

Niveles de Ocratoxina A y Aflatoxinas totales en cafés de exportación de Panamá por un método de ELISA

Heriberto Franco, Aracelly Vega, Stephany Reyes, Javier De León, Alexis Bonilla

Centro de Investigación en Recursos Naturales, Universidad Autónoma de Chiriquí, El Cabrero, Chiriquí.
Programa de Café, Ministerio de Desarrollo Agropecuario, Chiriquí. Panamá

RESUMEN. Se realizó un estudio de las condiciones del procesamiento del café de exportación en 15 beneficios, ubicados en Chiriquí, región occidental de Panamá. Además se analizaron 21 muestras de café procesado (grano verde), provenientes de los beneficios. Las muestras fueron analizadas microbiológicamente y se cuantificaron las Aflatoxinas totales (B1, B2, G1 y G2) y Ocratoxina A (OTA), mediante el método de inmunoafinidad ELISA. Se determinó un límite de detección de 0,017 ng/mL, para la Ocratoxina A, lo que equivale a una concentración de 0,829 µg/kg en la muestra, y un límite de detección de 0,027 ng/mL, para las Aflatoxinas totales, lo que equivale a una concentración de 1,350 µg/kg de Aflatoxinas totales. En la muestra, se encontró que cuatro de las 21 (19%) resultaron positivas a la presencia de Ocratoxina A y tres, a la presencia de Aflatoxinas totales (14%). Las muestras presentaron niveles de Ocratoxina A en el rango de 4,90-37,73 µg/kg; sólo tres de ellas superaron el límite máximo permitido por la Unión Europea, para la concentración de Ocratoxina, que es de 5,0 µg/kg. Las Aflatoxinas totales se encontraron en el rango de 1,51- 1,93 µg/kg, por debajo de los 10 µg/kg, que es el límite máximo permitido en el café por la Unión Europea. Los resultados nos indican que el procesamiento de café producido en Panamá cumple satisfactoriamente con los estándares internacionales de manejo poscosecha, lo que conduce a una baja incidencia de hongos productores de micotoxinas y niveles muy bajos de micotoxinas.

Palabras clave: Micotoxinas, Ocratoxina, Aflatoxina, café procesado, método de inmunoafinidad ELISA, manejo poscosecha, Panamá.

SUMMARY. Levels of Ochratoxin A and total Aflatoxins in Panamanian exportation coffee by an ELISA

Method. A study about processing conditions of exportation coffee in 15 benefits located in Chiriquí, western region of Panama, was conducted. In addition, 21 samples of processed coffee (green beans), from the benefits, were analyzed. The samples were microbiologically tested in order to quantify total aflatoxins (B1, B2, G1 and G2) and Ochratoxin A (OTA), using the immunoaffinity ELISA method. A detection limit of 0.017 ng/mL, was determined for Ochratoxin A, which is equivalent to a concentration of 0.829 µg/kg, and a detection limit of 0.027 ng/mL, for total aflatoxins, which is equivalent to a concentration of 1.350 µg/kg. It was found that four (19%) out of the 21 samples were positive to the presence of Ochratoxin A and three (14%) to the presence of total aflatoxins. Samples showed levels of Ochratoxin A in the range 4.90 - 37.73 µg/kg; only three of them exceeded the maximum limit allowed by the European Union, for the concentration of Ochratoxin, which is of 5.0 µg/kg. Total aflatoxins were found in the range 1.51 - 1.93 µg/kg, below 10µg/kg which is the maximum limit allowed for coffee by the European Union. The results indicate that the processing of coffee produced in Panama successfully meets international standards for postharvest handling, which leads to a low incidence of mycotoxins and very low levels of mycotoxin-producing fungi.

Key words: Mycotoxin, Ochratoxin, aflatoxin, processed coffee, immunoaffinity ELISA method, post-harvest handling, Panama.

INTRODUCCIÓN

Para evaluar los riesgos por exposición a las micotoxinas, se requiere información disponible sobre datos toxicológicos y relativos a su presencia en diversos productos básicos (1). Las micotoxinas están presentes en productos agrícolas infectados, y se conoce que su distribución es extremadamente heterogénea, especialmente en café crudo (2). En la práctica, el incremento o

disminución en los niveles de micotoxinas, en cualquier producto, depende del clima, condiciones de almacenamiento y procesamiento (3). Las micotoxinas son producidas por *Penicillium verrucosum* y miembros de *Aspergillus* subgenus *Circundati*, sección *Circundati*, como: *A. flavus*, *A. melleus*, *A. alliaceus*, *A. parasiticus*, *P. nordicum*, *P. commune*, *P. roqueforti* (4; 5). Las Aflatoxinas son producidas por un número de especies de *Aspergillus*, de las cuales las más im-

portantes en alimentos son *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus*. *A. flavus* produce Aflatoxinas B, mientras que *A. parasiticus* produce las formas B y G. Las Aflatoxinas son las únicas micotoxinas, que no se descomponen por el calor y pueden persistir después del proceso de beneficiado (6). La Ocratoxina A es una micotoxina producida por ciertas especies de *Aspergillus* y *Penicillium*. La Ocratoxina A es un metabolito secundario, su estructura molecular está formada por un anillo de 3,4- dihidro metil isocumarina unido, por medio de su grupo carboxilo y a través de un enlace tipo amida, a una molécula de L-β-fenilalanina (7).

En la actualidad, existen reglamentaciones en donde se indican los límites máximos de micotoxinas permitidos en alimentos (1). En cuanto a las Aflatoxinas totales (suma de B1, B2, G1 y G2), la Unión Europea establece un límite de 10,0 µg/kg para frutos con cáscara destinados a ser sometidos a un proceso de selección u otro tratamiento físico, antes del consumo humano directo o de su uso como ingredientes de productos alimenticios. Respecto a la Ocratoxina A, se ha establecido un límite de 5,0 µg/kg para el café tostado en grano y café tostado molido, excluido el café soluble, y para el café soluble (café instantáneo), de 10 µg/kg. La República de Panamá no cuenta con normativas legales sobre micotoxinas en productos alimenticios.

Las Ocratoxinas y las Aflatoxinas se encuentran algunas veces en muy bajas concentraciones en los alimentos, requiriendo métodos de cuantificación sensibles, confiables, con alto grado de sensibilidad y reproducibles. Entre los métodos de cuantificación más utilizados se encuentran los basados en separación: HPLC con detección por espectrofotometría (8-10), fluorometría acoplado con espectrometría de masas (11), cromatografía en capa fina con densitometría de manchas fluorescentes (12), cromatografía de gas y electroforesis capilar; y los inmunoensayos, como el ensayo inmunoabsorbente, ligado a enzima (ELISA) (13).

Se ha reportado niveles de Ocratoxina A en café instantáneo de 0,32 a 6,40 µg/kg (14), en café tostado 2,17-11,9 µg/kg (15, 16), café verde y café soluble, 2,7 µg/kg y 0,43 µg/kg, respectivamente (15).

Panamá es un país productor de café, siendo la provincia de Chiriquí la que registra mayor producción, principalmente de café para la exportación, el cual ha alcanzado altos precios en el mercado internacional, por su excelente calidad.

En esta investigación se plantearon los siguientes objetivos: evaluar las condiciones del manejo poscosecha del café en regiones productoras de la provincia de Chiriquí, determinar la presencia de Ocratoxina A y Aflatoxinas totales en granos de café procesado y los niveles en que se encuentran, para comprobar si cumplen con las normas internacionales.

MATERIALES Y MÉTODOS

Encuesta para obtener información sobre ubicación de beneficios, tiempo de cosecha del café y manejo poscosecha

Se elaboró una encuesta con 8 preguntas cerradas para obtener información relacionada con el manejo poscosecha del café (infraestructura, método de procesamiento, fuente de agua utilizada en el procesamiento, secado del grano y almacenamiento), en beneficios de Boquete, Bugaba, Dolega y Renacimiento de la provincia de Chiriquí. A 17 miembros de las asociaciones de caficultores de las áreas en estudio, se les aplicó la encuesta y se obtuvo información sobre el cultivo de café, aspectos relacionados con el beneficiado del café y las técnicas de poscosecha que estos caficultores practican. Las encuestas fueron procesadas utilizando Excel 2007, con la herramienta de tablas y gráficas dinámicas y porcentaje.

Protocolo de muestreo y tratamiento de las muestras de café

Para el estudio, se consideraron 15 beneficios de la provincia de Chiriquí, que reciben café de 270 fincas productoras, que representan el 100% de la producción de café de exportación en Panamá. Se tomaron 21 muestras de estos beneficios para realizar los distintos ensayos. Las muestras se colectaron el mismo día en cada beneficio, tomando porciones (1 kg aproximadamente), al azar de los lotes que se encontraban en el instante de la colecta. Las muestras se colocaron en bolsas plásticas con cierre hermético y se enviaron al Centro de Investigación en Recursos Naturales de la Universidad Autónoma de Chiriquí, para los análisis fisicoquímicos, microbiológico y para los ensayos de ELISA, con el fin de determinar las micotoxinas.

Determinación de humedad de granos de café

La determinación de humedad se realizó de acuerdo al método oficial de la AOAC 968.11 (16). Se pesaron 20 g de muestra en crisoles previamente secados en un horno y llevados a peso constante. La

muestra se colocó en un horno a 100°C por 8 h, se enfrió en un desecador y se pesó. La humedad se determinó por diferencia del peso inicial y final de la muestra de granos de café.

Análisis microbiológico de las muestras de café

Para el análisis microbiológico, las muestras de café fueron desinfectadas con hipoclorito de sodio al 2% por 10 s, seguido de alcohol 95% por 10 s y posteriormente con agua destilada esterilizada. Se utilizó un medio de cultivo selectivo (Rosa de Bengala, PDA, agar triptófano soya) con antibiótico (cloranfenicol al 0,5%). Se colocaron en platos Petri, con el medio selectivo para su crecimiento, 4 fragmentos de cada muestra de café desinfectada. Lo mismo se hizo con granos de café secos sin desinfectar. El período de incubación fue de 120 h a una temperatura de 25°C en una incubadora con control de temperatura. Después del período de incubación, se procedió al aislamiento de cada colonia, en plato Petri con medio selectivo. Estas colonias se cultivaron en agar papa-zanahoria para la purificación y esporulación masiva. Se realizó la incubación a 25°C por 120 horas y se procedió a la revisión microscópica e identificación de los hongos, utilizando la clave de Barnett&Hunter (17).

Análisis de los niveles de Ocratoxina A y

Aflatoxinas totales, utilizando el método ELISA

Para la extracción de la Ocratoxina A, se emplearon siete gramos de la muestra molida y se extrajeron con 35 mL de metanol al 70%. Se agitó por cinco minutos en un agitador mecánico horizontal; posteriormente, la muestra se filtró, y se tomó del filtrado una parte para diluir en una relación 10:1 con metanol al 70%. La determinación de la Ocratoxina A se hizo siguiendo la metodología proporcionada por el kit de ELISA para Ensayo Cuantitativo de Ocratoxina A en café, cacao y especias (18.); las lecturas de la densidad óptica se hicieron en el analizador automatizado BioteK ELx800.

Para la extracción de Aflatoxinas totales, se utilizaron siete gramos de la muestra de café molido, que se extrajeron con 35 mL de metanol al 80%. Se agitó por dos minutos en un agitador mecánico horizontal, se filtró, se tomó una parte del filtrado y se diluyó en una relación de 1:10 con buffer de ensayo (PBS con 0,05%, Tween 20). La determinación de las Aflatoxinas totales se hizo siguiendo la metodología proporcionada por el kit de ELISA para Ensayo de Aflatoxinas totales, baja matriz (17); las lecturas de la

densidad óptica se realizaron en el analizador automatizado BioteK ELx800. Las curvas de calibración para la cuantificación de Aflatoxinas totales y Ocratoxina A, fueron realizadas con patrones de las siguientes concentraciones: Aflatoxinas (ng/mL): 0, 0,02, 0,05 y 0,1 y Ocratoxina A (ng/mL): 0, 0,02, 0,05, 0,1 y 0,2. Los datos obtenidos fueron analizados mediante estadística descriptiva (promedio y desviación estándar), utilizando Excel 2007.

RESULTADOS

Se aplicó una encuesta a 13 beneficios de café, específicamente en los distritos de Boquete, Bugaba, Dolega y Renacimiento, ubicados en la provincia de Chiriquí. Según los resultados de la encuesta, el 69% de las empresas beneficiadoras de café reciben este producto de sus proveedores, directamente en sus beneficios y el 31% utiliza recibideros. El 92% de las beneficiadoras practica el beneficiado por vía húmeda y el restante, por vía seca. El 69% del agua utilizada para el beneficiado proviene de acueductos y el 31%, de agua de río. Para el proceso de fermentación, se usan tinajas recubiertas con cemento (46%). El tiempo de fermentación del café varía entre las ocho y las 48 h en los beneficios.

En la Figura 1, se presentan los resultados de la encuesta con relación al tipo de infraestructura y almacenamiento del café en los beneficios.

En la Tabla 1 se presentan los resultados del análisis microbiológico realizado a las 21 muestras de café colectadas en los beneficios de las áreas del estudio. Sólo en una muestra del beneficio A, ubicado en Bugaba, se aisló e identificó un hongo productor de micotoxinas, perteneciente a la especie *Penicillium* sp.

En la Tabla 2 se presentan los resultados del porcentaje de humedad que se encontraron en los granos de café procesado de los distintos beneficios estudiados. Las muestras de café contienen una humedad entre 9,2% y 38,6%, con una media de 13,8% \pm 6,3% de desviación estándar.

En la Figura 2, se muestran las curvas de calibración realizadas para el ensayo de cuantificación de Ocratoxina A y Aflatoxinas totales, por la técnica ELISA. El análisis de regresión lineal de la curva para Ocratoxina A presentó un coeficiente de regresión de $R^2=0,9964$. El análisis estadístico descriptivo efectuado a la curva nos permitió calcular un límite de de-

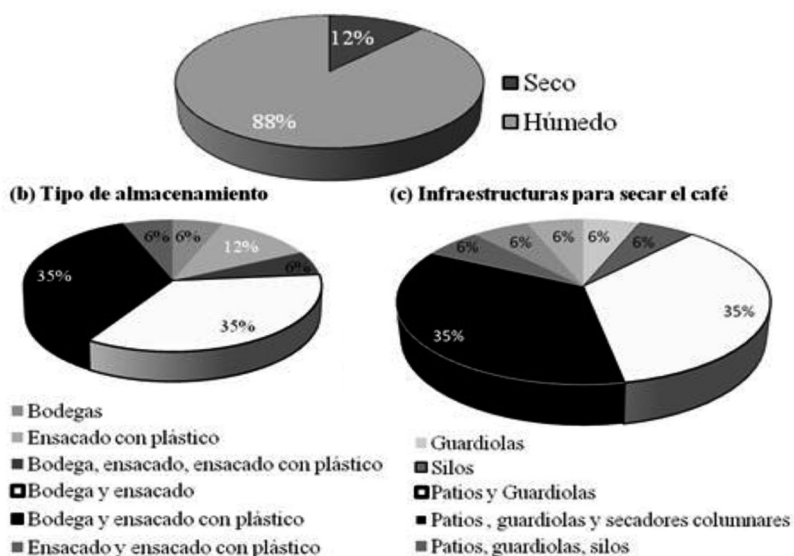


FIGURA 1. Resultado de las encuestas aplicadas a los beneficios de café en la provincia de Chiriquí.

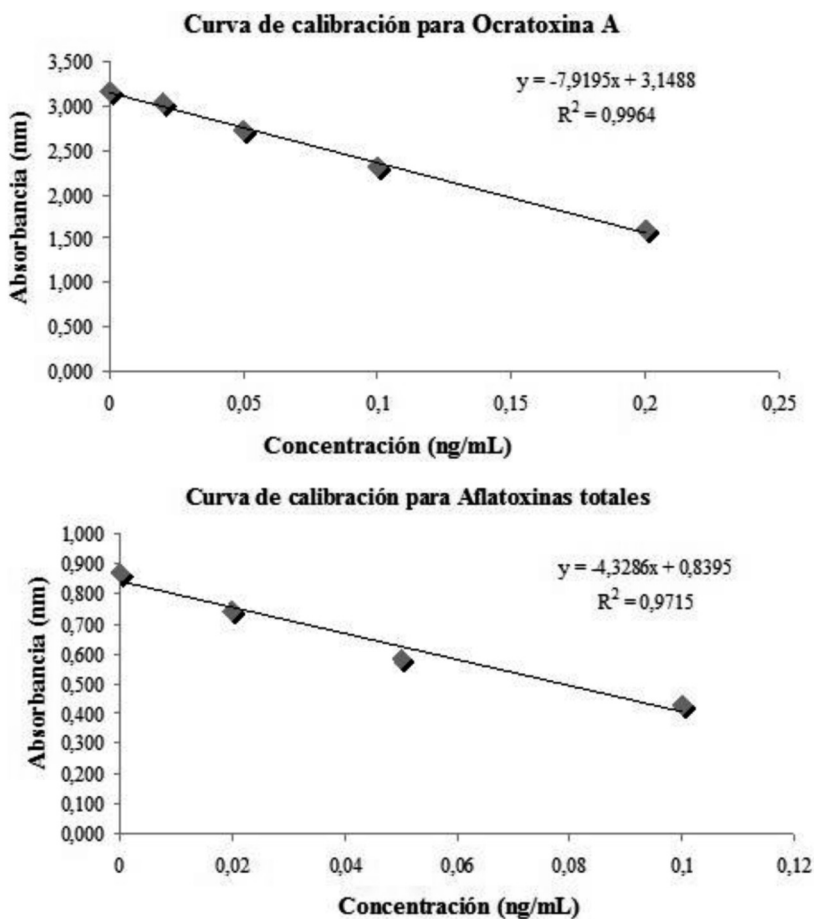


FIGURA 2. Curva de Calibración para Ochratoxina A (a) y Aflatoxinas totales (b).

tección de 0,017 ng/mL, lo que equivale a una concentración de 0,829 µg/kg en la muestra. El análisis de regresión lineal de la curva para Aflatoxinas totales presentó un coeficiente de regresión de $R^2=0,9715$. El análisis estadístico descriptivo realizado a la curva, nos permitió calcular un límite de detección de 0,027 ng/mL, lo que equivale a una concentración de 1,350 µg/kg de Aflatoxinas totales en la muestra.

DISCUSIÓN

La calidad inicial de los granos cosechados, la presencia de hongos productores de micotoxinas, así como las condiciones del sitio de procesamiento, pueden contribuir a la formación de micotoxinas durante el beneficiado húmedo (8).

Con relación al almacenamiento del café, el 46% de los beneficios encuestados guarda su café en sacos y un 38% lo hace en sacos de fibras recubiertos con plástico. Las posibilidades de que el café, almacenado, vuelva a humedecerse, dependen del paso de la humedad de los suelos y muros húmedos, goteras o lluvia impulsada por el viento, inmovilidad del aire y la mezcla de café seco con café húmedo (11).

Si el grano de café, antes del almacenamiento, presentaba contaminación por hongos productores de micotoxinas y la humedad en el área de almacenamiento es alta, el crecimiento de biomasa fúngica se convertirá en un problema crítico. El café se comercializa, mayoritariamente, en grano verde y puede ser almacenado hasta por tres años bajo condiciones de almacenaje controladas. Estas condiciones son: que el grano sea de buena calidad y que el contenido de humedad máxima sea de 12 a 13%, una humedad relativa del ambiente entre 50 a 70% y que la tem-

TABLA 1 Resultados del análisis microbiológico realizado a las muestras de café procesado en los beneficios de Chiriquí, Panamá

Beneficio	Muestra	Hongos identificados
A	1	<i>Cladosporium</i> sp. <i>Gibelula</i> sp. <i>Penicillium</i> sp.
	2	<i>Cunninghamella</i> sp. <i>Gibelulasp</i> sp.
B	3	<i>Cunninghamella</i> sp.
	4	<i>Cladosporium</i> sp. <i>Fusarium</i> sp.
C	5	<i>Cladosporium</i> sp. <i>Gibelula</i> sp.
D	6	<i>Cladosporium</i> sp. <i>Gibelula</i> sp. <i>Mucor</i> sp.
E	7	<i>Mucor</i> sp. <i>Fusoma</i> sp. <i>Gibelula</i> sp.
	8	<i>Cunninghamella</i> sp. <i>Mucor</i> sp.
F	9	<i>Mucor</i> sp. <i>Cladosporium</i> sp.
G	10	<i>Mucor</i> sp. <i>Cladosporium</i> sp. <i>Gibelula</i> sp.
	11	<i>Gibelula</i> sp.
H	12	<i>Cladosporium</i> sp.
	13	<i>Mucor</i> sp. <i>Cladosporium</i> sp.
I	14	<i>Mucor</i> sp. <i>Cladosporium</i> sp.
J	15	<i>Mucor</i> sp.
K	16	<i>Arthrosporium</i> sp. <i>Fusarium</i> sp. <i>Trichoderma</i> sp.
L	17	<i>Arthrosporium</i> sp. <i>Cladosporium</i> sp.
M	18	<i>Fusarium</i> sp. <i>Mucor</i> sp.
N	19	<i>Mucor</i> sp.
O	20	<i>Fusarium</i> sp. <i>Mucor</i> sp.
	21	<i>Arthrosporium</i> sp. <i>Cladosporium</i> sp.

TABLA 2 Contenido de humedad (%) de las muestras de café procesado en los beneficios de Chiriquí, Panamá

Beneficio	Muestra	*Humedad (%)	Beneficio	Muestra	*Humedad (%)
A	1	13,1 ± 0,1	I	14	9,2 ± 0,1
	2	13,6 ± 0,1			
B	3	11,9 ± 0,1	J	15	10,0 ± 0,2
	4	11,1 ± 0,2			
C	5	10,2 ± 0,2	K	16	9,8 ± 0,3
D	6	11,2 ± 0,3	L	17	14,3 ± 0,1
E	7	21,4 ± 0,2	M	18	9,4 ± 0,2
F	8	11,9 ± 0,3			
G	9	10,9 ± 0,1	N	19	16,0 ± 0,2
	10	16,5 ± 0,2			
H	11	13,2 ± 0,1	O	20	15,4 ± 0,2
	12	11,4 ± 0,1			
	13	11,2 ± 0,3		21	38,6 ± 0,2

*Promedio de 3 mediciones
Media ± SD

peratura se mantenga inferior a los 26°C. Sin embargo, el color y sabor del café van cambiando, poco a poco, incluso con las mejores condiciones de almacenamiento (20, 21).

Sólo en una muestra del beneficio A, ubicado en Bugaba, se aisló e identificó el hongo perteneciente a la especie *Penicillium* sp. El hongo del género *Aspergillus* no se encontró en ninguna de las muestras de café procesado. Los hongos del género *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* y *Cladosporium*, contaminantes naturales del café, han sido detectados en las diferentes etapas del manejo del producto, y su desarrollo se ve influenciado por diferentes factores, como humedad (22), condiciones ambientales (23), composición del café (24), entre otras. La proliferación del hongo del género *Aspergillus* no se da en las cerezas de café frescas, debido a que otras especies

microbianas presentes (entre ellos, hongos antagonistas de los productores de micotoxinas), protegen de manera natural la cereza de la invasión (25).

Un parámetro que favorece la contaminación por micotoxinas es la actividad de agua (aw), que se define como la relación que existe entre la presión de vapor de un alimento dado en relación con la presión de vapor del agua pura a la misma tem-

TABLA 3 Niveles de Ocratoxina A y Aflatoxinas totales en muestras de café procesado

Beneficio	Muestra	*Ocratoxina A (µg/kg)	*Aflatoxinas Totales (µg/kg)
Beneficio A	1	27,76 ± 0,57	ND
	2	33,79 ± 0,54	ND
Beneficio J	15	4,90 ± 0,15	ND
Beneficio N	19	ND	1,93 ± 0,06
Beneficio O	20	ND	1,73 ± 0,69
	21	37,73 ± 0,35	1,51 ± 0,40

*Promedio de 3 mediciones

Media ± SD

N.D.: no detectada.

peratura. Es un parámetro estrechamente ligado a la humedad del alimento, lo que permite determinar su capacidad de conservación, puesto que determina la posibilidad de crecimiento microbiano (26). Para la producción de Ocratoxinas, la a_w óptima es de 0,87-0,90, dependiendo de la temperatura (10); si hay una humedad excesiva ($a_w \geq 0,95$), prosperan hongos hidrofílicos de rápido crecimiento, así como las levaduras, que compiten por el sustrato y reprimen el crecimiento de los hongos productores de Ocratoxina A. Si hay condiciones de sequedad, actividad de agua inferior a 0,76, el hongo productor de micotoxinas no podrá desarrollarse (21). Los hongos del género *Aspergillus* y *Penicillium* no se desarrollan en condiciones de humedad excesiva, como en las cerezas de café frescas, debido a la presencia de las especies antagónicas, hidrofílicas de rápido crecimiento, como es el caso de los hongos del género *Cladosporium* y *Mucor*, los cuales fueron aislados e identificados en 11 de las muestras de granos de café procesado. Además se ha reportado que la acción de bacterias y hongos, entre ellos especies de *Mucor sp.*, como son *Mucor ambiguis*, *Corynebacterium rubrum*, *Aspergillus niger* y *Trichoderma viride*, modifican la estructura de la Aflatoxina B₁ (27).

Algunos autores (20,28) mencionan en sus estudios, que la determinación del contenido de humedad es una herramienta simple pero muy útil, como parámetro por considerar, para el almacenaje de los granos de café verde. Se considera un rango de contenido de agua óptimo para el almacenamiento, entre 8,0% y 12,5% (28), aunque otros autores mencionan que un contenido de humedad de hasta el 14,5% puede prevenir el crecimiento de hongos durante el almacenaje

(20). En cuanto a los hongos del género *Aspergillus* y *Penicillium*, se indica que estas especies de hongos requieren para su desarrollo una menor humedad relativa ambiental (70 - 90%) y contenido de agua en los granos de 15 - 20% (10).

En las muestras analizadas, se encontró un valor máximo de humedad de 38,6% que corresponde a la muestra del Beneficio O, distrito de Dolega, y un valor mínimo de humedad de 9,2%, que corresponde a la muestra del Beneficio I, distrito de Renacimiento. Nueve de las 21 muestras de café procesado presentaron porcentajes de humedad por encima de 12,5%, que es el valor máximo considerado como bueno para almacenar el café y evitar el crecimiento de hongos. Ninguna de las muestras presentó un porcentaje de humedad por debajo de 8,0%, que es el valor mínimo aceptado como bueno para almacenar el café. Sin embargo, solo una muestra del Beneficio A presentó contaminación con *Penicillium*. Este resultado sugiere que a pesar de que las muestras fueron almacenadas, en su gran mayoría, por más de un mes e incluso un año, las condiciones de almacenamiento (temperatura y humedad relativa) fueron aceptables, evitando el crecimiento de hongos productores de micotoxinas.

Se detectó Ocratoxina A solo en cuatro de las 21 muestras analizadas (Tabla 2). Estas muestras fueron colectadas en los beneficios A y J (Bugaba) y Beneficio O (Dolega). Las concentraciones de la Ocratoxina A se detectaron en el rango de 4,90-37,73 µg/kg. La muestra 21 mostró el contenido más alto de Ocratoxina A (37,73 µg/kg), lo que tiene mucha relación con el porcentaje de humedad, ya que esa misma muestra tuvo el porcentaje de humedad más alto de los granos de 38,61%. En el caso de la determinación de Aflatoxinas totales, de las 21 muestras analizadas, solo 3 tres presentaron niveles detectables de Aflatoxinas en un rango de 1,51- 1,93 µg/kg.

El bajo número de muestras que presentan micotoxinas indica que el manejo poscosecha del café, es apropiado. El alto riesgo de contaminación se da en frutos que han estado en contacto con el suelo, durante las operaciones de secado en los patios. La contaminación disminuye cuando el piso donde se realiza la operación de secado es cubierto con asfalto o cemento (29). En análisis de micotoxinas realizados a café en grano verde, café tostado molido y café soluble, los niveles de contaminación por OTA, fueron de 5,77 µg/kg, 1,00 µg/kg y 1,99 µg/kg, respectivamente, lle-

gándose a la conclusión de que el promedio de la concentración de OTA en café verde en granos es, al menos, seis veces más alta que en café tostado molido y tres veces más alta que en café soluble. Con ello queda demostrado que las diferentes condiciones térmicas aplicadas a las muestras para su procesamiento, reducen la concentración de OTA. En la práctica, el incremento o descenso en los niveles de micotoxinas en cualquier producto, es dependiente de las condiciones climáticas, almacenamiento y condiciones de procesamiento (15); por ejemplo, en la torrefacción del café, se puede lograr una disminución de Ocratoxina de 65 al 100% (30).

CONCLUSIONES

Con base en los resultados obtenidos del análisis de las condiciones del manejo poscosecha del café, en los beneficios de la provincia de Chiriquí, Panamá, podemos concluir que la mayoría de los beneficios realizan un procesamiento del café por vía húmeda; que secan el café en patios, guardioles y secadores columnares y hacen el almacenamiento en sacos de fibra recubiertos con plástico. Bajo estas condiciones de procesamiento y debido a la presencia de hongos antagonistas, como *Mucor* y *Cladosporium*, los cuales fueron identificados en el 81% de las muestras analizadas, se reduce la presencia de hongos productores de micotoxinas. Sólo tres de las 21 muestras presentaron concentraciones de OTA superiores al límite máximo permitido para café normado por la Unión Europea, que es de 5 µg/kg. Con esta investigación se demuestra el excelente manejo poscosecha del café de exportación de Panamá, lo cual asegura la disminución de los riesgos de contaminación por micotoxinas. Se espera en el futuro realizar análisis de micotoxinas en el café tostado y molido de venta en el mercado nacional, para confirmar si el proceso de tostado disminuye o elimina la presencia de micotoxinas en el café.

AGRADECIMIENTOS

Se expresa la gratitud a la Secretaría Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación (SENACYT), dentro del marco del Programa de Fortalecimiento de los Procesos de Investigación, Educación e Innovación Tecnológica, por el financiamiento otorgado para la

ejecución del proyecto IDR10-005. Asimismo, al Ing. Alexis Bonilla, del Ministerio de Desarrollo Agropecuario (MIDA), Región I de Chiriquí. De igual manera, a los propietarios, administradores y técnicos de los beneficios de café, por la información y muestras de café suministradas.

REFERENCIAS

1. FAO. Reglamentos a nivel mundial para las micotoxinas en alimentos y en las raciones en el año 2003, 2004.
2. Stegen G.v.d., Jorissen U., Pittet A., Saccon M., Steiner W., Vincenzi M., Winkler M., Zapp J., Schlatter C. Screening of European coffee final products for occurrence of ochratoxin A (OTA). *Food Addit Contam* 1997; 14(3): 211-216.
3. Thirumala-Devi K, Mayo MA, Reddy G, Delfosse P, Reddy DVR. Production of polyclonal antibodies against ochratoxin A and its detection in chilies by ELISA. *J Agric Food Chem* 2000; 48: 5079-5082.
4. Bayman P., Baker JL, Doster, MA, Michailides TJ, Mahoney NE. 2002. Ochratoxin production by the *Aspergillus ochraceus* group and *Aspergillus alliaceus*. *Appl Environ Microb* 68(5): 2326-2329.
5. Larsen TO, Gareis M, Frisvad JC. Cell cytotoxicity and mycotoxin and secondary metabolite production by common penicillia on cheese agar. *J Agric Food Chem* 2002; 50: 6148-6152.
6. Pitt JJ, Taniwaki MH, Cole MB. Mycotoxin production in major crops as influenced by growing, harvesting, storage and processing, with emphasis on the achievement of food safety objectives. *Food Control* 2013; 32: 205-215.
7. O'Callaghan J, Dobson ADW. Molecular characterization of Ochratoxin A biosynthesis and producing fungi. *Adv Appl Microbiol* 2006; 58: 227-243.
8. Batista LR, Chalfoun SM, Silva CF, Cirillo M, Varga EA, Schwan RF. Ochratoxin A in coffee beans (*Coffea arabica* L.) processed by dry and wet methods. *Food Control* 2009; 20: 784-790.
9. Vecchio A, Mineo V, Planeta D. Ochratoxin A in instant coffee in Italy. *Food Control* 2012; 28: 220-223.
10. Tozlovanu M, Pfohl-Leskowicz A. Ochratoxin A in roasted coffee from french supermarkets and transfer in coffee beverages: comparison of analysis methods. *Toxins* 2010; 2: 1928-1942.
11. Zheng MZ, Richard JL, Binder J. A review of rapid methods for the analysis of mycotoxins. *Mycopathologia* 2006; 161: 261-273.
12. Carrillo L. *Aspergillus*. Los hongos de los alimentos y forrajes. Universidad de Salta 2003; 4: 44-55.

13. Turner NW, Subrahmanyam, S., Piletsky, S.A. Analytical methods for determination of mycotoxins: A review. *Anal Chim Acta* 2009; 632:168-180.
14. Coronel MB, Marin S, Cano G, Ramos AJ, Sanchis V. Ochratoxin A in Spanish retail ground roasted coffee: occurrence and assessment of the exposure in Catalonia. *Food Control* 2011; 22: 414-419.
15. Vanesa D, Ana P. Occurrence of Ochratoxin A in coffee beans, ground roasted coffee and soluble coffee and method validation. *Food Control* 2013; 30: 675-678.
16. AOAC. Official Methods of Analysis, Association of Official Analytical Chemists, Washington DC, 2005.
17. Barnett HL, Hunter, B.B. Illustrated genera of imperfect fungi. New York, Macmillan Publishing, 1987.
18. Helica Biosystems. Inc. Quantitative Assay for Ochratoxin A in coffee, cocoa and spices (Cat. No. 9610CH01COF-96). 2011. <http://www.helica.com/assets/OCHRATOXIN%20COFFEE%20ASSAY%20%2096%20copy.pdf>.
19. Helica Biosystems, Inc. Total Aflatoxin Assay_Low Matrix (Cat. No. 981AFLM01M-96). 2011. http://www.helica.com/assets/Total%20Aflatoxin96_v.02.pdf.
20. Bucheli P, Kanchanomai C, Meyer I, Pittet A. Development of ochratoxin A during Robusta (*Coffea canephora*) coffee cherry drying. *J Agric Food Chem* 2000; 51:1358-1362.
21. FAO. Enhancement of coffee quality through the prevention of mould formation. Final Technical Report. R. Clarke, J.M. Frank y J. Jackson ed., Roma, 2006.
22. Martins ML, Martins HM, Gimeno A. Incidence of microflora and ochratoxin A in green coffee beans (*Coffea arabica*). *Food Addit and Contam* 2003; 20(12): 1127-1131.
23. Batista LR, Chalfoun SM, Prado G, Schwan RF, Wheals A. E. Toxigenic fungi associated with processed (green) coffee beans (*Coffea arabica L.*). *Int. J. Food Microbiol.* 2003; 85: 293-300.
24. Silva CF; Schwan RF; Dias ES; Wheals AE. Microbial diversity during maturation and natural processing of coffee cherries of (*Coffea arabica L.*) in Brazil *Int J Food Microbiol* 2000; 60: 251-260.
25. Suarez-Quiroz M, Gonzales-Ríos O, Barel M, Guyot B, Schorr-Galindo S, Guiraud JP. Effect of the post-harvest processing procedure on OTA occurrence in artificially contaminated coffee. *Int J Food Microbiol* 2005; 103(3): 339-345.
26. Barkai-Golan R, Paster N. (Ed.). *Mycotoxins in fruits and vegetables*. San Diego, Academic Press, 2008.
27. Astoviza MB. y Socorrás-Suárez, M.M. Micotoxinas y cáncer. *Rev Cubana Invest Biomed* 2005; 24(1): 54-59.
28. Reh CT, Gerber A, Prodolliet J, Vuataz G. Water content determination in green coffee. Method comparison to study specificity and accuracy. *Food Chem* 2006; 96: 423-430.
29. Batista LR, Chalfoun SM, Silva CR, Cirillo M, Varga E., Schwan, R.F. Ochratoxin A in coffee beans (*Coffea arabica L.*) processed by dry and wet methods. *Food Control* 2009; 20: 784-790.
30. Codex Alimentarius. Código de prácticas para prevenir y reducir la contaminación de ocratoxina A en el café CAC/RCP 69-2009, 2009.

Recibido: 23-01-2014
 Aceptado: 16-05-2014