

UNIVERSIDAD PARA LA COOPERACION INTERNACIONAL
(UCI)



PREVALENCIA DE AFLATOXINAS EN LA PRODUCCION DE CAFÉ TOSTADO

ELEONORA JARAMILLO ORTIZ

PROYECTO FINAL DE GRADUACION PRESENTADO COMO REQUISITO
PARCIAL PARA OPTAR POR EL TITULO DE MASTER EN ADMINISTRACIÓN
DE PROGRAMAS SANITARIOS CON ÉNFASIS EN INOCUIDAD DE
ALIMENTOS.

San José, Costa Rica

Junio 2011

UNIVERSIDAD PARA LA COOPERACION INTERNACIONAL
(UCI)

Este Proyecto Final de Graduación fue aprobado por la Universidad como
Requisito parcial para optar al grado de Máster en (Nombre de la Maestría)

MARIA CONSUELO VANEGAS

Se debe anotar el nombre

PROFESOR TUTOR

ADRIANA CORAL DURANGO

Se debe anotar el nombre

LECTOR No.1

ELEONORA JARAMILLO ORTIZ

Se debe anotar el nombre

SUSTENTANTE

DEDICATORIA

**A Dios, el amigo que nunca me abandona,
a Paula y Juan Felipe mis hijos
por ser la luz de mi vida.**

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mi tutora la Dra. Maria Consuelo Vanegas y a su equipo de trabajo de la Universidad de los Andes de Colombia por su ayuda en la consolidación final de este trabajo. A la Dra. Adriana Coral por sus recomendaciones y a las dos por su amistad.

A Wilson quien fue parte importante en esta etapa de mi vida.

A mis hijos que me llenan de esperanza y son el motor para seguir.

A mi mamá por su compañía y apoyo incondicional.

Prevalencia de aflatoxinas en la producción de café tostado.

Jaramillo Ortiz, Eleonora (*)

(*) lic. Química y Biología, Magister en Administración, Bogotá, Colombia.

e-mail: elliotjaramillo@hotmail.com. www.calidadyalimentos.com.

Resumen:

El comercio del café es uno de los renglones económicos más importantes en la economía mundial sin embargo también es susceptible a contaminaciones desde su cosecha hasta su transformación. Los principales micotoxinas identificadas en los granos de café son las Ocratoxinas A (OTA), objeto de la revisión en este artículo. La identificación por medio de los estudios encontrados en varios países nos pone alerta ante las medidas preventivas a tomar en toda la cadena productiva, dichos estudios relacionan los casos de aflatoxinas y ocratoxinas como factores de riesgo causante de enfermedades como cáncer, efectos nefrotóxicos y afecciones al hígado en humanos y animales.

El cultivo y procesamiento del café en muchos países es parte fundamental de la base de su economía lo que lleva a que las investigaciones no solo se encaminen a la productividad, sino que la seguridad alimentaria tome una posición importante en este sector debido a que la vigilancia y control en muchos países puedan ser una barrera en el comercio pero un apoyo al velar por la salud de quien lo consume.

La ocratoxina A (OTA) es una micotoxina producida exclusivamente por dos géneros de hongos: el *Penicillium* y el *Aspergillus*. La OTA es el principal compuesto señalado como contaminante natural de material vegetal suele asociarse a los cereales, uvas frescas, fruta seca de la vid, vino, cerveza, el **café y el cacao**.

Palabras clave: Café, aflatoxinas, Ocratoxinas, OTA, micotoxinas, contaminación, *Aspergillus*, alimento, bebida, inocuidad, hongos, mohos.

Summary:

The coffee trade is one of the economic lines more important in the world economy; however, it is also susceptible to contamination, from its harvesting to its transformation. The main mycotoxins

identified in the coffee beans are Ochratoxins A (OTA), objective of the revision in this article. The identification by means of the studies found in several countries, alerts us towards the preventive measures to be taken along all of the production chain. Said studies correlate the cases of aflatoxins and ochratoxins as risk factors causing illnesses such as cancer, nephrotoxic effects, and liver afflictions in humans and animals.

In many countries, the cultivation and processing of coffee is a fundamental part of the basis of their economy, which causes research not only towards productivity, but also so that food safety be placed in an important position in this sector, because in many countries the vigilance and control may be a barrier for trade, but it is a support for taking care of the health of consumers.

The Ochratoxins A (OTA) is a mycotoxin produced exclusively by two genres of mushrooms: the *Penicillium* and the *Aspergillus*. The OTA is the main component shown as a natural contaminant of vegetable material, it is usually associated with cereals, fresh grapes, dried fruit of the vine, wine, beer, **coffee, and cocoa**.

Keywords

Coffee, aflatoxins, ochratoxin, OTA, mycotoxin contamination, *Aspergillus*, food, drink, safety, fungi, molds.

1. Introducció.

El café es considerado en Colombia como un tejido social, cultural, institucional y político, que más que un producto agrícola es la base de la estabilidad democrática y la integridad nacional [1].

El 64% de la producción total en el mundo proviene de 4 países productores: Brasil, Vietnam, Indonesia y Colombia. En 2010 se produjeron 134 millones de sacos. Frente al 2009, la producción mundial de café aumentó 9%, siendo Brasil el país que registra las mayores tasas de crecimiento (23%) conservando el primer lugar como productor en el mundo [2].

La Organización Internacional del Café (OIC), representa a los países exportadores e importadores

de café, y el Fondo Común de las Naciones Unidas para los Productos Básicos. La FAO puso en marcha un proyecto para elevar la calidad del café mediante la prevención de la formación de mohos en el producto.

Después del petróleo el café es la segunda mercancía comercializada en el mundo. Mas de 125 millones de personas viven del cultivo del café lo que representa un rubro importante en la economía de los países tanto productores como consumidores. Colombia ,Costa rica Guatemala Etiopia producen cafés tipo Aràbica de sabor suave y excelente aroma. Colombia después de Brasil es el segundo exportador de café en el mundo. El café es uno de los principales productos del llamado comercio justo [3].

El café como otros granos son susceptibles a la contaminación por las mismas condiciones de cosecha, procesamiento y almacenamiento, donde la humedad sobre todo incrementa la aparición de mohos sobre el grano. Existen mas de 200 tipos de mohos toxigénicos que bajo condiciones especiales son capaces de producir toxinas y que se conocen como micotoxinas. Algunas de las micotoxinas más frecuentes en grano de café son las aflatoxinas y la Ochratoxina A (OTA) [4]. Bajo estas consideraciones, los casos de granos contaminados podrían causar una inestabilidad en el flujo de la economía de los países productores.

Por lo anterior, el objetivo de este documento es hacer una revisión bibliográfica sobre la importancia de la ocratoxina A y las aflatoxinas en café.

2. MARCO TEORICO

Aspergillus es uno de los hongos filamentosos que tiene gran importancia en la industria, en el sector agropecuario y en inocuidad de alimentos, ya que ha sido utilizado en fermentaciones, es causante de enfermedades en plantas y puede ser productor de micotoxinas.

Las especies de Aspergillus aflatoxigenicos conocidas son *A. flavus*, *A. parasiticus* y las ocratoxinógenicas son *A. niger* y , *A. ochraceus* y *A. carbonarius*, las cuales se encuentran frecuentemente en productos agrícolas [5, 6].

Estas micotoxinas pueden ser producidas en cultivos de gran importancia económica como la uva y el café. Existe una gran diversidad genética en las poblaciones de Aspergillus y estudios recientes

han evidenciado en los últimos cinco años que *A. carbonarius* es un productor importante de ocratoxina A en el café [5]

Se han identificado nuevas especies de *Aspergillus* negro como contaminantes de los granos de café y estas son: *A. aculeatinus*, *A. lacticoffeatus*, *sclerotii carbonarius* [5]. También se han identificado *Aspergillus ochraceus* y *A. westerdijkiae*, como especies productoras de ocratoxina A (OTA) que contaminan los alimentos y bebidas para el consumo humano consumo [7].

La ocratoxina A (OTA) es una micotoxina nefrotóxica y cancerígena, ya que puede estar implicada en el desarrollo de algunos tumores y se ha encontrado en productos de cereales y alimentos. Son sustancias de tipo natural muy tóxicas, que según diversos estudios han demostrado reacciones adversas en el funcionamiento del riñón a largo plazo [8].

El café es una de las bebidas más consumidas en América del Norte y Europa. Es bien sabido que el café contiene cafeína y que los granos de café pueden ser contaminados por la ocratoxina A (OTA). La toxicidad no la produce el moho por sí mismo, sino su toxina cuya actividad acumulada en el humano puede tener graves consecuencias en la salud humana y problemas de inocuidad de alimentos, ya que no es destruida en los procesos de secado. Igual que las aflatoxinas, no existe un proceso químico o físico que elimine la toxina en su totalidad [9].

Estudios realizados por Santini, determinó que el contenido de ocratoxina A que se encuentra en las bebidas, puede ser mayor que el encontrado en el café tostado utilizado para su elaboración, lo que representa un potencial factor de riesgo relacionado con la OTA para la salud humana. El contenido de cafeína está directamente relacionada con la actividad antioxidante del café y no se encontró relación entre la OTA, la actividad antioxidante y la cafeína [10].

3. ANTECEDENTES

Las aflatoxinas (AFs), pueden afectar productos de importancia económica como granos, cereales ó café y aunque la micotoxina hallada con mayor prevalencia en el café es la ocratoxina A (OTA), existen estudios realizados en países cafeteros que reportan contaminación de los frutos de cafeto con AFs. La presencia natural de AFs en el café, se relaciona directamente con el crecimiento de las especies fúngicas productoras en el grano durante la cosecha o el almacenamiento.

Los problemas vienen desde la producción primaria; el grano de café es afectado por la producción de micotoxinas que se generan por las condiciones ambientales ideales de temperatura y humedad

que hacen que se facilite su reproducción y multiplicación. Adicionalmente las prácticas agrícolas inadecuadas y de manufactura en las siguientes etapas como en la recolección, almacenamiento y secado, termina siendo una cadena de eslabones fuertes que potencia la prevalencia de las micotoxinas.

Las condiciones para el cultivo del grano en ambientes cálidos y húmedos, sumado a los largos períodos de almacenamiento, pueden favorecer el crecimiento de especies fúngicas, conocidas como “hongos de campo” que se desarrollan antes de la cosecha y persisten en los productos almacenados u “hongos de almacén”, que aparecen en la post-cosecha mientras que el grano se encuentra en condiciones de almacenamiento [9]. Los géneros presentes en mayor frecuencia son *Aspergillus*, *Fusarium* y *Penicillium*. La diversidad genética de las poblaciones de *A. flavus* ha sido ampliamente estudiada en relación con su capacidad productora de micotoxinas. Se encuentra una gran diversidad de *A. flavus*, *A. parasiticus* y *A. oryzae* no toxigénicas. [5].

La producción de micotoxinas en alimentos es un problema de salud pública mundial y con relación a la producción en café se han realizado diferentes investigaciones; por ejemplo en un estudio en Costa Rica se detectó micotoxinas en plasma y se obtuvo la presencia de la micotoxina en el 95% de las 149 muestras estudiadas. También se estudió la presencia de la ocratoxina A en 110 muestras de diferentes marcas de café tostado y molido de las 12 torrefactoras más importantes del país y de 7 supermercados. A excepción de una muestra de café que dió resultados negativos, el resto de muestras analizadas presentaron la micotoxina en cantidades menores a 4000 ng/L o kg. Se trató de encontrar una asociación entre el consumo de café y la presencia de la ocratoxina A en el plasma así como del consumo de cerveza, sin embargo no hubo diferencia estadísticamente significativa en el valor promedio de la micotoxina entre los tomadores y no tomadores de café [11]. Para esta micotoxina se ha establecido un límite máximo tolerable para los humanos, a nivel mundial, de 100 nanogramos por kilogramo de peso corporal a la semana. En 2004, la Unión Europea estableció límites máximos admisibles para la OTA de 5 ppb en el café tostado y molido y 10 ppb en el café instantáneo [12].

En una investigación se evaluó el efecto de diferentes técnicas de manejo de grano de café como arrastrado y flotante, en la producción de ocratoxina A. Se detectaron niveles de 0.1 a 5.0 ug / kg, así como el 25% de las muestras investigadas en este trabajo, presentaron contaminación por encima de 5,0 ug / kg, por lo tanto se demostró que el café manejado con las técnicas anteriores representa un grave riesgo de contaminación por ocratoxina A [13].

Otros autores reportaron un estudio en Nayarit (México), en el cual evaluaron la presencia de micotoxinas en maíz forrajero (zearalenona, fumonisina B1, toxina T-2 y diacetoxiscirpenol) y café verde (ocratoxina A). Todas las muestras de maíz analizadas presentaron contaminación por fumonisina B1 con una concentración promedio de 2.541 µg/kg. Un 15% de las muestras contenían zearalenona, con un promedio de 1.610 µg/kg. De los tricotecenos estudiados, sólo una muestra presentó contaminación por toxina T-2 (7 µg/kg), no habiéndose detectado diacetoxiscirpenol en ninguna de las muestras. En un 67% de las muestras de café verde analizadas se encontró contaminación por ocratoxina A, con un promedio de 30,1 µg/kg. Este trabajo es el primer estudio sobre micotoxinas que se realiza en el estado de Nayarit y ha puesto de manifiesto que la contaminación por micotoxinas es un problema real en los dos productos agrícolas estudiados [14].

Un total de 408 muestras de café en Brasil se examinaron durante el 1999 y 2000, en temporadas de cosecha de café, donde aumenta la presencia de ocratoxina A (OA) y los hongos productores. Las muestras fueron tomadas de cuatro regiones: Alta Paulista (zona occidental de Sa ~ Estado de São Paulo), Sorocabana (suroeste Sa ~ o Paulo), Alta Mogiana (noreste Sa ~ o Paulo) y el Cerrado Mineiro (zona oeste de Minas Gerais). Más de 800 aislamientos de hongos fueron identificados, también se determinó la capacidad de producir OTA mediante la técnica en agar y cromatografía en capa fina (TLC). *A. niger* fue la especie que se encontró con mayor frecuencia (63% de los aislamientos), pero sólo el 3% de ellos produjo OTA [15].

A. ochraceus también fue frecuente (31% de los aislamientos) y el 75% de los estudiados fueron capaces de producir OTA, un porcentaje mucho mayor que el reportado en otros lugares. *A. carbonarius* se encontró (6% de los aislamientos) sólo en Alta Paulista, la región más caliente de las estudiadas. Sin embargo el 77% de los aislamientos de *A. carbonarius* fueron capaces de producir OA. Las tasas medias de infección para las cerezas a partir de árboles eran muy bajas, pero fueron más altos en las frutas tomadas de la tierra, desde el patio de secado y de almacenamiento, lo que indica infección por especies toxigénicas después de la cosecha. Se encontraron varios puntos críticos, en las causas de la elevada contaminación como son las condiciones climáticas y los procesos de secado utilizados [15].

En España, se evaluó la aparición de ocratoxina A (OTA) en el café tostado molido de diferentes marcas y tipos disponibles. Muestras de café fueron adquiridas en hipermercados y supermercados de doce ciudades de Cataluña y se prepararon muestras compuestas para el análisis. El contenido de ocratoxina A fue de 2.17 ± 0.79 ng/g. Datos de consumo de café se obtuvieron por medio de un

cuestionario de frecuencia alimentaria. El consumo medio de café per cápita fue de 11,58 8,73 g / persona / día. La ingesta diaria de OTA (DI) se estimó por medio de métodos deterministas y probabilísticos. En ambos casos, se estimó que el DI (alrededor de 0,22 ng / kg de peso corporal / día) determinado, estaba por debajo del último valor IDTP de 17 ng / kg de peso corporal / día sugerido por la EFSA [16].

En Italia, la contaminación por micotoxinas en un lote de café verde, especialmente por la ocratoxina A (OTA), más del límite permitido por la ley italiana (Circ. Ministerio de Sanidad italiano, n. 18 del 16/11/2000, que fija el límite de 8 ppb para el café verde), impide su introducción en el mercado interno, resultando en una posible pérdida económica .

En Tailandia, durante el 2006 y el 2007, fueron tomadas 32 muestras de grano de café tailandes seco (*Coffea arabica*) en dos sitios de Chiang Mai Provincia, y 32 muestras de café tailandeses secos (*Coffea canephora* var. *robusta*) en dos sitios de Chumphon Provincia, Tailandia, fueron recogidos y evaluados para la distribución de los hongos con el potencial de producir ocratoxina A (OTA). De las 64 muestras del grano de café analizados, el 98% estaban contaminadas con OTA en los niveles de 0.6-5.5 mg / kg (Arábica) y 1.27 mg / kg (robusta). La presencia de ocratoxina A en muestras de café representante también fue confirmado por LC-MS/MS después de la purificación de intercambio iónico [17].

Aislamientos de *A. ochraceus* de café (*Coffea arabica*), de India, Indonesia, Kenia y Brasil produjeron 400 mg/kg de ocratoxina A en café verde de tierra sin esterilizar, demostrando que se trata de un substrato preferido para futuras investigaciones, dado que se evidenció que el café esterilizado es un substrato pobre para la producción de dicha micotoxina[18].

Con relación a la importancia de las temperaturas y a la humedad relativa en el almacenamiento del café se han realizado diferentes estudios. Se ha estudiado el efecto de la alternancia de temperaturas en el almacenamiento del café. De los valores de día y de noche, dos temperaturas medias (25 y 14 °C) fueron elegidas.

Estos cambios pueden producirse, principalmente durante el almacenamiento en los graneros agrícolas y el transporte. El estudio se llevó a cabo bajo diferentes condiciones de humedad relativa de equilibrio (ERH): 80%, 87% y 95% para la producción de ocratoxina A (OTA) por *Aspergillus ochraceus* en el café crudo. La producción de ocratoxina A fue analizada después de periodos de 39 y 60 días después de que el café había llegado a la humedad relativa de equilibrio. Hubo poca o

ninguna producción de OTA en 80% ERH; en 87% y 95% la producción de OTA fue elevada después de los diferentes días de incubación. Bajo temperaturas diferentes, la producción de OTA fue mayor que a temperatura constante, y la alternancia de temperaturas favoreció indirectamente a la producción de OTA debido a la condensación y el consiguiente aumento rápido en el contenido de humedad y actividad de agua de los granos de café [19].

El procesamiento post-cosecha (método tradicional o método húmedo y seco) del café no jugó un papel importante en el crecimiento y la producción de OTA. Sin embargo, el Aw jugó un papel clave, ya que 0,95 se consideró la óptima tanto para el crecimiento del hongo como su toxicidad, concluyeron que por debajo de 0,80, no había ningún riesgo para el café. Con relación a la temperatura se determinó que a 10°C y con un óptimo a 35°C había muy buena producción de toxinas. La cafeína y ácido clorogénico tienen efecto inhibitorio sobre la producción de OTA [20]

Actualmente, los países que producen café; están alineados y saben el control que deben ejercer, no solo por el tema de la salud e inocuidad en los alimentos, sino porque el cultivo es fuente de ingresos de miles de familias. Las acciones de prevención de la formación de micotoxinas no sólo evitan el daño al consumidor sino que los costos en remuestreo, transporte de producto contaminado, entre otros, desaparezcán y las ganancias pueden ser superiores.

Se tienen estudios a partir del 2001 en cerca de 30 países, que representan el 93% de las exportaciones mundiales de café verde. En su primera fase de investigación se trabajó sobre los factores implicados en la formación de moho en el café, con el propósito de elaborar un modelo de análisis de peligros y de puntos críticos de control (HACCP) y controlar la formación de mohos, así como formular estrategias de prevención para la elaboración primaria, el secado, la manipulación y el almacenamiento.

En colaboración con los institutos del café de Brasil, Colombia, India, Indonesia, Kenya y Uganda, el proyecto llevó a cabo para ver la forma en que los agricultores cosechaban y elaboraban su café, y la forma en que las prácticas agrícolas y los hongos toxicogénicos interactúan. El muestreo de suelos indicó que el principal hongo productor de OTA se encuentra con mayor frecuencia en el suelo que rodea las raíces de los cafetos. El grano de café que cae al suelo, por tanto, se debería eliminar de la cadena alimentaria. Cuando las flores del cafeto están expuestas a las esporas de los hongos formadores de micotoxina, se pueden contaminar los granos de café, con el consiguiente riesgo. Esto lleva a evaluar diferentes sistemas de descontaminación de hongos a aplicar durante la

floración de los cafetos [21].

Una de las prácticas más inadecuadas que ha detectado la FAO ha sido que los granos defectuosos poseen una mayor cantidad de toxina. Estos granos, junto con el café de peor calidad, suelen consumirlo sobre todo la población local, lo que da una idea del riesgo para la salud pública en los países de origen si esa práctica no se controla en el futuro.

Los niveles intermedios de humedad son ideales para los organismos productores de OTA. Por eso la fase crítica para asegurar la inocuidad son las condiciones bajo las cuales entra a secado el grano. La práctica más usual de secado en las fincas cafeteras es el secado al sol; extendiendo el grano, el factor más decisivo que regula la velocidad del secado es el clima: la lluvia, la humedad del rocío y una gran humedad. Junto a estos factores, hay que considerar la existencia de frutos enmohecidos en el sistema. Cada moho crecido forma millones de esporas que contaminarán otros granos. Este punto obliga a considerar las buenas prácticas agrícolas, en la reducción de producto enmohecido por un exceso de tiempo desde la recolección hasta el secado [21]. Por lo anterior se han realizado diferentes investigaciones a nivel mundial, en Tailandia fueron examinados para producción de ocratoxina A, granos de café Robusto recogidos antes y durante el secado al sol de dos fincas de café. *Aspergillus ochraceus* sólo se detectó en una muestra, mientras que *Aspergillus carbonarius* fue aislado en 7 de 14 muestras. Se detectó ocratoxina en el café irradiado. Más de 4.800 mg kg⁻¹ de la toxina se detectó en condiciones óptimas y la producción se redujo fuertemente a una aw de 0.94 [22].

Una vez seco, se acostumbra a almacenar el café verde varios días, semanas e incluso meses, durante los cuales se debe mantener la humedad al mínimo necesario para impedir que se formen mohos. Se esperara que los niveles de humedad en almacenamiento no se incrementen a más de un 12,5% lo que ha demostrado que el grano no corre peligro de contaminación del hongo.

Por petición de la OIC desde el 2011 se esta trabajando en la prevención de la formación del moho en el café con el fin de elaborar un plan HACCP así como de establecer estrategias de prevención para la elaboración primaria, el secado, la manipulación y el almacenamiento. [21].

4. PREVENCIÓN Y ELIMINACIÓN DE LAS AFLATOXINAS

Para la prevención y eliminación de aflatoxinas se deben establecer protocolos en los cuales se evalúen las diferentes fuentes de contaminación y se determinen las políticas de prevención y

métodos de eliminación de AFs. En primer lugar, debe realizarse una eliminación de los granos y aquellas fracciones más contaminadas, ya sea por medio de métodos manuales de separación como flotación o segregación por densidad [23], para hacer más efectiva y sencilla la separación son requeridos estudios que precisen las características de los granos en los que mayoritariamente se localizan las AFs, por ejemplo, el 95% de las AFs se ubican en los granos de cacahuete que flotan, mientras que los granos maíz con mayor concentración de micotoxinas son aquellos fraccionados [23].

Algunos otros métodos físicos de detoxificación como la desactivación térmica deben ser empleados de manera complementaria. Se sabe que las AFs son termoestables por lo cual soportan altas temperaturas y no son destruidas completamente con procesos como el autoclavado, la ebullición u otros procesos térmicos en los que se empleen temperaturas superiores a los 150°C [23].

En el año 2008 Raters y colaboradores, demostraron que durante el proceso de tuestión del café a 150°C por 30 minutos, se presentaba una disminución del 70%, del contenido inicial, sus hallazgos sugieren que con un aumento de temperatura a 180°C es posible eliminar completamente las AFs [24]. Otros autores, reportaron que el contenido de OTA en café verde se redujo por el tostado, particularmente, se encontraron altos porcentajes de reducción de OTA en las muestras más contaminadas. Esta reducción fue influenciada por la severidad del proceso térmico y se relacionó generalmente con el contenido inicial de OTA [25].

En otra investigación se inocularon artificialmente granos de café verde con ocratoxina A (OTA), comparando dos diferentes metodologías de tostado. Se compararon las propiedades físicas y el contenido residual de OTA en los granos tostados. Los resultados indicaron que la reducción de la OTA fue similar en los dos niveles de contaminación: 95,1% y 97,2% con el cilindro giratorio y el 81,3% y 79,2% en el lecho fluidizado. No se observó La degradación completa de la OTA en el plazo de este estudio (230°C) [26].

Otros investigadores contaminaron artificialmente *Coffea arabica* con esporas de *Aspergillus westerdijkiae* toxigénicas. El café contaminado fue asado en un asador vertical a cuatro temperaturas diferentes (180°C, 200°C, 220 y 240°C) y a tres diferentes períodos de tiempo (5, 8 y 12 min), con el fin de obtener resultados más precisos para el desarrollo del modelo cinético para la ocratoxina A (OTA). Se evaluó también el contenido de Ácido clorogénico (CGA) durante el tostado de café para investigar el efecto del calor empleado para destruir la OTA en estos compuestos. En

los granos de café tostado se redujo significativamente el nivel de OTA del 98% al 8%. La cama tostado vertedera ha demostrado ser un procedimiento muy eficiente para la reducción de la OTA en el café y su reducción depende directamente del tostado del grado.

Otra de las alternativas para el control o eliminación de las AFs, es el uso de la radiación, no existe mucha información sobre irradiación en café con rayos X, gamma o UV, pero se sabe que con la exposición de alimentos a la radiación se produce una emisión elevada de energía, la cual desestabiliza y rompe las estructuras moleculares. Se ha establecido que las aflatoxinas B₁ y G₁ son más sensibles a los rayos X [27, 28].

Algunos autores han sugerido el uso de solventes químicos, debido a que las micotoxinas es que son solubles en solventes orgánicos, de manera que una combinación apropiada de los mismos podrían arrastrar las micotoxinas fuera del producto. Podrían ser utilizados para el mismo fin compuestos ácidos reactantes como el ácido clorhídrico ó sulfúrico que son capaces de reaccionar con los grupos lactona de las aflatoxina B₁ y G₁ ó con los dobles enlaces no aromáticos presentes en otras AFs [28]. Agentes químicos oxidantes, álcalis, reductores e inertes cuyas propiedades se han asociado con la detoxificación, pueden ser evaluados para determinar su aplicación en el control y eliminación de AFs en café.

5. DETECCION DE LAS AFLATOXINAS

Debido a que la ocratoxina A (OTA) puede aparecer en el café tostado, existe la necesidad de desarrollar métodos de detección rápidos, específicos, sensibles, sencillos y económicos, para que puedan ser utilizados en los procesos de calidad y control [29]. Diferentes posibilidades se han investigado; es así que se ha desarrollado una columna de análisis para la detección de la OTA en café tostado. En este estudio la columna compuesta por dos capas superpuestas: una capa capaz de absorber al menos parte de la fracción de interferencia de la muestra y la detección de una capa que contiene los anticuerpos para capturar la micotoxina. El nivel concentración de micotoxinas más pequeña que resulta en el desarrollo de ningún color, fue de 6 ug kg⁻¹. 2.

Se han evaluado diferentes métodos de extracción detección ocratoxina A (OTA) por HPLC, dos diferentes columnas de extracción ; una de inmunoafinidad y otra de multifuncional se compararon en un estudio que se realizó entre laboratorios. La prueba de recuperación se realizó en dos

concentraciones diferentes de OTA (0,5 y 5,0 g / kg) . se utilizó la columna de inmutofinidad .Las tasas de recuperación así como la relación desviaciones estándar de repetibilidad (RSDr) y reproducibilidad (RSD R) para el trigo, sémola de maíz y granos de café verde variaron desde 59.0 hasta 85.8, 4.2-7.8 y 22.9-29.2%, respectivamente. Usando la columna de múltiples funciones, la recuperación tasas, RSDr y RSDR para el trigo, sémola de maíz y granos de café verde variaron desde 80.8 hasta 185.0, 0.7-6.9 y 15.2-33.9%, respectivamente. Este estudio recomienda que la columna multifuncional podría ser utilizada para detectar la OTA en granos de trigo y maíz a una concentración tan baja como 0,5 g / kg. pero no para detectar OTA en el café y las pasas en un nivel muy bajo [30].

También se ha optimizado el método HPLC, para la extracción y limpieza de la ocratoxina A (OA) en el café tostado. El análisis por HPLC dió lugar a un pico bien resuelto y a la reducción de interferencias de la matriz, las detecciones oscilaron entre un 72 a un 84% y el límite de detección fue de 1 ng / g [31].

Un nuevo método para la determinación de la ocratoxina A (OTA) en los granos de café verde es la cromatografía de microextracción en fase sólida (SPME) acoplada a líquido con detección por fluorescencia (LC-FD) Los límites de detección (LOD) y cuantificación (LC), calculados con una relación señal-ruido de 3 y 10 (ruido calculado pico a pico en un cromatograma en blanco en el tiempo de retención OTA), fueron 0,3 y 2 ng / g, respectivamente [32, 33].

Adicional a los métodos químicos e inmunológicos, últimamente también se ha investigado en el uso de técnicas moleculares para la detección de las micotoxinas, por ejemplo se ha desarrollado un PCR- múltiplex para la detección de *Aspergillus carbonarius*, *A. niger* y *A. ochraceus*, reconocidos como la especie responsable de la OA en los granos de café. El PCR identificó *A. niger* en cultivo puro , también lo detectó en los granos de café. Fue específico porque no presentó reacción cruzada con especies relacionadas. El método detecta los amplicones de 809, 372 y 260 pb que correspondientes a las tres especies de *Aspergillus* productores de OTA en muestras de grano de café, es decir, *A. carbonarius* de carbono, *A. niger* y *A. ochraceus*, respectivamente [6].

Finalmente un protocolo de PCR cuantitativa en tiempo real, fue desarrollado para detectar a *Aspergillus ochraceus* y *A. westerdijkiae* utilizó SYBR® Green y unos primers diseñados sobre la base de la región multicopia ITS1 del ADNr. El ensayo tuvo alta la eficiencia (94%) y el sustrato no inhibió la reacción. de 2,5 pg / reacción fue el límite más bajo de detección del ADN diana. Este

análisis permite una rápida, específica, precisa y sensible cuantificación de *A. ochraceus* y *A. westerdijkiae* directamente antes de la cosecha de café verde, lo cual es muy útil en la prevención y control de los hongos y la producción de OTA [7].

6. CONCLUSIONES

De acuerdo a la revisión de la problemática de micotoxinas en el café se puede concluir, que la implementación de las Buenas prácticas agrícolas y del HACCP en su procesamiento industrial constituyen una herramienta que potenciaría la calidad del café en el mundo. Igualmente minimizar el riesgo en la cadena productiva beneficiaria sustancialmente al consumidor. Es importante implementar métodos de detección específicos, sensibles y económicos que puedan ser aplicados en las diferentes etapas de producción del Café.

Bibliografía

1. Ramírez, e.a., *Resumen Ejecutivo. Comisión de Ajuste de la Institucionalidad Cafetera*, C.d.A.d.I.I. Cafetera, Editor.
2. Ortiz, J.C., *Café en Colombia*, G.d.E. Económicos, Editor. 2006.
3. Bedri *El café en el mundo*.
4. Santos, O.M., *Importancia y Efectos de la Aflatoxina en los Seres Humanos* in *Area Ciencias Básicas Facultad de Medicina*, Universidad Autónoma de Bucaramanga
5. Perrone, G., et al., *Biodiversity of Aspergillus species in some important agricultural products*. *Stud Mycol*, 2007. **59**(1): p. 53-66.

6. Sartori, D., et al., *PCR method for the detection of potential ochratoxin-producing Aspergillus species in coffee beans*. Research in Microbiology, 2006. **157**(4): p. 350-354.
7. Gil-Serna, J., et al., *ITS-based detection and quantification of Aspergillus ochraceus and Aspergillus westerdijkiae in grapes and green coffee beans by real-time quantitative PCR*. International Journal of Food Microbiology, 2009. **131**(2-3): p. 162-167.
8. Quesada, C.E., *Validación de un método de análisis de Ocratoxina A para café verde, utilizando columnas de inmutofinidad y cromatografía líquida de alta resolución*, in *Escuela de Bioquímica y Farmacia*. 2009, Escuela Superior Politécnica del Chimborazo: Riobamba - Ecuador.
9. FAO, *Directrices para prevenir la formación de moho en el café*. 2006.
10. Santini, e.a., *Influence of different coffee drink preparations on ochratoxin A content and evaluation of the antioxidant activity and caffeine variations*. Food Control 2011. **22** p. 1240 - 1245.
11. Quintana, e.a., *Determinación de ocratoxina A en plasma humano y en café de Costa Rica por un método de ELISA*. Archivos Latinoamericanos de Nutrición, 2007. **57**(2).
12. FAO (2006) *Un café más sano* Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación
13. Batista, L.R., et al., *Ochratoxin A in coffee beans (Coffea arabica L.) processed by dry and wet methods*. Food Control, 2009. **20**(9): p. 784-790.
14. Marín, S.R., AJ; Robledo, ML, *Contaminación natural con micotoxinas en maíz forrajero y granos de café verde en el Estado de Nayarit (México)*. Revista Iberoamericana de Micología, 2001. **18**(3): p. 141 - 144.
15. Taniwaki, M.H., et al., *The source of ochratoxin A in Brazilian coffee and its formation in relation to processing methods*. International Journal of Food Microbiology, 2003. **82**(2): p. 173-179.
16. Coronel, et al., *Ochratoxin A in Spanish retail ground roasted coffee: Occurrence and assessment of the exposure in Catalonia*. Vol. 22. 2011, Kidlington, ROYAUME-UNI: Elsevier. 6.
17. Noonim, P., et al., *Isolation, identification and toxigenic potential of ochratoxin A-producing Aspergillus species from coffee beans grown in two regions of Thailand*. International Journal of Food Microbiology, 2008. **128**(2): p. 197-202.
18. Mantle, P.G. and A.M. Chow, *Ochratoxin formation in Aspergillus ochraceus with particular reference to spoilage of coffee*. International Journal of Food Microbiology, 2000. **56**(1): p. 105-109.
19. Palacios-Cabrera, H., et al., *The production of ochratoxin A by Aspergillus ochraceus in raw coffee at different equilibrium relative humidity and under alternating temperatures*. Food Control, 2004. **15**(7): p. 531-535.
20. Suárez-Quiroz, M.L., et al., *Effect of chemical and environmental factors on Aspergillus ochraceus growth and toxigenesis in green coffee*. Food Microbiology, 2004. **21**(6): p. 629-634.
21. Rodríguez Jerez, J.J. (2006) *La contaminación por micotoxinas del café crudo depende de las condiciones ambientales y de operaciones de recolección, almacenamiento y elaboración*. Eroski Consumer
22. Joosten, H.M.L.J., et al., *Production of ochratoxin A by Aspergillus carbonarius on coffee cherries*. International Journal of Food Microbiology, 2001. **65**(1-2): p. 39-44.
23. Lizaso, A.A.y.J., *Hongos y Micotoxinas*, in 1ª, Tomo XXX, Folio 1-25, F.I.p.I.S. Alimentaria, Editor. 2001.
24. Raters M., M.R., *Thermal stability of aflatoxin B1 and ochratoxin A*. Mycotoxin Research 2008. **24**(3): p. 130-134.

25. Romani, S., G.G. Pinnavaia, and M. Dalla Rosa, *Influence of Roasting Levels on Ochratoxin A Content in Coffee*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2003. **51**(17): p. 5168-5171.
26. Castellanos-Onorio, O., et al., *Effect of two different roasting techniques on the Ochratoxin A (OTA) reduction in coffee beans (Coffea arabica)*. Food Control, 2011. **22**(8): p. 1184-1188.
27. Gimeno, J.B.y.G., *Micotoxinas en los alimentos: medidas de prevención y detoxificación*. Selecciones Avícolas, 2002: p. 567-572.
28. Lizaso, A.A.y.J., *Hongos y micotoxinas*. 2001, Fundación Ibérica para la seguridad alimentaria: España.
29. Lobeau, M., et al., *Development of a new clean-up tandem assay column for the detection of ochratoxin A in roasted coffee*. Analytica Chimica Acta, 2005. **538**(1-2): p. 57-61.
30. Sugita-Konishi, Y., et al., *The comparison of two clean-up procedures, multifunctional column and immunoaffinity column, for HPLC determination of ochratoxin A in cereals, raisins and green coffee beans*. Talanta, 2006. **69**(3): p. 650-655.
31. Sibanda, L., S. De Saeger, and C. Van Peteghem, *Optimization of solid-phase clean-up prior to liquid chromatographic analysis of ochratoxin A in roasted coffee*. Journal of Chromatography A, 2002. **959**(1-2): p. 327-330.
32. Aresta, A., et al., *Ochratoxin A Determination in Beer by Solid-Phase Microextraction Coupled to Liquid Chromatography with Fluorescence Detection: A Fast and Sensitive Method for Assessment of Noncompliance to Legal Limits*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2006. **54**(5): p. 1594-1598.
33. Mantle, P.G., *Uptake of radiolabelled ochratoxin A from soil by coffee plants*. Phytochemistry, 2000. **53**(3): p. 377-378.