₁ en muestras de origen nacional las concentraciones más altas y sus Delegaciones fueron: en ancho (5.97 $\mu\text{g kg}^{-1}$) en Coyoacán, en chile guajillo (1.64 $\mu\text{g kg}^{-1}$) en la Gustavo A. Madero y en piquín (4.87 $\mu\text{g kg}^{-1}$) en Tláhuac **Figura 21**.

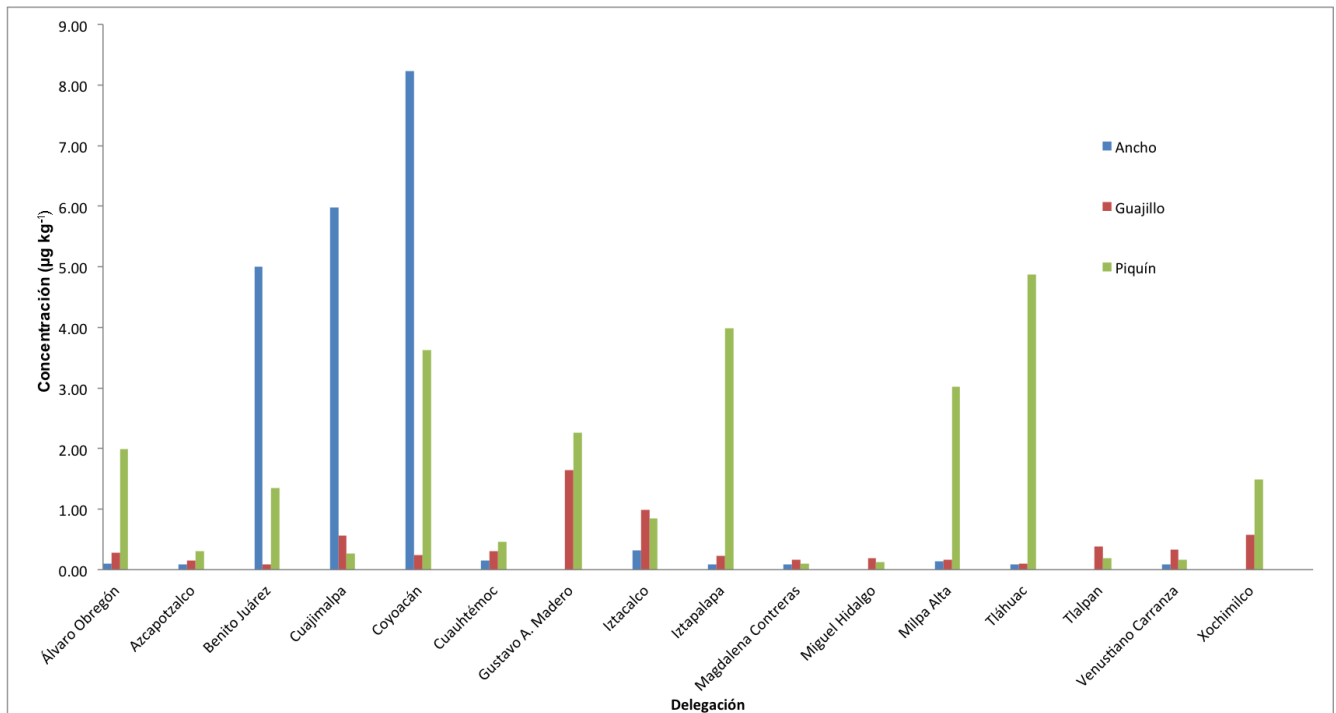


Figura 21. Concentración de AFG₁ ($\mu\text{g kg}^{-1}$) de cada chile por Delegación.

La muestra de origen extranjero más contaminada con AFG₁ fue Turquía d (3.00 $\mu\text{g kg}^{-1}$). **Figura 22**.

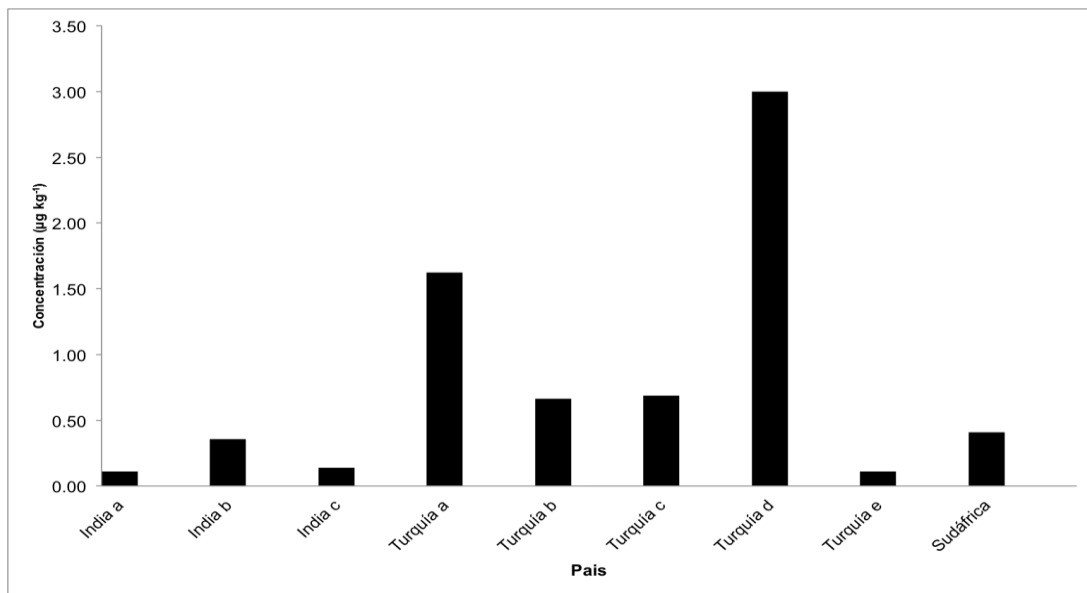


Figura 22. Concentración de AFG₁ ($\mu\text{g kg}^{-1}$) de chiles extranjeros por país.

Para la AFG₂ en muestras de origen nacional las concentraciones más altas y sus Delegaciones fueron: en ancho (2.76 µg kg⁻¹) en Cuauhtémoc, en chile guajillo es Iztacalco (1.62 µg kg⁻¹) y en piquín (1.26 µg kg⁻¹) en la Gustavo A. Madero. Hay que notar que la AFG₂ fue la que se encontró con mayores concentraciones traza, comparando con las otras tres AF (AFB₁, AFB₂ y AFG₁), **Figura 23.**

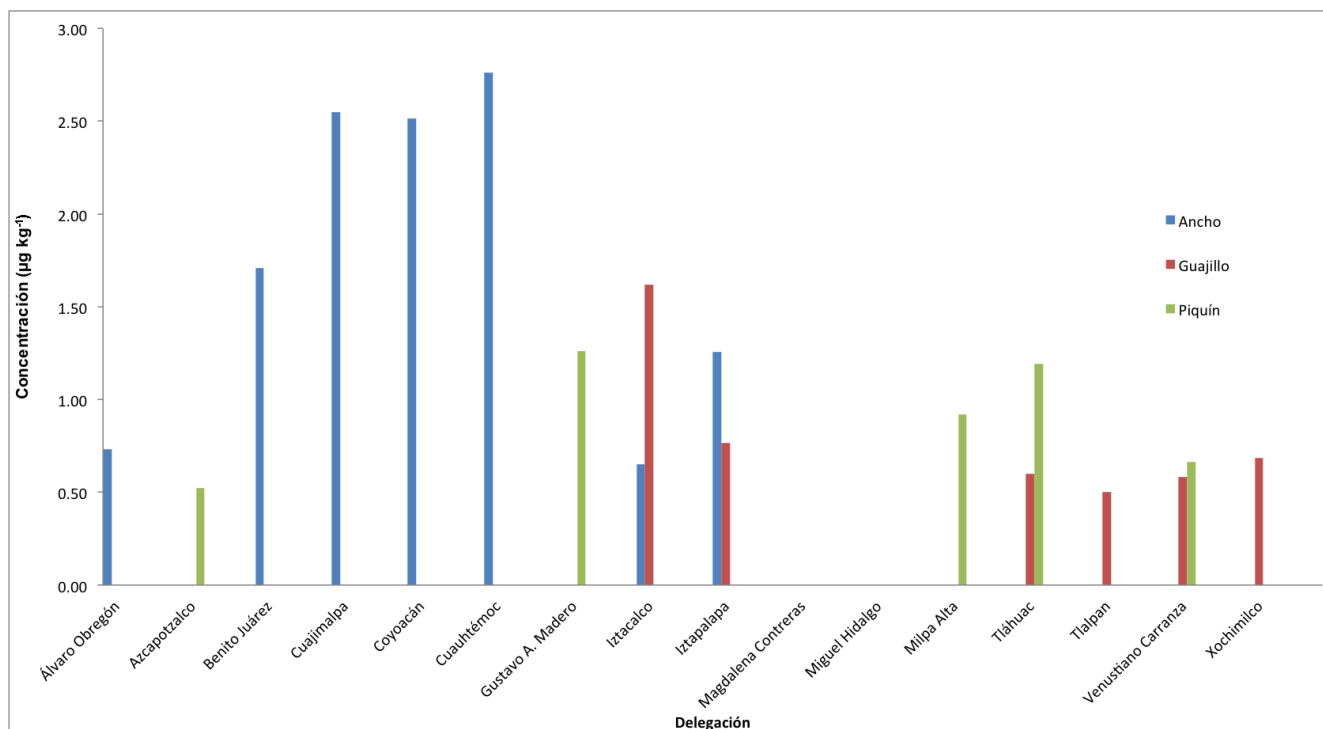


Figura 23. Concentración de AFG₂ (µg kg⁻¹) de cada chile por Delegación.

La muestra de origen extranjero más contaminada con AFG₁ fue Turquía e (2.42 µg kg⁻¹). Las mayores concentraciones trazas de AFG₂ se detectaron en los chiles de la India y los de origen nacional, **Figura 24.**

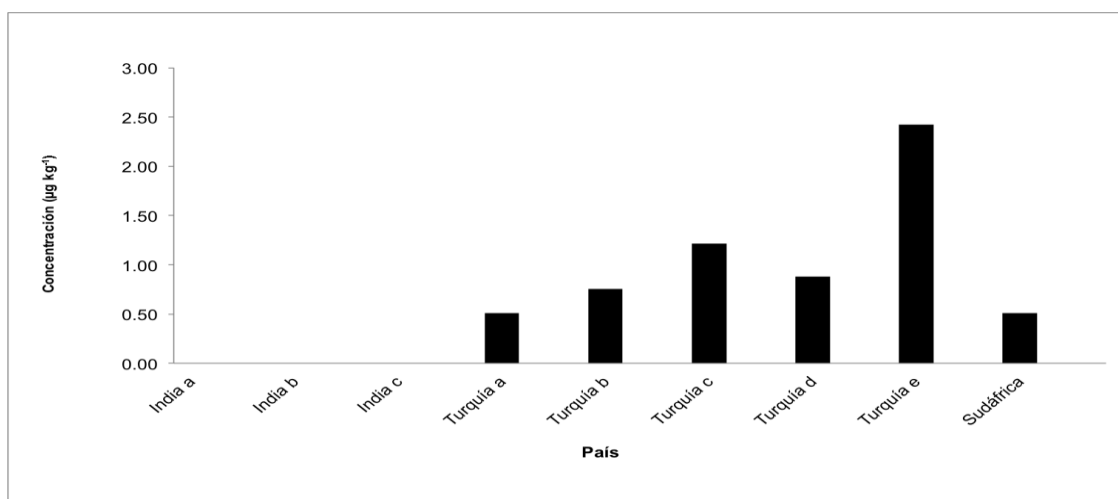


Figura 24. Concentración de AFG₂ (µg kg⁻¹) en chile extranjero por país.

La concentraciones de AFt más altas en chiles mexicanos y sus Delegaciones son: ancho ($14 \mu\text{g kg}^{-1}$) en Coyoacán, chile guajillo ($2.96 \mu\text{g kg}^{-1}$) en Iztacalco y chile piquín ($9.5 \mu\text{g kg}^{-1}$) en Tláhuac, **Figura 25**.

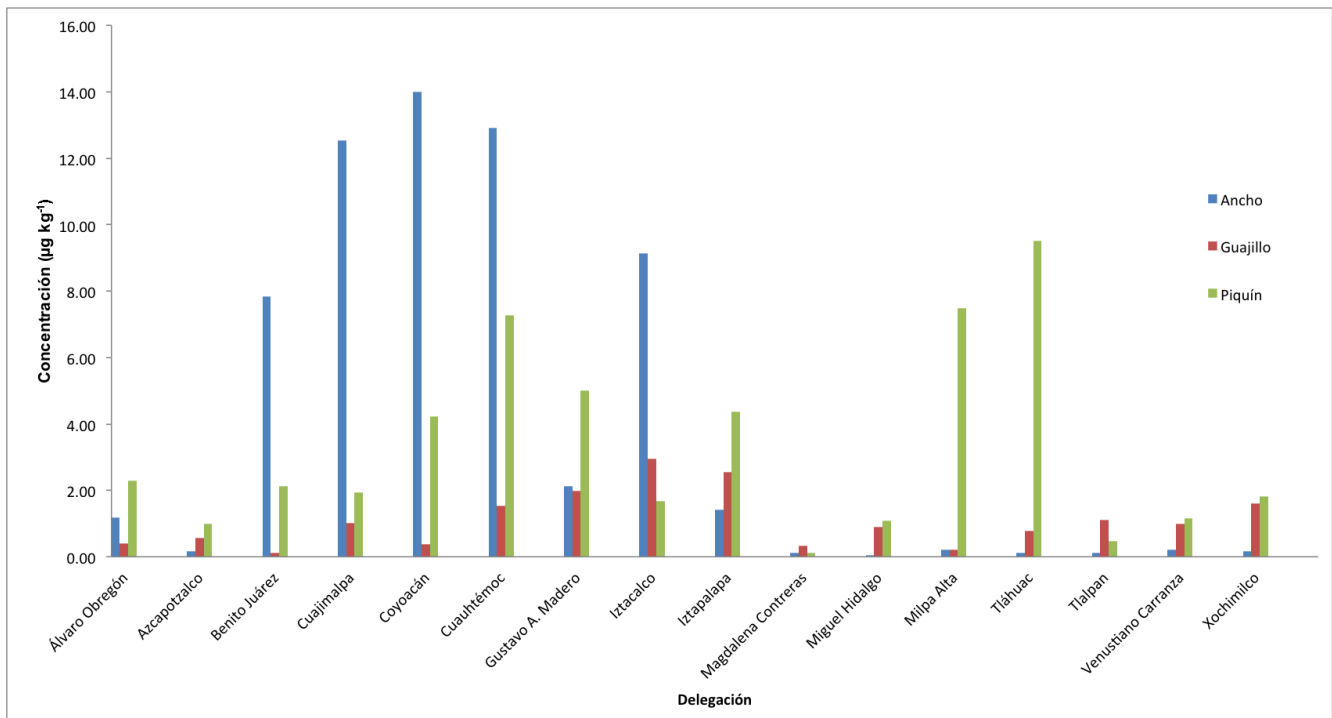


Figura 25. Concentración ($\mu\text{g kg}^{-1}$) de AF totales para cada Delegación de cada chile.

La muestra de origen extranjero más contaminada con AFt ($6.84 \mu\text{g kg}^{-1}$) fue la Turquía d resultó la **Figura 26**.

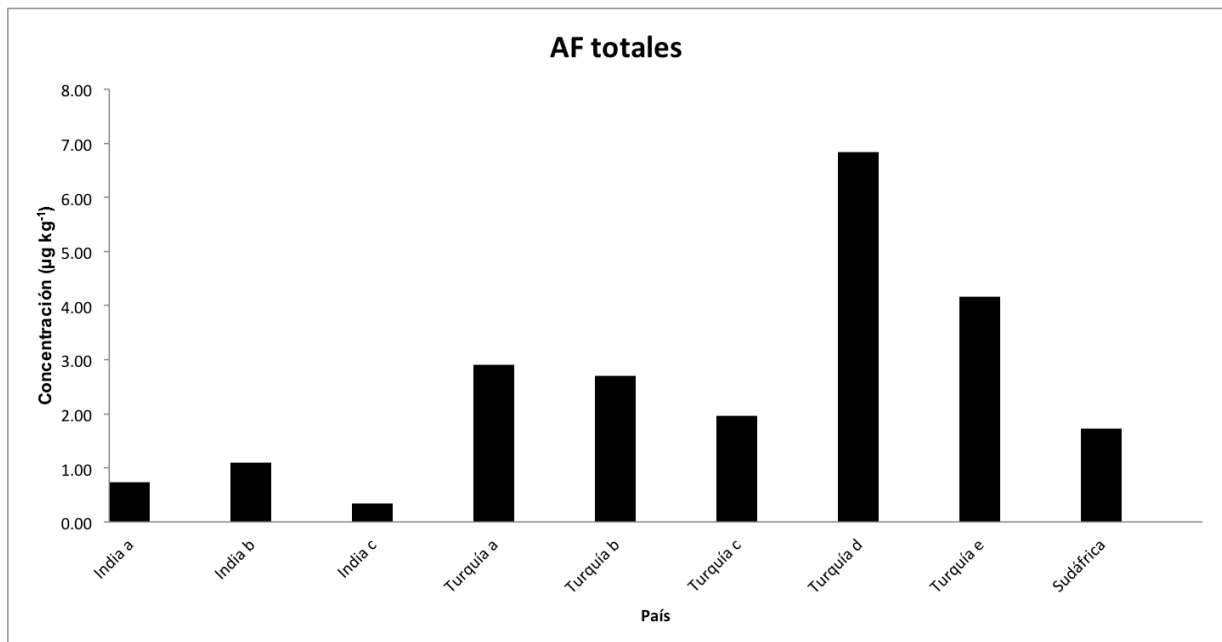


Figura 26. Concentración de Aflatoxinas totales ($\mu\text{g kg}^{-1}$) por origen.

El clima influye tanto en la cantidad de hongos aflatoxicogénicos como en la producción de AF (Cotty & Jaime-García, 2007).. La producción de AFs se da en regiones tropicales, cálidas (mínimo 25 °C), húmedas, áridas y semiáridas. Los hongos productores de AF son comunes en el aire, suelo y cultivos y compiten mal en climas fríos (mínimo 20 °C) y la cantidad de *A. flavus* en estas áreas es baja (Shearer *et al.*, 1992)

Hay numerosos reportes de diferentes países acerca de la contaminación de especias por AF, principalmente en Chile en polvo. Martin *et al.* (2001) estudiaron 12 especias preenvasadas comercializadas en Portugal, y se encontró que el 43% de las muestras, como el Chile en polvo, estaban contaminadas con AFB₁ en el rango de (1.9-2.5 µg kg⁻¹), que son similares a las cantidades encontrados en el presente estudio.

En las muestras analizadas de la India en el presente estudio sólo hubo trazas de 0.13-0.62 µg kg⁻¹, en un estudio Reddy *et al.* (2001) encontraron que 59% de las muestras de 182 chiles recolectados en la India se encontraron contaminadas con AFB₁ en un rango de 2-283 µg kg⁻¹ Esto indica que el Chile indio de mejor calidad se exporta a otros países y el más contaminado se queda en la India.

Tanto los chiles de origen mexicano como del extranjero se contaminaron con las 4 AF. Un alto nivel de consumo de Chile se encontró asociado con un mayor riesgo de cáncer de vesícula en mujeres chilenas (Serra *et al.*, 2002).

En los chiles mexicanos hubo un 44% de frecuencia de AFt B y 56% de AFt G y en chiles extranjeros un 40 % de AFt B y 60% de AFt G, **Figura 27.**

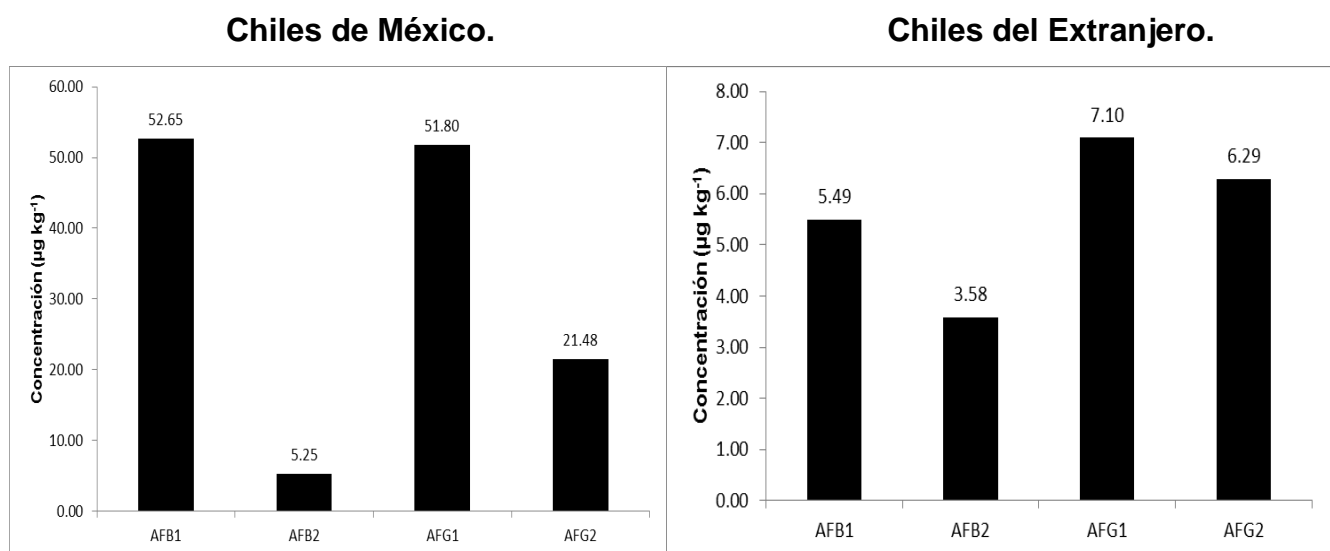


Figura 27. Promedio de aflatoxinas totales de chiles de México (AFt = 2.5 µg kg⁻¹) y del extranjero (AFt = 1.5 µg kg⁻¹).

A. flavus, de *A. parasiticus*, *A. bombycis*, *A. ochraceoroseus*, *A. nomius* y *A. pseudotamarii* son especies productoras de AF, pero no se encuentran frecuentemente (Goto *et al.*, 1996; Klich *et al.*, 2000; Peterson *et al.*, 2001). Desde la perspectiva micológica, hay grandes diferencias en las capacidades toxicogénicas de las diferentes cepas. Por ejemplo, sólo alrededor de la mitad de las cepas de *A. flavus* produce AF (Klich & Pitt, 1988), y producen alrededor de $106 \mu\text{g kg}^{-1}$. El proceso de limpieza inadecuado para el chile recién cosechado y una técnica inapropiada de secado incrementa el riesgo de una contaminación fúngica y como consecuencia la producción de AF (Duman, 2010). Por esta razón se deben lavar los frutos recién cosechados y los frutos heridos o enfermos deben ser desechados (Almela *et al.*, 2007).

La capsaicina es el mayor componente de la pungencia de chiles (*Capsicum spp.*) y Teel (1991) reportó que decrece la fijación que hay de la AFB₁ al ADN de timo de ternera para formar aductos. Con $25 \mu\text{M}$ de capsaicina hubo un decremento de 19% de aductos, con $50 \mu\text{M}$ de capsaicina decrece la formación de aductos (AFB₁-N⁷-Gua) en un 44-53% y $100 \mu\text{M}$ los inhibe un 71-75% al cuantificarlos por HPLC, cuando se incubaba con concentrado microsomal S9 de hígado de rata para activar el metabolismo animal. Esto indicaría que el chile ha desarrollado defensas contra la AFB₁ a través de la formación de capsaicina, de modo que los chiles más picantes, que tienen más capsaicina, son los que decrecen la formación de aductos (AFB₁-N⁷-Gua) que son los cancerígenos activos en animales y el hombre; y los chiles que no pican son más peligrosos pues tienen menos capsaicina y favorecen o no protegen de la formación de estos aductos. El análisis de HPLC de las fracciones órgano-solubles mostró que la capsaicina bajó el metabolismo de la AFB₁, dependiente del concentrado microsomal S9, altera la formación de conjugados de AFB₁ solubles en agua. Este fenómeno se manifestó por un decrecimiento en la actividad de las fracciones órgano-solubles y en los conjugados de glutatión-AFB₁ analizados por HPLC. Estos resultados sugieren que la capsaicina inhibe la biotransformación de la AFB₁ al modificar la Fase I de la actividad enzimática hepática.

Simultáneamente pueden estar presentes diferentes micotoxinas en los chiles y un consumo combinado de ellas, conduce a un mayor riesgo de efectos adversos a la salud respecto a la ingesta de un sólo tipo de micotoxina (Speijers & Speijers, 2004).

Debido a su frecuente aparición y a su toxicidad, las agencias reguladoras están imponiendo normas rigurosas sobre el nivel de aceptación e importación. En la Unión

Europea (UE) el nivel aceptable de AFs en especias se ha fijado en $5 \mu\text{g kg}^{-1}$ para AFB_1 y $10 \mu\text{g kg}^{-1}$ para AFt ($\text{B}_1+\text{B}_2+\text{G}_1+\text{G}_2$) (Commission Regulation, 2010). Si tomamos en cuenta el límite máximo de AFt de la UE, el chile ancho de la Delegación Coyoacán estaría por encima de este límite con $14 \mu\text{g kg}^{-1}$, mientras que el chile piquín de la Delegación Tláhuac estaría por llegar a este límite, donde su concentración fue de $9.5 \mu\text{g kg}^{-1}$.

Las muestras de origen extranjero no sobrepasaron este límite, ya que la muestra más contaminada fue Turquía d tuvo $6.84 \mu\text{g kg}^{-1}$. En México no hay una NOM para especias, está la Norma Oficial Mexicana NOM-188-SSA1-200 donde las especificaciones sanitarias, establecen un límite de $20 \mu\text{g kg}^{-1}$ de AFt en cereales, y ningún tipo de chile sobrepasa este límite. Al considerar la cantidad de AFt encontrada con el peso de los chiles que se consumen ya estos límites se sobrepasarían.

V.3. Análisis estadístico.

Se aplicó la prueba de Kruskal-Wallis y los resultados se muestran en las **Tablas 15 y 16**, se utilizó el programa estadístico R. Para las muestras de chile ancho y piquín se hallaron diferencias significativas en las Delegaciones para el contenido de AFB₁, AFB₂, AFG₁ y AFG₂. En chile guajillo, la AFG₂ no tuvo diferencia significativa (**Tabla 15**).

Tabla 14. Prueba de Kruskal-Wallis para los diferentes tipos de chiles.

Tipo de chile	AF	Valor de la prueba	Significancia	¿Existe diferencia significativa?
Ancho	AFB ₁	40.95	< 0.05	Si
	AFB ₂	31.26	< 0.05	Si
	AFG ₁	35.25	< 0.05	Si
	AFG ₂	38.27	< 0.05	Si
	AFT	37.08	< 0.05	Si
Guajillo	AFB ₁	38.09	< 0.05	Si
	AFB ₂	35.16	< 0.05	Si
	AFG ₁	31.97	< 0.05	Si
	AFG ₂	21.96	0.11	No
	AFT	38.93	< 0.05	Si
Piquín	AFB ₁	42.83	< 0.05	Si
	AFB ₂	35.55	<0.05	Si
	AFG ₁	42.99	<0.05	Si
	AFG ₂	27.55	<0.05	Si
	AFT	43.61	<0.05	Si

En la **Tabla 16** se observa que hay diferencia significativa para las 4 AF y AFT, tomando en cuenta los 3 tipos de chiles analizados (ancho, guajillo y piquín).

Para encontrar diferencias significativas entre las muestras se realizó la prueba de Wilcoxon. Para la AFB₁ sólo se utilizaron las muestras de chile ancho y chile piquín, que tenían una mayor concentración promedio de ella.

Tabla 15. Prueba de Kruskal-Wallis por origen.

AF	Valor de la prueba	Significancia	¿Existe diferencia significativa?
AFB ₁	21.89836	< 0.05	Si
AFB ₂	16.20834	< 0.05	Si
AFG ₁	31.83879	< 0.05	Si
AFG ₂	3.831674	0.28	No
AFT	21.13252	< 0.05	Si

En la **Figura 28** está el promedio de AFB₁ en chile piquín.

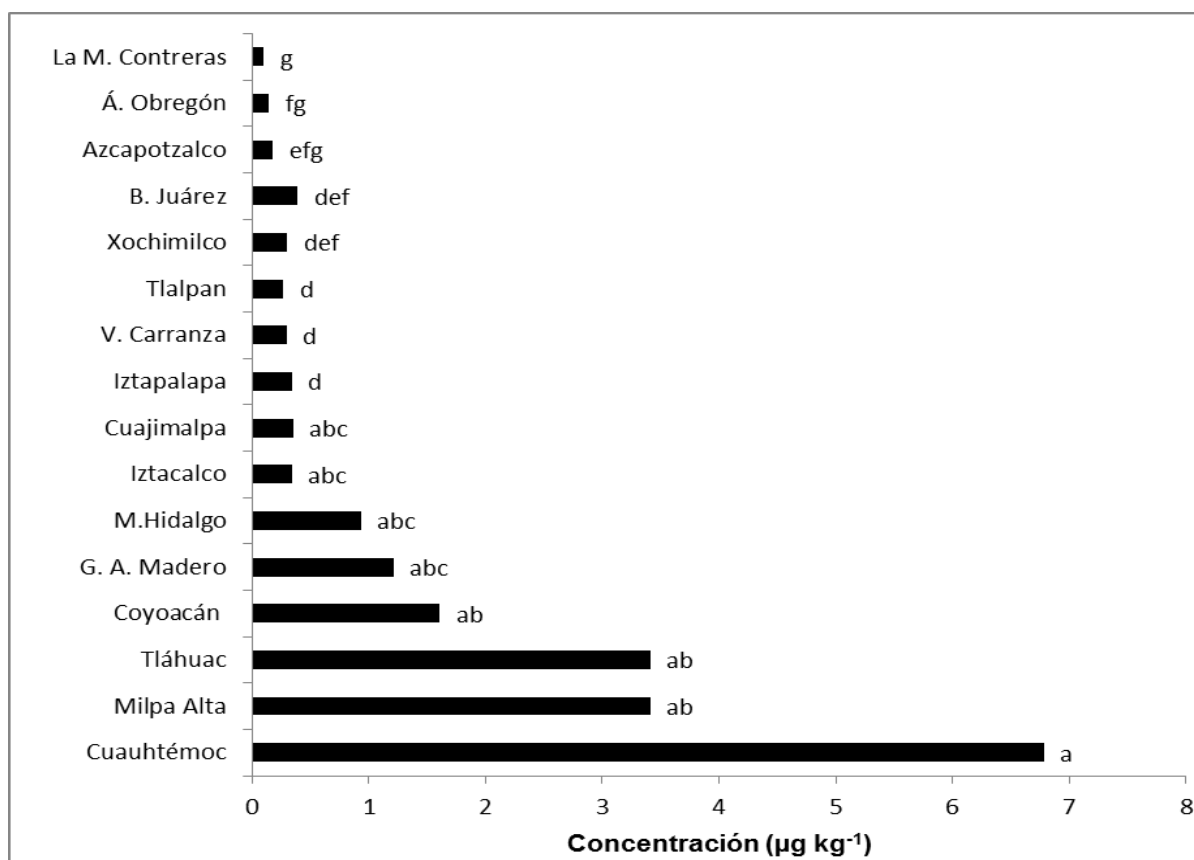


Figura 28. Promedio de AFB₁ (µg kg⁻¹) de chile piquín. Los grupos con letras en común (ab, abc, def, efg, fg) no presentan diferencia significativa, mientras los que tiene letras diferentes (a, d, g) si la tienen.

Las Delegaciones que resultaron significativamente más contaminadas con AFB₁ para el chile ancho son la Cuauhtémoc (9.85 µg kg⁻¹) e Iztacalco (7.96 µg kg⁻¹), seguidas de Coyoacán (3.6 µg kg⁻¹) y Cuajimalpa (2.79 µg kg⁻¹), **Figura 29**.

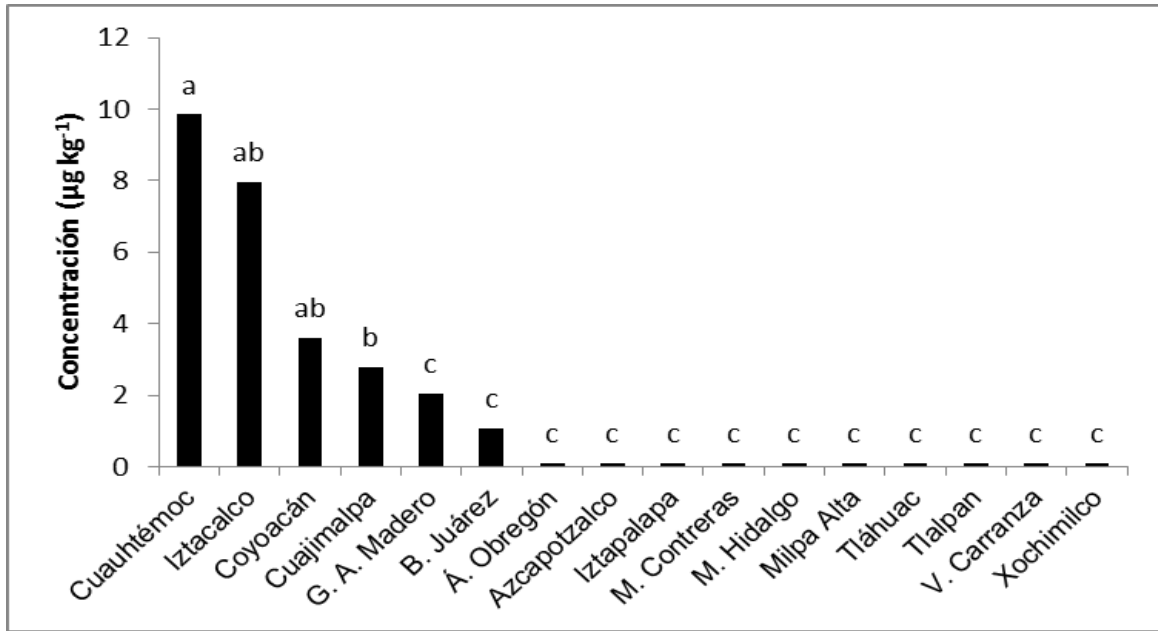


Figura 29. Promedio de AFB₁ (µg kg⁻¹) para chile ancho. Los grupos con letras en común (ab) no presentan diferencia significativa, mientras los que tienen letras diferentes (a, b ó c) sí la tienen.

Las Delegaciones que resultaron significativamente más contaminadas con AFB₁ para el chile guajillo son Iztapalapa (1.5 µg kg⁻¹) y Cuauhtémoc (1.22 µg kg⁻¹) **Figura 30.**

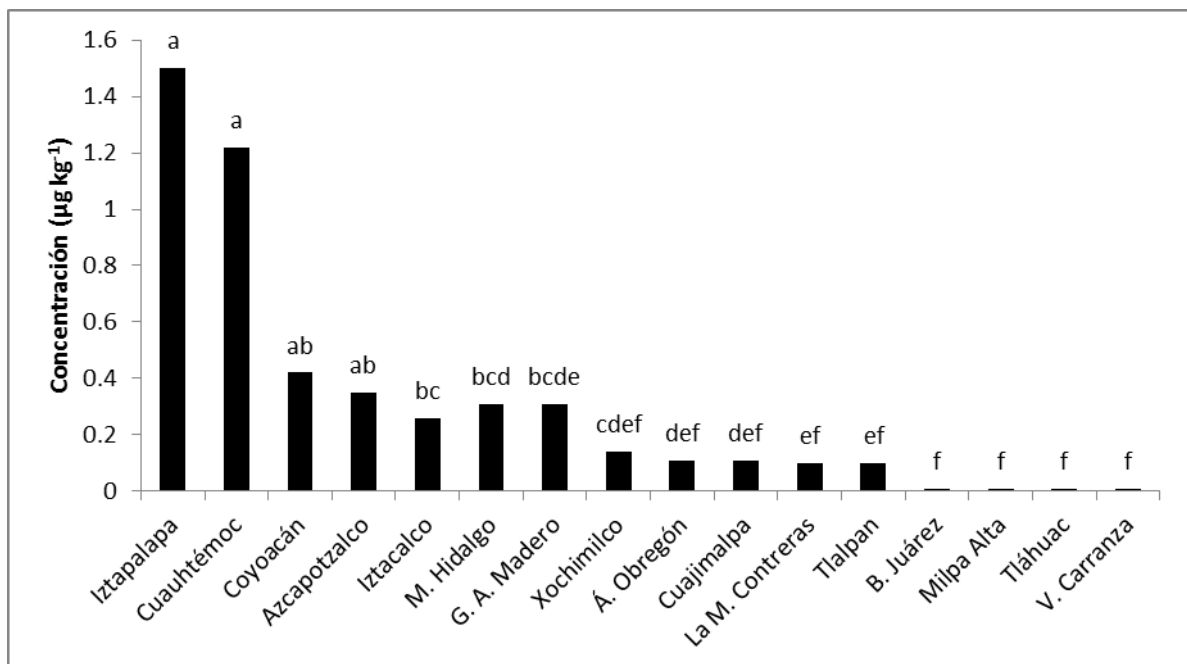


Figura 30. Promedio de AFB₁ (µg kg⁻¹) para chile guajillo. Los grupos con letras en común (ab, bc, bcd, bcde, chef, def, ef) no presentaron diferencia significativa, mientras los que tiene letras diferentes (a,f) sí la tienen.

En la **Figura 31** se muestran las concentraciones promedio de AF en los chiles estudiados. Con respecto a la AFB₁ la muestra más contaminada es el chile ancho (1.71 $\mu\text{g kg}^{-1}$), chile piquín (1.28 $\mu\text{g kg}^{-1}$), extranjero (0.61 $\mu\text{g kg}^{-1}$) y chile guajillo (0.31 $\mu\text{g kg}^{-1}$). Las muestras más contaminadas de los chiles ancho y piquín muestran una diferencia estadística significativa.

Para la AFB₂, la muestra más contaminada es el chile extranjero (0.4 $\mu\text{g kg}^{-1}$), chile ancho (0.15 $\mu\text{g kg}^{-1}$), chile guajillo (0.08 $\mu\text{g kg}^{-1}$) y chile piquín (0.09 $\mu\text{g kg}^{-1}$). Las muestras más contaminadas (chile ancho y extranjeras) no tienen diferencia significativa.

La muestra más contaminada con la AFG₁ es chile piquín (1.57 $\mu\text{g kg}^{-1}$) que tuvo diferencia significativa con el chile guajillo (0.4 $\mu\text{g kg}^{-1}$), el chile del extranjero (0.79 $\mu\text{g kg}^{-1}$). Las muestras de chiles extranjero, no tuvieron diferencia significativa con los otros 2 tipos mencionados.

Finalmente, para AFt, el chile ancho (3.49 $\mu\text{g kg}^{-1}$) es el más contaminado, siguiendo el chile piquín (3.14 $\mu\text{g kg}^{-1}$), el extranjero (2.50 $\mu\text{g kg}^{-1}$) y el chile guajillo (0.92 $\mu\text{g kg}^{-1}$). Sólo el chile guajillo tuvo diferencia significativa con los otros 3 mencionados.

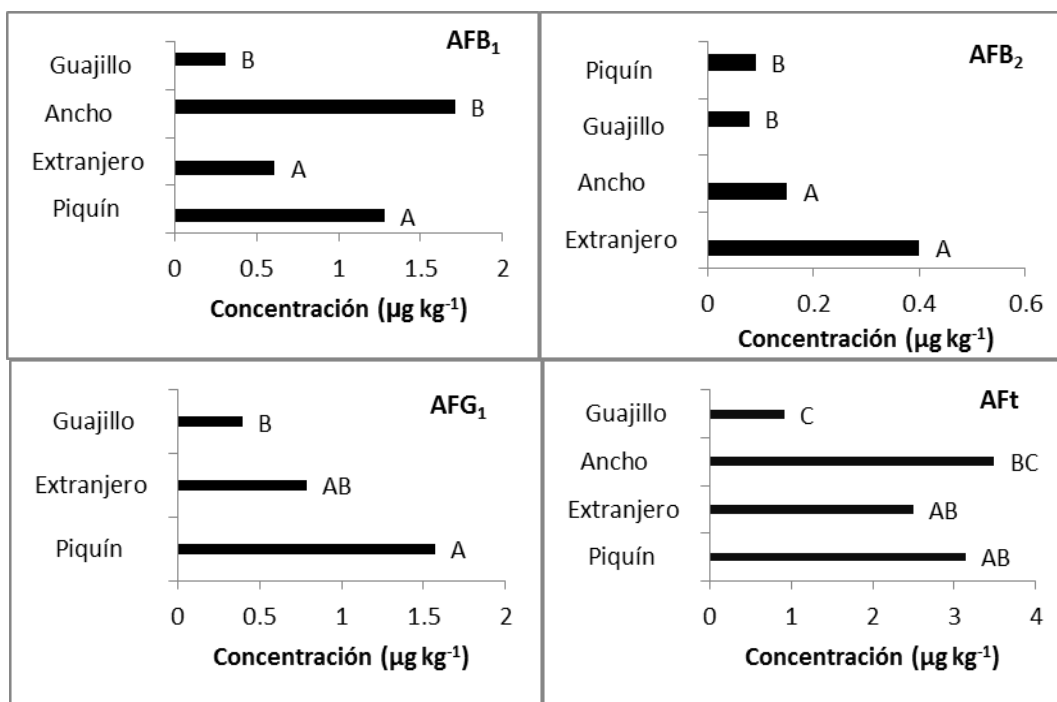


Figura 31. Concentración promedio de AF ($\mu\text{g kg}^{-1}$) en los diferentes chiles analizados. Los grupos con letras en común (AB, BC) no presentaron diferencia significativa, mientras los que tienen letras diferentes (A,B,C) si la tienen.

Las muestras de chile se encontraron contaminadas con las 4 principales AF, las Delegaciones con más contaminación por AFB₁ en chiles fueron: Cuauhtémoc (9.85 µg kg⁻¹) en ancho; Iztapalapa (1.5 µg kg⁻¹) en guajillo, y Cuauhtémoc (6.78 µg kg⁻¹) en piquín. Las Delegaciones y chiles con mayor cantidad de AFt fueron: ancho (14 µg kg⁻¹) en Coyoacán; guajillo (2.96 µg kg⁻¹) en Iztacalco, y chile piquín (9.5 µg kg⁻¹) en Tláhuac. En ninguno de los 3 chiles analizados sobrepasaron la NOM-188-SSA1-200, en donde el límite máximo de AFt es 20 µg kg⁻¹.

VI. CONCLUSIONES.

- Se analizaron 64 muestras compuestas de chile ancho, guajillo y piquín de 48 mercados principales del Distrito federal y 8 muestras extranjeras (India, Turquía y Sudáfrica).
- Se validó el método para la cuantificación de AF en 3 variedades de chiles secos de México (ancho, piquín y guajillo) el cual consistió en: selectividad, linealidad, porcentaje de recuperación y límites de detección y cuantificación.
- Los rangos de concentración de AFB₁ fueron: en chile ancho (de 0.1-9.85 $\mu\text{g kg}^{-1}$), en chile guajillo (0.1-1.5 $\mu\text{g kg}^{-1}$) y para chile piquín (0.1-6.78 $\mu\text{g kg}^{-1}$). En AFB₂ los rangos fueron: chile ancho (0.01-0.42 $\mu\text{g kg}^{-1}$), chile guajillo y chile piquín igual rango de 0.01 a 0.39 $\mu\text{g kg}^{-1}$. Para AFG₁ en chile ancho (0.01-5.97 $\mu\text{g kg}^{-1}$), chile guajillo (1.64 $\mu\text{g kg}^{-1}$) y chile piquín (4.87 $\mu\text{g kg}^{-1}$). Respecto a la AFG₂ en chile ancho (0.5-2.76 $\mu\text{g kg}^{-1}$), chile guajillo (0.5-1.62 $\mu\text{g kg}^{-1}$) y chile piquín (0.5-1.26 $\mu\text{g kg}^{-1}$). Finalmente mayor contaminación de AFt fue en el chile ancho (14 $\mu\text{g kg}^{-1}$), piquín (9.5 $\mu\text{g kg}^{-1}$) y guajillo (2.96 $\mu\text{g kg}^{-1}$).
- Se hizo un análisis estadístico, se halló que la mayoría presenta una diferencia significativa con respecto a su Delegación excepto la AFG₂ en chile guajillo.
- Las concentraciones promedio de AFB₁ son: chile ancho (1.71 $\mu\text{g kg}^{-1}$) que es significativamente mayor respecto a chile piquín (1.28 $\mu\text{g kg}^{-1}$), chile guajillo (0.31 $\mu\text{g kg}^{-1}$) y chile extranjero (0.61 $\mu\text{g kg}^{-1}$).
- Las concentraciones promedio de AFt son: en chile ancho (3.49 $\mu\text{g kg}^{-1}$) que tuvo más contaminación significativamente con respecto al chile piquín (3.14 $\mu\text{g kg}^{-1}$), guajillo (0.92 $\mu\text{g kg}^{-1}$) y extranjero (2.50 $\mu\text{g kg}^{-1}$).
- En general los chiles de México estuvieron más contaminados con AF que los del extranjero, excepto el guajillo que estuvo menos contaminados. Esto indica que se escogen los mejores chiles extranjeros para exportación o el tiempo en almacenamiento pudo haber afectado la cantidad de AF, dado que los análisis de estos países tienen los chiles menos contaminados.

VII. Bibliografía.

- Adzahan, N., Jalili, M., Jinap, S., 2009. Survey of aflatoxins in retail samples of whole and ground black and white peppercorns. *Food Additives and Contaminants*. B. 2:178–182.
- Akiyama, H., Goda, Y., Tanaka, T., Toyoda, M. 2001. Determination of aflatoxins B1, B2, G1 and G2 in spices using a multifunctional column clean-up. *Journal of Chromatography A*. 932 (1-2): 153-157.
- Almela, L., Rabe, V., Sánchez, B., Torrella, F., López-Pérez, J.P., Gabaldón, J.A., Guardiola, L., 2007. Ochratoxin A in red paprika: relationship with the origin of the raw material. *Food Microbiology*, 24: 319-327.
- Apegyei, F., Lamplugh, S.M., Hendricksen, R.G., Aframy, K., Lucas, S., 1986. Aflatoxins in the liver of children with Kwashiorkor in Ghana. *Tropical and Geographical Medicine*, 38: 273-276.
- Ardic, M., Karakaya, Y., Atasever, M., Durmaz, H., 2008. Determination of aflatoxin B1 levels in deep-red ground pepper (isot) using immunoaffinity column combined with ELISA. *Food and Chemical Toxicology*, 46: 1596-1599.
- Azziz-Baumgartner, E., Lindblade, K., Gieseke, K., Rogers, H.S., Kieszak, S., Njapau, H., Schleicher, R., McCoy, L.F., Misore, A., De Cock, K., Rubin, C., Slutsker, L., 2005. Case-Control Study of an acute aflatoxicosis outbreak, Kenya, 2004. *Environmental Health Perspectives*, 113: 1779-1783.
- Belitz, H.D., Grosh, W. 1997. Química de los alimentos. Ed acribia S.A. Segunda edición. Zaragoza, pp. 1050-1054
- Bennett, J.W., Klich, M., 2003. Mycotoxins. *Clinical Microbiology Reviews*, 16: 497-516
- Blout, W.P., 1961. Turkey "X" disease. *Turkeys*, 9:52-6.
- Bosch, F.X., Muñoz, N., 1988. Prospects for epidemiological studies on hepatocellular cancer as a model for assessing viral and chemical interactions. *IARC Science Publishing*, 89: 427-438.
- Bosland, P.W., Votava, E.J., 2000. Peppers: Vegetables and Spice Capsicums. Ed. CABI Publishing. London, 204 pp.
- Candlish, A.A.G., Peason, S.M., Aidoo, K.E., Smith, J.E., Kelly, B., Irvine, H., 2001. A survey of ethnic foods for microbial quality and aflatoxin content. *Food Additives and Contaminants*, 18: 129–136.

- Colak, H., Bingol, E.B., Hampikyan, H., Nazli, B., 2006. Determination of aflatoxin contamination in red-scaled, red and black pepper by ELISA and HPLC. *Journal of Food and Drug Analysis*, 14: 292–296.
- Collera, Z.O., García, J.F., Meléndez, J.R., 2004. Comparative study of carotenoid composition in three Mexican varieties of *Capsicum annum*. *Food Chemistry*, 90: 109-144.
- Commission Regulation (EU). No 1881/2006 of 26 February 2010 amending regulation (EC) No. 1881/2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. *Journal of the European Union L/50/9*.
- Cotty, P.J., Bayman P., Egel, D.S., Elias, K.S., 1994. Agriculture, aflatoxins and *Aspergillus*. En Powell, K.A., Renwick, A., Peberdy, J.F. (ed.). The genus *Aspergillus*. New York: Plenum Press, 1–27.
- Cotty, P.J., Jaime-García, R., 2007. Influences of climate on aflatoxin producing fungi and aflatoxin contamination. *International Journal of Food Microbiology*, 119: 109-115.
- Cullen, J.M., Newberne, P.N., 1994. Acute hepatotoxicity of aflatoxins. En: Eaton, D.L. & Groopman, J.J. (ed.). The toxicity of aflatoxins. Human health, veterinary, and agricultural significance. San Diego: Academic Press, 3–26.
- Dean, J.H., Luster, M.I., Munson, A.E., Kimber, I., 1994. Immunotoxicology and immunopharmacology. Raven Press, New York, USA. 163-182.
- De Flores M.G., González Garza M., Torre M.C., 2004. Iniciación en las técnicas culinarias. Segunda edición, Limusa Noriega Editores. México, D.F.
- Detroy, R.W., Lillehoj, E.B., Ciegler, A., 1971. Aflatoxin and related compounds. En: Ciegler, A., Kadis, S., Ajl, S.J. (ed.). Microbial Toxins, vol. VI: Fungal toxins. New York: Academic Press, 3–178.
- Diener, U.L., Cole, R.J., Sanders, T.H., Payne, G.A., Lee, L.S., Klich, M.A., 1987. Epidemiology of aflatoxin formation by *Aspergillus flavus*. *Annual Review of Phytopathology*, 25: 249–270.
- Duman, A.D., 2010. Storage of red chilli pepper under hermetically sealed or vacuum conditions for preservation of its quality and prevention of mycotoxin occurrence. *Journal of Stored Products Research*, 46: 155-160.
- Eaton, D.L., Groopman J.D. (ed.). 1994. The toxicology of aflatoxins: Human health, veterinary, and agricultural significance. San Diego: Academic Press. 233 pp.

- FAO, Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura., 2004. Reglamentos a nivel mundial para las micotoxinas en alimentos y en las raciones. Estudio FAO Alimentación y Nutrición No 81 Roma, Italia.
- FAO, Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura.,1994. Rol e importancia en nutrición acuícola. Roma Italia, 269.
- FAO, Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura., 2012. FAOSTAT. (Actualizado 6 noviembre de 2013). Disponible en:
<http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor>
- Goldblatt, L. (ed.),1969. Aflatoxin. Scientific background, control, and implications. New York: Academic Press. 486 pp.
- Goto, T., Wicklow, D.T., Ito, Y.,1996. Aflatoxin and cyclopiazonic acid production by a sclerotium-producing *Aspergillus tamaris* strain. *Applied and Environmental Microbiology*, 62: 4036–4038.
- Govindarajan, V.S., 1985. *Capsicum*-Production, technology, chemistry and quality. Part 1 (history, botany, cultivation and primary processing). *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. Karnataka, India, 22: 109-145.
- Heathcote, J.G., Hibbert J.R., 1978. Aflatoxins: chemical and biological aspects. Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam, The Netherlands. 212 pp.
- Hernández, R.J., Quinto, D.P., Cuevas, J., Acosta, R., Aguilar, A.J.O., 2008. Estudio del secado de *Capsicum annum* L. a través del modelo de Luikov, *Caos Conciencia*, 1: 21-30.
- Hsieh, D., 1988 Potential human health hazards of mycotoxins. En: Natori, S., Hashimoto, K. Ueno, Y. eds. *Mycotoxins and phytotoxins '88*. Amsterdam: Elsevier, 69-80.
- Iqbal, S.Z., Paterson, R.R.M., Bhatti, I.A., Asi, M.R., Sheikh, M.A., Bhatti, H.N., 2010. Aflatoxin B₁ in chillies from the Punjab region, Pakistan. *Mycotoxin Research*, 26: 205-209.
- Juan, C. Soriano del Castillo, J.M. y Burdaspal, P., 2007. Aflatoxinas del grupo G y B. En: Micotoxinas en alimentos. Capítulo 8. Ed Soriano del Castillo, J.M. Ediciones Díaz de Santos, España, 167-184.
- Klich, M.A., Pitt, J.I., 1988. Differentiation of *Aspergillus flavus* from *Aspergillus parasiticus* and other closely related species. *Transactions of the British Mycological Society*, 91: 99–108.
- Klich, M.A., Mullaney, E.J., Daly, C.B., Cary, J.W., 2000. Molecular and physiological aspects of aflatoxin and sterigmatocystin biosynthesis by *A. tamaris* and *A. ochraceoroseus*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 53: 605–609.

- Kok, W. Th. 1994. Derivatization reactions for the determination of aflatoxins by liquid chromatography with fluorescence detection. *Journal of Chromatography B*, 659: 127-137.
- Krishnamachari, K.A.V.R., Bhat, R.V., Nagarajan, V., Tilnak, T.M.G., 1975. Hepatitis due to aflatoxicosis. An outbreak in Western India. *Lancet*, 1: 1061–1063.
- Lannes, S.D., Finger, F.L., Schuelter, A.R., Casali, V.W.D., 2006. Growth and quality of Brazilian accessions of *Capsicum* Chinese fruits. *Scientia Horticulturae*, 112: 266-270.
- Long, S.J. 1998. *Capsicum* y cultura: la historia del chilli. Segunda Edición: México: Fondo de Cultura Económica. 69-80.
- Macdonald, S., Castle, L., 1995. A UK retail survey of aflatoxins in herbs and spices and their fate during cooking. *Food Additives Contaminants*, 13: 121–128.
- Martins, M.L., Martins, H.M., Bernardo, F., 2001. Aflatoxins in spices marketed in Portugal. *Food Additives Contaminants*, 18: 315–319.
- Naik, M.K., Ajithkumar, K., Waliyar, F., Reddy, S.V., 2003. Aflatoxin contamination in chilli- Biotechnological Approaches in detection and management. En: Samiyappan, R. ed. Winter school on Biotechnological approaches in diagnosis and management of plant diseases of exporting horticultural crops. Coimbatore: Tamil Nadu Agricultural University, 159-164.
- Newberne, P.M., Butler, W.H., 1969. Acute and chronic effect of aflatoxin B1 on the liver of domestic and laboratory animals: a review. *Cancer Research*, 29: 236–250.
- Norma Oficial Mexicana. 2002. De productos y servicios. Control de aflatoxinas en cereales para consumo humano y animal. Especificaciones sanitarias. Diario Oficial de la Federación. Norma Oficial Mexicana, 15 de octubre NOM-188-SSA1-2002. 22–30, México DF, México. 41p.
- Ong, T.M., 1975. Aflatoxin mutagenesis. *Mutation Research*, 32: 35-53.
- O’Riordan, M.J., Wilkinson, M.G., 2008. A survey of the incidence and level of aflatoxin contamination in a range of imported spice preparations on the Irish retail market. *Food Chemistry*, 107: 1429–1435.
- Ozgun, G., Fatma, H., Bulent, K., 2013. Incidence and level of aflatoxin contamination in chilli commercialised in Turkey. *Food Control*, 33: 514-520.
- Paterson, R.R.M., 2007. Aflatoxins contamination in chilli samples from Pakistan. *Food Control*, 18: 817–820.
- Peers, F.G., Linsell, C.A., 1973. Dietary aflatoxins and human liver cancer—a population study based in Kenya. *British Journal of Cancer*, 27:473–484.

- Peterson, S.W., Ito, Y., Horn, B.W., Goto, T., 2001. *Aspergillus bombycis*, a new aflatoxigenic species and genetic variation in its sibling species, *A. nomius*. *Mycologia*, 93: 689–703.
- Pitt, J. I. 2000. Toxigenic fungi: which are important? *Medical Mycology*, 38(Suppl. 1):17–22.
- Reddy, S.V., Mayi, D.K., Reddy, M.U., Thirumala-Devi, K., Reddy, D.V.R., 2001. Aflatoxins B₁ in different grades of chillies (*Capsicum annum* L.) in India as determined by indirect competitive-ELISA. *Food Additives Contaminants*, 18: 553–558.
- Ravi, K.D., Narayana, K.J.P., Vijayalakshmi, M., 2005. Aflatoxin B₁ production in chillies (*Capsicum annum* L.) kept in cold stores. *African Journal of Biotechnology*, 4: 791–795.
- Reye, R.D.K., Morgan, G., Baral, J., 1963. Encephalopathy and fatty degeneration of the viscera: A disease entity in childhood. *Lancet*, 2: 749-752.
- SAGARPA, Secretaria de Agricultura Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación., 2012. Fondo sectorial de investigación en materia Agrícola, Pecuaria, Acuicultura, Agrobiotecnología y Recursos Fitogenéticos. Anexo B. Demandas del sector. 2012-2. Mejoramiento integral de la productividad en el cultivo del chile en México para aumentar la competitividad, mediante el incremento del rendimiento y calidad. 11 pp.
- Serra I., Yamamoto M., Calvo A., 2002. Association of chilli pepper consumption, low socioeconomic status and longstanding gallstones with gallbladder cancer in a Chilean population. *International Journal of Cancer*, 102: 407-11.
- Shank, R.C., Bhamarapravati N., Gordon, J.E., Wogan G.N., 1972. Dietary aflatoxins and human liver cancer. IV. Incidence of primary liver cancer in two municipal populations in Thailand. *Food and Cosmetic Toxicology*. 10:171–179.
- Shearer, J.F., Sweets, L.E., Baker, N.K., Tiffany, L.H., 1992. A study of *Aspergillus flavus* *Aspergillus parasiticus* in Iowa Crop Fields-1988-1990. *Plant Disease*, 76:19-22.
- Shenasi, M., Aidoo, K.E., Candlish, A.A.G., 2002. Microflora of date fruits and production of aflatoxins at various stages of maturation. *International Journal of Food Microbiology*, 79: 113–119.
- SIAP, Servicio de información agroalimentaria y pesquera. 2010. Un panorama del cultivo de chile. Junio 2010. SAGARPA, México.
- SIAP, Servicio de información agroalimentaria y pesquera. 2010. Producción anual. (Último acceso el 30 de agosto de 2012) Disponible en:
http://www.siap.gob.mx/index.php?option=com_wrapper&view=wrapper&Itemid=350
- Smith, J.E., Moss, M.O., 1985. Mycotoxins. Formation, analyses and significance. John Wiley and Sons, Chichester, United Kingdom. 148 pp.

- Squire, R.A., 1981. Ranking animal carcinogens: a proposed regulatory approach. *Science* 214:877–880.
- Speijers, G.J.A., Speijers, M.H.M., 2004. Combined toxic effects of mycotoxins. *Toxicology Letters*, 153: 91-98.
- Sweeney, M.J., Dobson, A.D.W., 1998. Mycotoxin production by *Aspergillus*, *Fusarium* and *Penicillium* species. *International Journal of Food Microbiology*, 43:141-158.
- Teel, R.W. 1991. Effects of capsaicin on rat liver S9-mediated metabolism and DNA binding of aflatoxin. *Nutrition and Cancer* ,15: 27-32.
- Trucksess, M.W., Scott, P.M., 2008. Mycotoxins in botanicals and dried fruits: a review. *Food Additive and Contaminants A*, 25: 181–192.
- Tunde-Akintunde, T.Y, Afolabi, T.J., Akintunde, B.O., 2005. Influence of drying methods on drying of bell pepper (*Capsicum annuum*). *Journal of food Engineering*, 68(4): 439-442.
- Turner, N.W., Subrahmanyam, S., Piletsky, S.A. 2009. Analytical methods for determination of mycotoxins: A review. *Analytica Chimica Acta*, 26: 168–180.
- USDA, United States Department of Agriculture. 2010. Mycotoxin Research. Jun 2010. USA.
- Willis, R.M., Mulvihill, J.J., Hoofnagle, J.H., 1980. Attempted suicide with purified aflatoxin. *Lancet*, 1: 1198–1199.
- Wilson, D.M., Payne, G.A., 1994. Factors affecting *Aspergillus flavus* group infection and aflatoxin contamination of crops, 309–325. In: Eaton, D.L. & Groopman, J.D. (ed.). The toxicology of aflatoxins. Human Health, Veterinary and Agricultural significance. Academic Press, San Diego, California. P 309.
- Wogan, G.N., 1992. Aflatoxins as risk factors for primary hepatocellular carcinoma in humans. *Cancer Research Supplement*, 52: 2114-2118.
- Wogan, G.N., Paglialunga, S., Newberne, P.M., 1974. Carcinogenic effects of low dietary levels of alatoxin B, in rats. *Food Cosmetic and Toxicology*, 12: 681-685.
- Wogan, G.N., Kensler, T.W., Groopman, J.D., 2012. Present and future directions of translational research on aflatoxin and hepatocellular carcinoma. A review. *Food Additives and Contaminants A*, 29: 249-257.
- WHO and IARC, IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk to Humans, vol. 56, IARC, Lyon, France, 1993.
- Yeh, F.S., Yu, M.C., MO, C.C., Luo, S., Tong, M.J., Henderson, B.E., 1989. Hepatitis B virus, aflatoxins, and hepatocellular carcinoma in Southern Guangxi China. *Cancer Research*. 49: 2506-2509.