



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLÁN

*Detección de aflatoxinas y ocratoxina
en granos de café mexicano*

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

INGENIERA EN ALIMENTOS

P R E S E N T A:

FERNANDEZ RAMIREZ PAULA

ASESOR: Dr. Carolina Moreno Ramos
COASESOR: Dr. Juan Carlos del Río García



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.

Índice

Índice general	IV
Índice de tablas	IV
Índice de figuras	V
Capítulo 1.	9
1.1 Antecedentes del café	9
1.1.2 Orígenes y generalidades del café	9
1.1.3 Historia del café	10
1.1.4 Expansión del café en el mundo	10
1.1.5 Clasificación botánica del café	12
1.1.5.1 Taxonomía	12
1.1.6 Morfología de la planta del café	12
1.1.6.1 Raíz	13
1.6.1.2 Tallo y rama.....	14
1.6.1.3 Hojas.....	15
1.6.1.4 Flores	15
1.6.1.4 Fruto	15
1.6.1.6 Semilla.....	16
1.6.1.7 Grano caracol	16
1.6.1.8 Cereza.....	17
1.1.7 Composición química del café	18
1.1.8 Producción mundial y nacional del café	27
1.1.8.1 Países productores de café	28
1.1.8.3 Producción, Exportación, Importación y consumo Nacional	31
1.1.9 Tecnología y procesado del café	32
1.1.10 Proceso del café	35
1.2 Hongos que atacan el café.....	38
1.2.1 Definición de hongo	38
1.2.2 Clasificación de los hongos que invaden el café	39
1.2.3 Hongos que producen toxinas	39
1.2.4 Consecuencias de los hongos en el café.	39

1.2.5 Factores determinantes en el desarrollo de hongos.....	40
1.3 Genero <i>Aspergillus</i>	43
1.3.1 Descripción del género <i>Aspergillus</i>	43
1.3.1.2 <i>Aspergillus Ochraceus</i>	44
1.3.1.3 <i>Aspergillus Flavus</i>	46
1.4 Micotoxinas principales en café	47
1.4.1 Ocratoxinas	47
1.4.1.2 Estructura química de Ocratoxina	48
1.4.1.3 Presencia de las Ocratoxinas en el café	49
1.4.1.4 Consecuencia de la ocratoxina en café.....	49
1.4.2 Aflatoxinas	50
1.4.2.1 Estructura química de Aflatoxina	51
1.4.2.2 Presencia de las Aflatoxinas en el café	51
1.5 Normatividad e ingesta diaria.....	53
1.5.1 Codex alimentario	53
1.5.2 Límites a nivel mundial para las aflatoxinas	54
1.5.3 Límites a nivel mundial para la ocratoxina	55
1.6 Técnicas para la determinación de hongos.....	58
1.6.1 Métodos de análisis de micotoxinas	58
1.6.1.2 Métodos de extracción y purificación.....	58
1.6.1.3 Extracción con columnas de intercambio iónico.....	59
1.6.1.4 Extracción con columnas de inmutioafinidad	59
1.6.1.5 Técnicas de exploración o screening.....	59
1.6.1.6 Extracción asistida por microondas	60
1.6.1.7 Técnicas de Confirmación	60
1.7 Objetivos.....	61
2.0 Metodología experimental	61
2.1 Cuadro Metodológico	62
2.2. Cuadro.....	62
2.2 Materiales y métodos.....	63
2.2.1 Obtención de las muestras.....	63
2.3 Determinación de microbiota	66
2.4 Determinación de las micotoxinas	66

2.4.1 Determinación de Ocratoxina A.....	66
3.0 Resultados y discusión	69
3.1. Microbiota en muestras de granos de café	69
3.2 Resultados promedio de Ocratoxina.....	69
3.3 Resultados promedio de Aflatoxina	71
3.4 Ocratoxina identificada en tiendas comerciales	73
3.7 Ocratoxina identificada en tiendas especializada.....	74
3.6 Ocratoxina identificada en tienda online	75
3.7 Resultados comparativos de ocratoxina	76
3.8 Aflatoxina identificada en tienda especializada	77
3.9 Aflatoxina identificada en tienda comercial	78
4.0 Aflatoxina identificada en tienda.....	79
4. 1 Resultados comparativos de aflatoxina.....	80
Conclusiones	81
Recomendaciones	83
Bibliografía	84

Índice de tablas

Tabla 1. Cronología del café.....	10
Tabla 2. Clasificación botánica del café	12
tabla 3. tamaños del grano de café.....	18
Tabla 4. Composición química de la semilla verde de <i>coffea arabica</i> y <i>coffea canephora</i>	19
Tabla 5. destino de las exportaciones mexicanas.....	31
Tabla 6. Factores para el desarrollo de hongos	40
Tabla 7. Temperatura mínima desarrollo en la producción de micotoxinas	42
Tabla 8. Temperatura y aw exigidas para el desarrollo de mohos y producción de algunas micotoxinas	43
Tabla 9. Subgéneros y secciones del género <i>aspergillus</i>	44
Tabla 10. Características de <i>A. ochraceus</i>	46
Tabla 11. Características de <i>A. Flavus</i>	47
Tabla 12. Límites de ocratoxina en diferentes tipos de café en el mundo	56
Tabla 13. Incidencia de ocratoxina a en café tostado comercial en todo el mundo	57

Índice de figuras

Figura 1. Tallo y ramas del café.....	14
Figura 2. Hojas del café.....	15
Figura 3. Flores del café.....	15
Figura 4. Fruto del café.....	15
Figura 5. Partes que conforman el grano de café.....	18
Figura 6. Estructura química de la cafeína.....	21
Figura 7. Estructuras químicas de (a) trigolelina y (b) ácido nicotínico.....	22
Figura 8. Ácidos clorogénicos y compuestos relacionados. (a) compuestos básicos, (b) monoésteres de ácido quinal, (c) diésteres de ácido quinal, con ácido cafeico.	23
Figura 9. Estructuras químicas de los principales diterpenos de café. (a) cafestol y (b) kahweol.....	24
Figura 10 . Producción mundial del café.....	27
Figura 11. Principales países productores.....	29
Figura 12. Estados productores de café en México.....	30
Figura 13. Proceso en beneficio húmedo.....	33
Figura 14. Proceso beneficio seco.....	35
Figura 15. Aspergillus Ochraceus.....	45
Figura 16. Cuadro metodológico.....	62
Figura 17.Café el Chavalete.....	63
Figura 18. Tienda Chavalete local.....	64
Figura 19. Localización de la tienda especializada.....	65
Figura 20. Columna de inmunoafinidad.....	67
Figura 21. Ocratoxina en tienda comercial.....	73
Figura 22. Ocratoxina en tienda especializada.....	74
Figura 23. Ocratoxina en tienda online.....	75
Figura 24. Resultados comparativos de ocratoxina.....	76
Figura 25. Aflatoxina en tienda especializada.....	77
Figura 26. Aflatoxina en tienda comercial.....	78
Figura 27. Aflatoxina en tienda online.....	79
Figura 28. Resultados comparativos de aflatoxina.....	80

Resumen

El café es una de las bebidas más consumidas a nivel mundial, ya que es uno de los productos tradicionales que más divisas aporta a la economía de los diversos países, sin embargo, es importante este producto por el simple hecho de ser la bebida de café más consumida por la mayor parte de la población de todo el mundo.

La producción y almacenamiento de este producto agrícola representa para cualquier economía, una pieza estratégica en la cadena del valor agroalimentario. En la actualidad este tema es de gran relevancia debido a que los granos son muy susceptibles a la presencia de micotoxinas por el mal manejo de cosecha y almacenamiento, por consecuencia las aflatoxinas y ocratoxinas se hacen presentes que son metabolitos secundarios tóxicos producidos principalmente por el género *Aspergillus*, en estos granos. La necesidad de investigar estas toxinas ha crecido en los últimos años debido, a su alta incidencia en los granos que son la causa de deterioro físico, químico y sanitario.

En el presente trabajo se analizó, muestras de granos de café mexicano, obtenidos en centros comerciales y tiendas especializadas, realizando la determinación de microbiota presente y mediante la técnica de columnas de inmovilización se determinó la cuantificación de aflatoxinas y ocratoxinas.

En cuanto a la identificación de la microbiota presente en el café no se observó crecimiento de hongos, solo la presencia de algunas levaduras debido al mal manejo del producto en las tiendas.

Por otro lado, la presencia de las micotoxinas en todas las muestras analizadas se encontró concentraciones de ocratoxina por arriba de los límites permisibles en el Codex Alimentario y la Legislación Europea. Sin embargo, en el análisis de las aflatoxinas muy pocas muestras cumplen con los límites permisibles.

INTRODUCCIÓN

En el mundo como en México, el café es un grano de gran importancia es considerado valioso y agradable ya que es una de las bebidas más consumidas en. Hasta ahora, muchos estudios han mostrado las propiedades benéficas de las bebidas de café al ser ingeridas, pero poco se sabe acerca de sus impactos en la salud humana.

Después del petróleo el café produce más ganancias que cualquier otro producto ya que el consumo mundial de café se calcula se ha duplicado a lo largo de 40 años, más de 70 países en desarrollo producen café (Taniwali, 2006).

En México el café se produce en doce estados de la República Mexicana, situados en la parte centro-sur del país. Estos estados son: Colima, Chiapas, Guerrero, Hidalgo, Jalisco, Nayarit, Oaxaca, Puebla, Querétaro, San Luis Potosí, Tabasco y Veracruz. En la cual la producción ascendió a 6 millones 192 mil sacos de 60 kilos, de los cuales se exportaron 5 millones 137 mil sacos de 60 kilos a 52 países, es decir el 83% de la producción nacional de café se exporta y únicamente el 17% restante se destina al mercado doméstico. En el ámbito nacional Chiapas es el primer productor de café (Davis, *The impact of climate change on indigenous arabica coffe, coffe arabica*).

El producto es susceptible al crecimiento de hongos micotoxigenico debido a las condiciones húmedas calientes. La calidad de los granos al final del proceso influye en el precio alcanzado cuando se vende en el mercado y los defectos en los granos de café como son; granos negros, marrones, verdes, descolorados y desteñidos, dañados por insectos, cortes de la despulpadora, hediondos, agrios y con materia extraña como ramitas, palitos o piedras son deseados porque disminuyen la calidad del café La presencia de micotoxinas, pueden producir efectos tóxicos, cancerígenos, renales, causa nefropatía endémica, daños al sistema nervioso, acumulación de glucógeno en el hígado, derrames cerebrales parecidos a los que provoca la deficiencia de la vitamina k (Kuiper-Goodman, 2004).

Para prevenir la contaminación por Ocratoxina A y Aflatoxina en los productos alimenticios, recientemente se han desarrollado varios métodos. Este trabajo se basó en OchraTest de VICAM, aprobado por la AOAC, es un método simplificado para preparar muestras de café para el análisis instrumental que supera los retos técnicos de detectar y medir niveles traza de micotoxinas en muestras complicadas. La limpieza de muestras con

la columna de inmunoafinidad (IA) remueve muchos diferentes componentes químicos del café que pueden interferir con la detección precisa y la extracción eficiente de su contenido de OTA, minimizando el riesgo de clasificación incorrecta de lotes basado en resultados falso-positivos o falso-negativos. La simplicidad del procedimiento en la purificación y limpieza de la muestra en el análisis de la micotoxina, debido a los anticuerpos monoclonales aíslan y concentran, reduciendo así en gran medida las probabilidades de error humano en la medición de estas toxinas

Capítulo 1.

1.1 Antecedentes del café

1.1.2 Orígenes y generalidades del café

El café se define como la semilla seca de la planta del café sin importar que haya sido tostada y molida (Badui, 2006). El cafeto, el árbol del que proviene el grano, es originario de África, su nombre se deriva de la ciudad de Kaffa, en Etiopía.

Durante muchos años, la exportación de plantas de café fuera de las naciones musulmanas estuvo prohibida. La propagación a nivel mundial del género de la planta *Coffea* partió del trópico africano. Para 1510 su producción y el consumo ya se habían extendido hasta el Cairo (Cinza-Borelli, 2002).

A principios del siglo XVII, el café se introdujo a la India y a finales del mismo siglo, se llevó a la isla Java, donde las condiciones climáticas y la fertilidad de las tierras permitieron que el café se adoptara perfectamente en las Indias Orientales. A mediados del siglo XVIII, el consumo del café se extendió por Europa. En América, el café fue introducido durante el siglo XVIII, la planta se propago por el Caribe y el continente. En 1727, el café fue introducido en Brasil y en 1731 a Jamaica y Santa Domingo de donde su cultivo se extendió al resto de los actuales países productores de América. Con la revolución industrial y el crecimiento de la población mundial durante el siglo XX, el café prácticamente se convirtió en una bebida universal.

La introducción en México ocurrió hace 200 años (Cano-Flores, 2004). A nivel mundial el café la especie *Coffea arábica* es predominante.

1.1.3 Historia del café

El café cuenta con muchas historias sobre su origen sin embargo hay una en particular que es la más común que nos habla en el año de 1140 en Asinina (actual Etiopia), un pastor llamado Kaldi, observo el efecto tonificante de unos frutos rojos de arbusto, en las cabras que lo habían consumido en los montes, efecto comprobado por el mismo al renovarse sus energías.

Kaldi llevo unas muestras de hojas y frutos en un monasterio, donde los monjes por curiosidad las pusieron a cocinar. Al probar la bebida la encontraron de tan mal sabor. Los granos a medida que se quemaban despedían un agradable aroma. Fue así como a uno de los monjes se le ocurrió la idea de preparar la bebida a base de granos tostados. Así como esta historia hay muchas más que relatan la manera en cómo fue que el café nace en la historia de la humanidad, sin embargo a raíz de que el café nace en Etiopia, se comienza a expandir por todo el mundo (tabla 1), logrando llegar a México y descubriendo que en las tierras mexicanas son apropiadas para la producción del café (Clarke, 2014).

1.1.4 Expansión del café en el mundo.

El café ha sabido llegar a las diferentes partes del mundo, pero con diversas razones como:

TABLA 1. CRONOLOGIA DEL CAFÉ.

AÑO	SUCESIÓN DEL CAFÉ EN EL MUNDO
1140	El café es descubierto por Kaldi en Etiopia por medio de los arbustos que contenía frutos rojos, que al probarlos se dieron cuenta que daba energía, pero tenía un sabor desagradable.
1400	Los musulmanes introducen el café a Persia, Egipto, África y Turquía.
1475	Se abre la primera cafetería en Constantinopla.
1511	En la meca. El 20 de junio Khair Bey observo a un grupo de hombres bebiendo café. Observo las características particulares y junto con un grupo de doctores y juristas para ver si la bebida se ajustaba al Corán, que prohíbe toda forma de intoxicación. Los efectos del café eran tales que fue prohibido en la llamada de imanes de ortodoxos y conservadores de la Meca.

1532	De la misma manera sucede en el Cairo, sin embargo, la popularidad del producto, en particular entre los intelectuales impulso a las autoridades a cancelar el decreto.
1583	El médico alemán Leonard Rauwolf, es el primero en probar el brebaje del café.
1600	Alrededor de estos años, el café se expande a Europa gracias a los mercaderes vecinos. Se aconsejó al Papa Clemente VIII prohibir el café, pues representaba una amenaza de los infieles.
1611	Algunos terratenientes alemanes pusieron en marcha el sistema de prohibir su difusión. Estas medidas se mantienen durante el menos durante el menos de un siglo en el norte y este de Alemania, hasta Federico II de Prusia despenaliza su uso, sometiendo al pago de un fuerte impuesto.
1630	Ya hay un millar de cafeterías en el Cairo. La prohibición volvió de nuevo a Europa, tras la apertura de las cafeterías y, curiosamente, por las mismas razones.
1670	Se abre la primera cafetería en Berlín.
1676	El rey Carlos II de Inglaterra pide el cierre de las cafeterías debido a que en ellas nacen las ideas liberales debido a las visitas frecuentes a esos lugares por parte de los filósofos y letrados.
1683	Con la batalla de Viena comienza la historia de las cafeterías en Viena.
1686	En París se abre la primera cafetería inventando una nueva de prepararlo.
1689	En este año, el café se abre más mercado, atravesando el Atlántico llegando a Boston.
1696	Los holandeses lo comienzan a cultivar en Indonesia y Java.
1700	Hay más de 2000 cafeterías y tienen su plena aceptación social. Se comienza a cultivar en Ceilan, Indonesia, y América del Sur.
1727	Se realiza la primera plantación en Paris.
1785	Llega a Colombia de la primera semilla a finales de los tiempos coloniales.
1808	La plantación del café en Colombia aumenta y pasa a ser de mediana escala.
1812	El consumo de café entre los estadounidenses aumento durante principios del siglo XIX. Después de la guerra de 1812 que había acabado con el acceso a las importaciones de té, y la gran demanda durante la guerra de la independencia, así como muchos adelantos en la tecnología para la elaboración de la bebida cimento la posición del café como un producto diario en Estados Unidos.
1886	Simón López lo extendió a la ciudad de Pereira de donde partió la expansión del cultivo a zonas de Quindío y al Valle de Cauca.
1890	El café se constituye en base de la economía regional.

Fuente: Temis-Pérez 2013.

1.1.5 Clasificación botánica del café

1.1.5.1 Taxonomía

En 1753 Linnaeus describió la primera especie de café, llamándola "*coffea arábica l'*" a partir de eso con el tiempo, nuevas especies han sido descritas anteriormente las descripciones taxonómicas que se hacían de las especies de café se basan en los criterios morfológicos, hoy en día son basados por el análisis Genéticos y moleculares. (Gava, 2015)

El café pertenece al género *Coffea*, actualmente comprende 104 especies, este a su vez pertenece a la familia de las rubiáceas, tiene unos 500 géneros y más de 6000 especies (tabla 2) el género *Coffea* se clasifica en dos subgéneros *C. Coffea* con 95 especies y *C. Baracoffea*, el cual es un grupo morfológicamente distinto, y está restringido a las tierras secas de temporada del oeste de Madagascar.

El género *Coffea* cuenta con aproximadamente 100 especies, no obstante, únicamente tres de estas están cultivadas comercialmente, destacándose las dos primeras siguen el orden *Coffea arábica* y *Coffe canephora*.

TABLA 2. CLASIFICACIÓN BOTANICA DEL CAFÉ

TAXONOMÍA	NOMBRE
REINO	Plantae
TIPO	Espermatofitas
SUBTIPO	Angiospermas
CLASE	Dicotiledóneas
SUBCLASE	Gamopétalas inferioriadas
ORDEN	Rubiales
FAMILIA	Rubiáceas
GENERO	Coffea
SUBGÉNERO	EUCOFFEAA
ESPECIES	Arabica, Canephora, Liberica

Fuente: Moroin, 2004.

1.1.6 Morfología de la planta del café

La planta de café es una dicotiledónea proviene de un arbusto perenne pertenece a la familia de las *Rubiáceas*, puede alcanzar 10 m de altura de forma silvestre y en una plantación de café controlada alcanza 3 m de altura lo cual facilita el cosechado.

La mayoría son árboles y arbustos tropicales crecen en la capa más baja de los bosques, las ramas primarias se oponen, en sentido horizontal o caídos y las hojas crecen en pares de tallos cortos. Son alrededor de 15 cm de longitud de color verde oscuro y brillante en apariencia. Otros miembros de esa familia son las gardenias las plantas que producen quinina y otras sustancias útiles, pero el *Coffea* es con mucho el miembro más importante de la familia desde el punto de vista económico (Moroing, 2004).

1.1.6.1 Raíz

El sistema radicular es superficial estando el 60% en los primeros 30 centímetros de profundidad y la raíz pivotante puede llegar a más de un metro de profundidad.

En ella se acumulan sustancias nutritivas que más tarde alimentan a las hojas y frutos, para dar firmeza al árbol Las clases de raíces que tiene el cafeto son:

- Pivotante: crece y se desarrolla en forma cónica, es la raíz central, su longitud máxima es de 50-60 cm.
- Axiales: provenientes de la pivotante en sentido lateral, fuerte y vigorosa, ayudan a sostener el árbol.
- Laterales: provenientes de las axiales, de carácter secundario y terciario.
- Raicillas: desarrolladas de las laterales, permiten la absorción del agua y nutrimentos a partir del suelo, se encuentran en los primeros 30 cm del suelo. (Gava, 2015)

Condiciones de cultivo del café

La forma del cultivo óptimo del café tiene las siguientes características:

- **Altitud:** Incide en forma directa sobre los factores de temperatura y precipitación. La altitud óptima es entre 500 y 1700 msnm. Por encima de este nivel altitudinal se presentan fuertes limitaciones en relación con el desarrollo de la planta.
- **Precipitación:** La cantidad y distribución de las lluvias durante el año son aspectos muy importantes, para el buen desarrollo del cafeto. Con menos de 1000 mm anuales, se limita el crecimiento de la planta y por lo tanto la cosecha del año siguiente; además, un período de sequía muy prolongado propicia la defoliación y en última instancia la muerte de la planta. Con precipitaciones mayores de 3000 mm,

la calidad física del café oro y la calidad de taza puede comenzar a verse afectada; además el control fitosanitario de la plantación resulta más difícil y costoso.

- **Temperatura:** promedio anual favorable (Aserva-DGOF-DAEM, 2009) (sectorial, 2016) para el cafeto se ubica entre los 17 a 23 °C. Temperaturas inferiores a 10 °C, provocan clorosis y paralización del crecimiento de las hojas jóvenes.
- **Humedad relativa:** Cuando alcanza niveles superiores al 85%, se propicia el ataque de enfermedades fungosas que se ven notablemente favorecidas.

1.6.1.2 Tallo y rama

La planta de café presenta dos tipos de crecimiento:

- Vertical u Orto trópico, caracterizado por el crecimiento de un tallo central con pocas ramificaciones verticales, esto puede ser detenido por una poda o descope la cual propiciará el crecimiento de ramas laterales (Ovando M., 2017).
- Lateral o plagio trópico, el cual da lugar al crecimiento de ramas laterales llamadas “bandolas”, de éstas surgen ramas secundarias y luego las terciarias. La importancia de estas ramas (figura 1) es que son las que poseen nudos y entrenudos y son el asiento único de fructificación del cafeto. Las bandolas primarias son opuestas, largas, flexibles y forman ángulos de 45 a 60 grados, con respecto al tallo central.

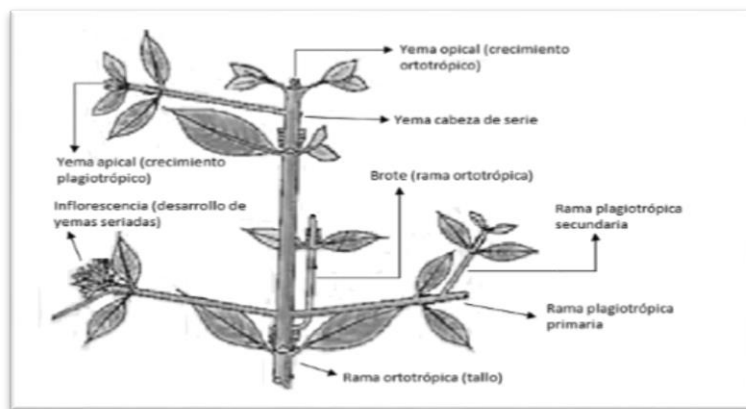


Figura 1. Tallo y ramas del café

Fuente: Hernández, 2013.

1.6.1.3 Hojas



Las hojas se presentan en las bandolas, crecen en forma opuesta, son elípticas, oblongas o lanceoladas, miden de 7 a 17 cm de largo y de 3 a 8 cm de ancho (figura 2), son de color verde oscuro brillante en el haz, cerosas y coriáceas, con un verde más pálido y menos brillante en el envés, con nervadura central poco prominente y márgenes con ondulaciones diversas (Ovando M., 2017).

Figura 2. Hojas del café

Fuente: Cortijo, 2008.

1.6.1.4 Flores



Se localizan en las axilas de las hojas de las ramas pleiotrópicas. La corola es blanca y formada por 5 pétalos (figura 3) fusionados en su base, dando origen al tubo de la corola; el cual se encuentra inserto en la parte superior del ovario. El ovario, normalmente con dos lóculos, contiene un ovulo por lóculo tiene cinco estambres con antenas, de color blanco y bifurcado en el estigma (Arreola, 2001).

Figura 3. Flores del café

Fuente: Cortijo, 2008.

1.6.1.4 Fruto



El fruto es una drupa conocida como cereza, mide de 10 a 17 mm de largo. Consta de epicarpio o epidermis, mesocarpio o pulpa, y endospermo o semilla, es de color verde cuando está tierno y maduro puede ser rojo (figura 4) o amarillo, según la variedad.

Figura 4. Fruto del café

Fuente: Cortijo, 2008.

Existe una anomalía en la formación del grano reduce el rendimiento en beneficio, denominada fruto vano, resultado de un proceso que causa supresión en el desarrollo del endospermo y lo reduce a una estructura en forma de disco.

Este defecto se presenta con mayor frecuencia en plantaciones ubicadas en altitudes inferiores a los 700 msnm.

La pulpa está formada por el epicarpio o cáscara o pellejo correspondiendo al 46% del fruto. El mesocarpio o mucílago miel corresponde al 17.18%. El café pergamino está constituido por el endocarpio o pajilla que representa el 18-20%. El endospermo o película plateada representa el 0.2% y el café verde se encuentra en 17-18% del fruto (Arreola, 2001).

1.6.1.6 Semilla

Son alargadas y, cubiertas por una película plateada que es el tejido de reserva se le denomina grano “planchuela”.

La semilla se constituye por el endospermo de coloración verde oscura o amarillenta, mide de 10 a 15 mm de largo por 5 a 10 mm de ancho, con un embrión pequeño basal de 1 a 2 milímetros. La semilla está cubierta por un endocarpio fibroso, llamado pergamino.

La madurez fisiológica de la semilla se alcanza alrededor de 220 días después de la antesis y carece de latencia, por lo que pueden ponerse a germinar inmediatamente después del lavado (Ovando M., 2017).

Por falta de una buena fecundación se pueden formar las anomalías en el óvulo, así como en el número y desarrollo de este, se pueden formar granos denominados “caracoles”, “triángulos” y “elefantes”.

1.6.1.7 Grano caracol

Se origina al desarrollarse únicamente una semilla por fruto. El desarrollo ocurre en todo el espacio del fruto. Se origina esta deformación por la falta de fecundación de uno de los dos óvulos o por el aborto de éste, aún antes de la fecundación.

- **Triángulo.** La formación de un mayor número de semillas por fruto se llama polycarpia; en las variedades de *Coffea arábica* es frecuente este tipo de frutos y se debe a óvulos triloculares.
- **Elefante o monstruo.** Se debe a la formación de más de una semilla por lóculo, también llamada falsa poliembrionía, que generalmente varía de 1 a 3 %. Los endospermos de las dos semillas están doblados, juntos o envueltos, uno alrededor del otro. Es común encontrar de dos a tres semillas por lóculo.

1.6.1.8 Cereza

La cereza (figura 5) que según (SPC-SAGARPA, 2007) es el nombre con el cual el fruto completo del árbol que consta de una serie de capas que envuelven generalmente dos granos de café. Las capas externas se denominan como:

- **Cascara o pericarpio:** Envoltura externa del fruto de café.
- **Pulpa o exocarpio:** Carne o tejido de la fruta que se encuentra por debajo de la cascara.
- **Pergamino o endocarpio:** Tejido duro y compacto que recubre a la semilla del grano del café individualmente.
- **Cutícula:** Membrana delgada de color blanquecino que se encuentra adherida a la semilla o grano de café. También conocida como película plateada.
- **Grano de café:** Semilla(s) contenida en la fruta del café. Normalmente existen dos en cada fruta, pero puede haber solo una o hasta tres.

Las partes que conforman el fruto de café se muestran en la siguiente figura

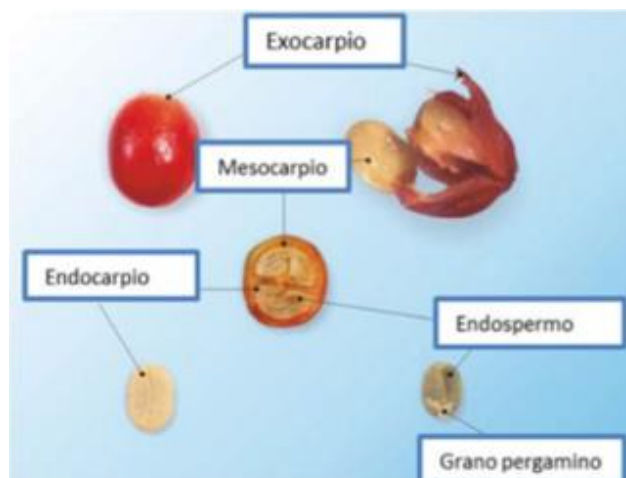


Figura 5. Partes que conforman el grano de café
Fuente: Cortijo, 2008.

El tamaño del grano de café varía, y este se mide en tamices con perforaciones redondas o bien pueden ser alargadas, las más comunes (tabla 3) Las medidas de expresan en 1/64 de pulgada (0.3968 mm).

TABLA 3. TAMAÑOS DEL GRANO DE CAFÉ

<i>Medida</i>	<i>MM</i>
<i>Terceras o grano pequeño</i>	14-15
<i>Segundas o grano mediano</i>	16-17
<i>Primeras o grano grande</i>	18
<i>Grano superior</i>	19-20

Fuente: Cortijo, 2010.

1.1.7 Composición química del café

El café, químicamente se compone de agua y materia seca, constituida por minerales y sustancias orgánicas, en el grano verde se reportan cerca de 228 componentes con notas verdosas y grasosas. (Chi-Tang Ho, 2000)

Hay grandes diferencias en la composición química entre las especies (tabla 4), más pequeñas dentro de las especies, y diferencias originadas por la madurez, la fermentación,

el secado, el almacenamiento y el tostado. Todos estos factores influyen en la calidad del sabor, acidez, cuerpo, amargo, dulzor y aroma del café. (Chi-Tang Ho, 2000)

TABLA 4. COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LA SEMILLA VERDE DE COFFEA ARABICA Y COFFEA CANEPHORA

COMPONENTES	COFFE ARÁBICA (G/100G)	COFFE CANEPHORA (G/100G)
CARBOHIDRATOS/ FIBRA	6.0–9.0	0.9–4.0
AZUCARES REDUCTORES	0.1	0.4
POLISACÁRIDOS	34–44	48–55
LIGNINA	3.0	3.0
PECTINA	2.0	2.0
COMPONENTES NITROGENADOS		
PROTEÍNA/ PÉPTIDOS	10.0–11.0	10.0–15.0
AMINCIDOS LIBRES	0.5	0.8–1.0
CAFEÍNA	0.9–1.3	1.5–2.5
TRIGOLENINA	0.6–2.0	0.6–0.7
LÍPIDOS		
ACEITES DEL CAFÉ (TRIGLICÉRIDOS INSAPONIFICABLES, ESTEROLES)	15-17.0	7.0-10.0
DITERPENOS (LIBRES Y ESTERIFICADOS)	0.5-1.2	0.2-0.8
MINERALES	3.0–4.2	4.4–4.5
ÁCIDOS Y ESTERES		
ÁCIDOS CLORO GÉNICOS	4.1–7.9	6.1–11.3
ÁCIDOS ALIFÁTICOS	1.0	1.0
ACIDO QUINAL	0.4	0.4
HUMEDAD	35-50%	35-50%

Fuente: (Clarke, 2014), (Clifford, 2000,), (Trugo L. , 1984), (Kolling-Speer, 2005).

Como se muestra en la tabla 4 los granos de café verde de las variedades Coffea Arábica contienen una mayor cantidad de lípidos, trigonelina que Coffe Canephora (Robusta) se destaca el mayor contenido de polisacáridos, cafeína, ácidos clorogénicos y minerales.

(Clarke, 2014), (Clifford, 2000,), (Trugo L. , 1984), (Kolling-Speer, 2005).

Compuestos no volátiles del café

En el café verde la fracción no volátil se compone principalmente de agua, carbohidratos fibra, proteínas (aminoácidos libres), lípidos, minerales, ácidos orgánicos, ácidos clorogénicos, trigonelina y cafeína (tabla 4). De estos compuestos encontrados en el café verde, los ácidos clorogénicos, la cafeína, la trigonelina, la fibra soluble, y los di terpenos de la fracción lipídica son los más susceptibles al ser activos, y pueden ser los constituyentes más importantes al sabor de la bebida después de tostarlo.

El contenido varía según el cultivar, las prácticas agrícolas, el clima, la composición del suelo y los métodos de análisis.

Los compuestos fenólicos de menor importancia tales como antocianinas y lignanos identificados en la semilla de café verde se han reportado como residuos del fruto (Farah, 2006). Además, los rastros de la teofilina y de la teobromina se han identificado en las semillas y se reportan como metabolitos de la cafeína (Mazzafera, 2009). Los principales compuestos bioactivos presentes en la semilla de café verde se describen a detalle en próximas secciones.

Cafeína

La cafeína (Figura 6) es una metilxantina con características amargas; sin embargo, es responsable de no más del 10% de la amargura percibida de la bebida del café (Flament, 2001). Este alcaloide es estable al calor, y su concentración en *C. Canephora* es aproximadamente dos veces en el que se encuentra en *C. Arábica* (tabla 4).

La cafeína estimula el sistema nervioso central como antagonista del receptor de adenosina. Aunque la cafeína es la sustancia psicoactiva más ampliamente consumida y estudiada en la historia, sus efectos sobre la salud son controvertidos (Shlonsky, 2003). Mientras que la ingesta de cafeína se ha asociado con el colesterol sanguíneo alto, las enfermedades coronarias y el cáncer, otros estudios sugieren que el consumo puede disminuir la incidencia del suicidio y cirrosis hepática (Farah A, 2006,).

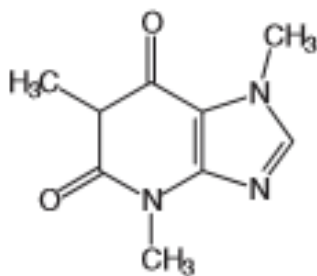


Figura 6. Estructura química de la cafeína

Fuente: Shlonsky, 2003.

La ingesta de cafeína de baja a moderada generalmente está asociada con una mayor alerta, capacidad de aprendizaje, rendimiento, ejercicio y tal vez mejor estado de ánimo, pero las dosis altas pueden producir efectos negativos en algunos individuos sensibles (por ejemplo, ansiedad, taquicardia, insomnio, durante su vida media, que es de 2-6 horas después del café se ingiere (Toci, 2006) (Ogita, 2003) (Farah A. d., 2006; Clifford, 2000,). El consumo de cafeína aguda tiene efectos negativos sobre la tolerancia a la glucosa, la eliminación de la glucosa y la sensibilidad a la insulina en ratas y humanos diabéticos, obesos y tipo 2. Sin embargo, otros compuestos presentes en el café pueden contrarrestar este efecto. Los metabolitos de la cafeína, especialmente 1-metilxantina y 1-metilurato, han exhibido actividad antioxidante in vitro, y el hierro reduciendo la capacidad del café regular es más alto que el del café descafeinado (Lee C. , 2000). El efecto antibacteriano del café regular contra microorganismos cancerígenos es también más alto que el del café descafeinado (Antonio, 2010).

Trigolenina

El trigonelina (Figura 7) es un alcaloide derivado biológicamente de la metilación enzimática del ácido nicotínico. Contribuye a la amargura del café y es un precursor para la formación de diferentes clases de compuestos volátiles durante el tostado como piroles y piridinas, algunos de los cuales según Flament pueden conferir un "sabor desagradable". La cantidad de trigonelina en *Coffea Canephora* es aproximadamente dos tercios más de la que se encuentran en *Coffea Arábica* (Flament, 2001).

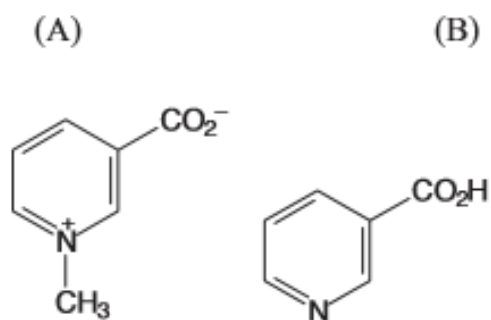


Figura 7. Estructuras químicas de (a) trigolelina y (b) ácido nicotínico

Fuente: Trugo, 2003.

Con respecto a la bioactividad potencial, trigonelina ha inhibido a las células cancerosas in vitro (Hirakawa, 2005). Además, este compuesto ha sido capaz de regenerar dendritas y axones en modelos animales, lo que sugiere que puede mejorar la memoria. Más recientemente se ha considerado un nuevo fitoestrógeno (Allred, 2009). La de metilación trigonelina durante el tueste del café produce ácido nicotínico, una vitamina compleja B también conocida como niacina (Trugo L. C., 2003).

Ácido clorogénico

Los ácidos clorogénicos (Figura 8) comprenden una clase importante de compuestos fenólicos, que se derivan principalmente de esterificación de *trans*-cinámico ácidos (por ejemplo, cafeico, ferúlico, y *p*-coumarico) con (-) ácido quinario. Se subdividen según la naturaleza y el número de sustituyentes cinámico y la posición de esterificación en el anillo ciclohexano del ácido quinario (Clifford, 2000,). Los ésteres se forman preferencialmente con el hidróxido ubicado en carbón 5, así como los ubicados en carbonos 3 y 4. Es menos común que, los ésteres se pueden formar con el hidróxido localizado en el carbón 1. Las principales subclases de ácidos clorogénico en el café verde son cúfico quirico.

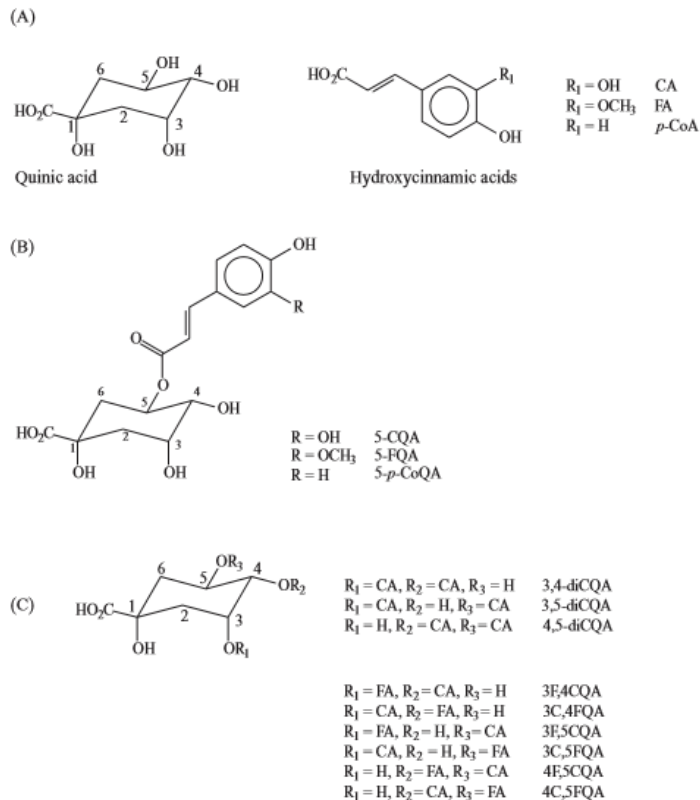


Figura 8. Ácidos clorogénicos y compuestos relacionados. (a) Compuestos básicos, (b) monoésteres de ácido quinal, (c) diésteres de ácido quinal, con ácido cafeico.

Fuente: Farah, 2006

Cada una de estas subclases consiste en por lo menos tres isómeros posicionales importantes además de los compuestos menores, con la excepción de la última clase, que contiene seis isómeros principales (Clifford, 2000,) (Farah A. d., 2006). Entre estas clases, los ácidos representan aproximadamente el 80% del contenido total de ácidos clorogénico.

Cafestol

Los compuestos de café cafestol son alcoholes de diterpeno penta cíclicos basados en el esqueleto de di terpenos. Las formas desnaturalizadas de cafestol han sido identificadas en semillas robusta (Allred, 2009) (Kolling-Speer, 2005) (Flament, 2001). Estos compuestos bioactivos y sus derivados (figura 9), que son principalmente sales o ésteres de ácidos grasos saturados (predominantes) y ácidos grasos insaturados, representan aproximadamente el 20% de la fracción lipídica del café (Aitziber Buqué, 2020) (Speer, 2006) Cafestol es el componente primario de la fracción no saponificable del aceite de café, que representa aproximadamente 0.2% - 0,6% del peso del café.

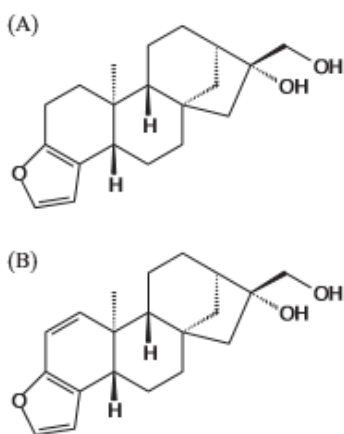


Figura 9. Estructuras químicas de los principales diterpenos de café. (a) cafestol y (b) kahweol

Fuente: Clifford, 2000.

Pero el Kahweol (diterpeno) es más sensible al calor, el oxígeno, la luz, y el ND de los ácidos es por lo tanto menos abundante (Flament, 2001). Los niveles más altos de di terpenos se encuentran en *C. Arábica* que en *C. Canephora*. (Cavin, 2002) (Antonio, 2010)

Fibra dietética soluble

La fibra dietética soluble en café consiste en los polisacáridos de alto peso molecular que aumentan la viscosidad (Nunes, 2001). Los galactomananos y el tipo arabinogalactanos y el tipo II son más importantes de fibra solubles en café. Galactomananos son los polímeros de 1, 4-unido a la galactomanosa con una sola cadena lateral de la unidad de galactosa en C6, y el tipo arabinogalactanos de II consiste en una cadena principal de 1, 3-ligado galactosa

ramificada en C6, con las cadenas laterales que contienen arabinosa y los residuos de la galactosa. (Diaz-Rubio, 2007)

El café verde soluble en agua caliente tipo II arabinogalactanos es altamente ramificado y covalente ligado a las proteínas en las cuales el 10% de las cadenas del aminoácido son residuos 4-hidroxiprolina. Estos polisacáridos son extremadamente complejos. Además de la galactosa y la arabinosa, también contienen residuos de ácido raminosa y glucurónico. (Nunes, 2001).

Humedad

El café tiene diferentes contenidos de humedad en la cosecha variando del 35 al 50% de humedad en la semilla verde.

Agua

El contenido de agua de las semillas verdes de *c. Arábica* y *c. Canephora* generalmente varía de aproximadamente 8.5% - 12% (Farah A. D., 2006,). Por encima de este nivel, la humedad es indeseable tanto para la calidad del aroma/sabor como para los efectos en la salud, ya que en aumenta la actividad agua y por lo tanto la probabilidad de crecimiento microbiano. Por otro lado, una baja humedad produce grietas en las semillas y disminuye su viabilidad para germinar.

Carbohidratos

Los carbohidratos son componentes principales del café y constituyen más del 50% del peso seco. Los Poli-, OLIGO-, di-, y monosacáridos se pueden dividir en azúcares reductores y no reductores (Antonio, 2010). Los polisacáridos (solubles e insolubles) representan aproximadamente el 44% de la materia seca en *C. Arábica* y el 47% en *C. Canephora*. La sucrosa es importante para el sabor y la calidad del café; representa hasta un 9% del peso seco de *c. Arábica* y aproximadamente la mitad en *C. Canephora*. Pequeñas cantidades de carbohidratos simples tales como fructosa, glucosa, manosa, arabinosa, y ramnosa y oligosacáridos tales como rafinosa y estaquinososa han sido identificadas en el café verde (Flament, 2001) (Kolling-Speer, 2005).

Proteínas, péptidos, y aminoácidos libres

La proteína, los péptidos y los aminoácidos libres son vitales para el sabor del café ya que son necesarios para la reacción de Maillard. Sirven como precursores para la formación de compuestos volátiles como furanos, piridinas, pirazinas, piroles, aldehídos y melanoidinas. Las melanoidinas son responsables del color del café y hasta cierto punto, su actividad antioxidante. Los compuestos nitrogenados totales (excluyendo la cafeína y la trigonelina) representan el 9% - 16% de la composición química del café verde, con un contenido ligeramente superior en *C. Canephora* que *C. Arábica*. Sin embargo, el café no es una buena fuente nutricional de proteína porque carece de aminoácidos esenciales.

Minerales

El potasio representa aproximadamente el 40% del contenido mineral del café molido (aproximadamente 1 - 2 g/100 g de café verde). El fósforo es otro mineral importante en el café, que representa el 4% de su composición. El contenido mineral restante consiste en aproximadamente 30 diferentes elementos, incluyendo, magnesio, calcio, sulfuro (Costa, 2010).

Lípidos

Los lípidos son componentes principales del café, y su contenido total varía considerablemente entre las especies de *c. Arábica* y *c. canephora*. La fracción lipídica del café se compone de lípidos principales glicérols (aproximadamente 75%), ácidos libres (1%), esteroides (2,2% no esterificados y 3,2% esterificados), y tocoferoles (0.05%), que se encuentran típicamente aceites vegetales inestables. Esta fracción también contiene di terpenos de la familia Kaurent en proporciones de hasta el 20% de la fracción total de lípidos (Folstar, 1985). Otros componentes recientemente identificados en *Coffe arábica* y *Coffe canephora* tienen estructuras similares a los di terpenos cafestol y kahweol, pero con diferentes sustituciones en el anillo furanos (Speer, 2006).

1.1.8 Producción mundial y nacional del café

El café es importante para el desarrollo social y un excelente recurso para el empleo rural, ya que proporciona trabajo para 125 millones personas a nivel mundial (Taniwali, 2006). Es la mercancía más comerciada aparte del petróleo y se consume como una bebida en un gran número de cafeterías y casas alrededor del mundo. Además, el consumo mundial de café casi se ha duplicado a lo largo de 40 años y se pronostica que será superior a 9 millones toneladas para el 2019. Más de 70 países en desarrollo producen café de vital importancia para economía por la cual Brasil creció un promedio de 2.5 millones toneladas/año de 2007 a 2011. En la que los principales consumidores son en las regiones desarrolladas, es decir, Estados Unidos, Europa y Japón, aparte de Brasil, que es el segundo consumidor más grande.

Vietnam ha aumentado drásticamente la producción de café recientemente para convertirse en el segundo mayor productor mundial después de Brasil. El café se produce en todos los continentes en las regiones tropicales del mundo (Figura 10) incluyendo más recientemente en Australia y la provincia de Yunnan, China (Oestreich-Janzen, 2010).



Figura 10 . Producción mundial del café

Fuente: Levi C. 2001.

Sin embargo, el café está sometido a diversas plagas y enfermedades de las cuales la contaminación de micotoxinas por hongos ha sido de gran preocupación durante décadas (Levi C. P., Journal of Association of official Analytical Chemists).

Además, la importancia del cambio climático (CC) (IPPC, 2013) a la producción de café (Davis, The impact of climate change on indigenous *Arabica coffe*) y el efecto del CC sobre la contaminación por micotoxinas (Paterson, 2010). Requieren una consideración urgente. La mercancía es susceptible al crecimiento fungicida debido a las condiciones húmedas calientes encontradas que son óptimas para estos hongos. Hay dos especies de café que se emplean, *Coffea Arábica* (café Arábica) y *Coffea Canephora* (café robusto). La calidad de los granos del café al final del proceso influye en el precio alcanzado cuando se vende en el mercado y los defectos en los granos de café no son deseados porque disminuyen la calidad del café. Los frutos del café en contacto con el suelo durante largos periodos permiten la contaminación por microorganismos y la formación de granos defectuosos y negros. Algunos de estos microorganismos son hongos que pueden producir toxinas (Taniwali, 2006).

1.1.8.1 Países productores de café

El café es uno de los principales productos. Su producción se realiza por lo regular en zonas tropicales. Actualmente más de 80 países los cultivan en sus diferentes tipos, de los cuales poco más de 50 países lo exportan (Cortijo, 2010).

La producción mundial (Figura 11) actualmente es de 24.7% mayor que la de principios de la década de los ochenta. Los principales productores de café a nivel mundial Brasil, México, Colombia, Guatemala, Etiopía, Indonesia, Honduras, Vietnam entre otros (Cortijo, 2010).

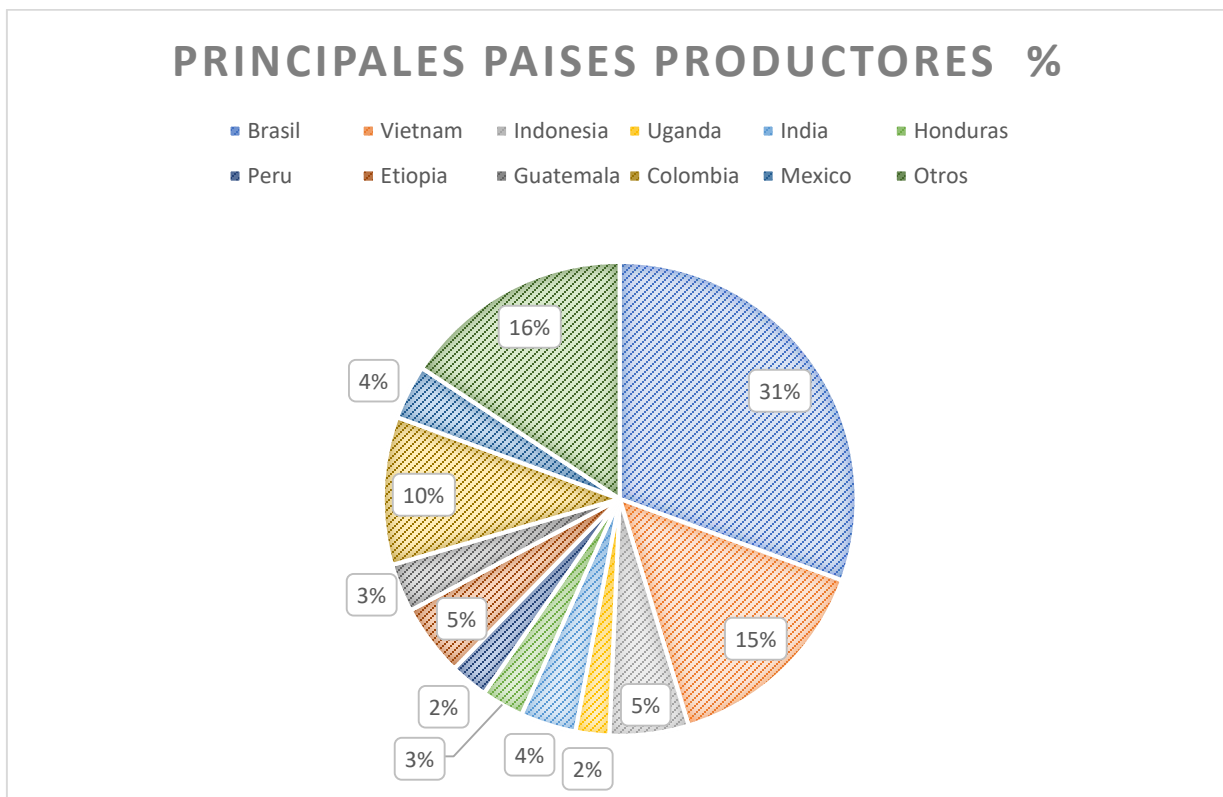


Figura 11. Principales países productores
Fuente: Ceffp, 2004.

1.1.8.2 ZONAS PRODUCTORAS DE CAFÉ EN MÉXICO.

México cuenta con condiciones ideales para el cultivo del café, con zonas montañosas del sureste del país que se encuentran a altitudes mayores a 900 metros sobre el nivel del mar, así como temperaturas que van de los 17.5 a 25.3°C. En el país representa una actividad fundamental en el sector agrícola, no sólo por el valor de su producción, sino además por ser un importante generador de divisas, además por las bondades que ofrece al ser un cultivo de gran relevancia ambiental, puesto que el 99% de los predios cafetaleros se establecen bajo sombra. En el ciclo cafetalero 2015/16 se destinaron 732,036 hectáreas al cultivo del café en México. De dicha superficie se cosecharon 664,963 hectáreas, de la cual el 89.7% se concentró en cinco entidades: Chiapas (36.0 %), Veracruz (19.7%), Oaxaca (17.8%), Puebla (9.3 %) y Guerrero (6.8%) (Aserva-DGOF-DAEM, 2009).

Las regiones cafetaleras se concentran en cuatro zonas: las vertientes del golfo de México y del Océano Pacífico, la zona Centro-Norte y la del Soconusco en Chiapas, en el sureste mexicano, las cuatro zonas en conjunto abarcan 398 municipios de los 12 estados productores (Figura 12). El café en México es cultivado en tierras privadas comunales ejidales, donde los mayores contrastes en tamaño de las tierras se encuentran en el sector privado. En Veracruz y Puebla la mayoría de las plantaciones de café son privadas, mientras que en Chiapas dominan los ejidos, y en Oaxaca las tierras comunales, el 91% de las tierras privadas se concentra en esos cuatro estados, 73% de las tierras comunales, el 76% de las tierras ejidales. (CEFP, 2005).

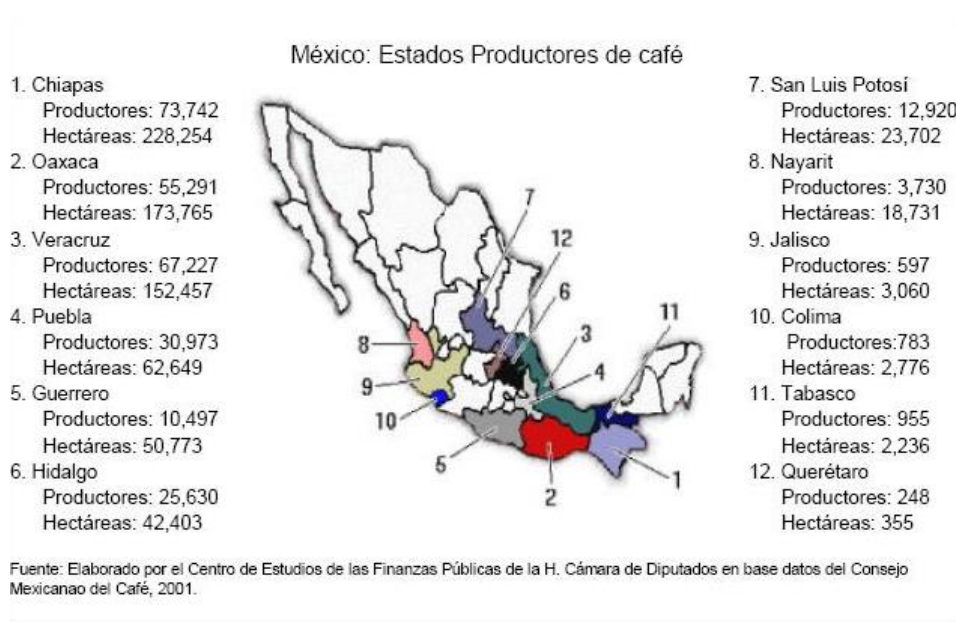


Figura 12. Estados productores de café en México

Fuente: Cefp, 2005.

En el 2011, el aumento de la producción de café orgánico certificado en Chiapas lo colocó en el primer lugar en el mundo en ese sector, según la Comisión Estatal para el Desarrollo y Fomento del Café en la entidad. En torno al café orgánico, el estado de Chiapas produce un 74% del total nacional, aunque todavía es solo 35 por ciento de lo que se cultiva en Chiapas, ya que el resto aún no ha sido certificado o está en proceso para reunir las exigentes características. De las exportaciones de café orgánico el 70% es destinado para Estados Unidos y lo demás a Canadá, Asia y Europa (CEFP, 2005).

1.1.8.3 Producción, Exportación, Importación y consumo Nacional

México produce café de excelente variedad, ya que su topografía, altura climas y suelos le permiten cultivar y producir variedades clasificadas dentro de las mejores del mundo. La variedad que se produce en México en mayor proporción es la coffee arábica, clasificándose dentro de los grupos de “otro suaves” (Aserva-DGOF-DAEM, 2009).

Industriales nacionales señalan que países como Estados Unidos y Alemania compran café verde mexicano le dan un valor agregado (clase, tostado y empaque) y lo exportan de nuevo a México, pues gracias a la falta de infraestructura y la ineficaz de actual no ha permitido que las características de valor agregado se integren dentro de la cadena de producción (Aseeva-DGOF-DAEM, 2009).

Por lo que México exporta la mayor cantidad de su producción a Estados Unidos con un 63.14% (tabla 5) y en porcentajes menores a países europeos.

TABLA 5.DESTINO DE LAS EXPORTACIONES MEXICANAS

PAÍS	CANTIDAD (KG)	PORCENTAJE (%)
E.U. A	9,980,570.00	63.14
ALEMANIA	1,582,815.00	10.01
BÉLGICA	1,516,723.00	9.6
JAPÓN	478,656.00	4.74
CUBA	305,280.00	1.93
CANADÁ	294,492.00	1.86
FRANCIA	246,675.00	1.56
AUSTRALIA	144,026.00	0.91
DINAMARCA	140,375.00	0.89
NORUEGA	132,825.00	0.84
OTROS	714,220.00	4.52
TOTAL	15,806,657.00	100

Fuente: (Aseeva-DGOF-DAEM, 2009).

1.1.9 Tecnología y procesado del café

La comercialización del café como un producto final implica una serie de procesos de transformación. El proceso productivo del café, que va desde el cultivo del arbusto hasta la fabricación de los cafés tostado, molido y soluble tiene diferentes características. Desde el cultivo del grano, pasando por la etapa conocida como “beneficio” que consiste en el retiro de las capas que lo cubren, pulpa y película, Para después seguir los pasos que presentan un carácter industrial, uno es el tostado del grano, esta etapa se conoce como “torrefacción”, y por último están el molido y la solubilización del grano (Aitziber Buqué, 2020).

Los granos de café pueden procesarse bajo dos métodos: a) beneficio húmedo donde así tratados reciben la denominación de café lavado “suave” o b) beneficio seco y se le llama natural.

A. Proceso en beneficio en húmedo

El beneficio en húmedo a diferencia al beneficio en seco es que se separa la pulpa de los granos de café, estos granos son lavados. En el cual las operaciones principales son el despulpado, la fermentación, y secado.

El despulpado (figura 13) consiste en remover quitar la cascara de los granos de café y la mayor parte de las sustancias azucaradas llamada comúnmente pulpa, esto se hace con una máquina que aprieta las cerezas entre planchas fijas y móviles.

Posteriormente se lavan los granos despulpados, es decir el café pergamino, con agua limpia

El beneficiado en húmedo, o lavado requiere una materia prima compuesta exclusivamente de bayas maduras, recogidas selectivamente o separadas por medios mecánicos durante el mismo beneficiado. Las bayas verdes inmaduras y los frutos secos se eliminan en un separador de agua. El mucílago se elimina por fermentación, con medios mecánicos o sustancias químicas. En el procedimiento de fermentación se rompe el mucílago fermentando los granos en agua a temperatura ambiente (con uso de microorganismos) de 12 a 36 horas. El proceso de fermentación se debe supervisar atentamente para asegurar que el café no adquiera sabores indeseables (amargos). Una vez terminada la fermentación, los granos de café se lavan en tanques de agua limpia o en lavadoras especiales. Después de

pasar por los separadores de lavado y antes de eliminar la pulpa se pueden separar las bayas verdes inmaduras de las que ya están maduras utilizando diferencias de presión, en un separador de bayas verdes. Las bayas suaves, maduras, pasan por los huecos de la malla. Las bayas duras, inmaduras, que no logran atravesar, se desplazan hacia el borde del cilindro donde un contrapeso controla su salida.



Figura 13. Proceso en beneficio húmedo

Fuente: Aitziber, 2020.

B. Proceso en beneficio en seco

En el sistema de beneficiado en seco (figura 14), se seca toda la fruta cosechada. Si bien este procedimiento es más sencillo que el beneficiado en húmedo, sólo se puede obtener un

producto terminado de buena calidad con la aplicación de buenas prácticas y una gestión correcta.

Una opción utilizada en regiones donde la cosecha normalmente se realiza en condiciones de clima seco es permitir que la fruta se seque en el cafeto. Con este método se recoge menos fruta inmadura, la que se obtiene es inocua y de buena calidad, y es más económico que la cosecha tradicional ya que permite recoger en una pasada. Siempre que sea posible, las bayas recién recogidas deberán secarse el mismo día de la cosecha. En algunos casos, la fruta cosechada se guarda en costales o acumulada en montones hasta una semana. Esta práctica produce temperaturas elevadas y una fermentación rápida, distinta que el procedimiento de fermentación utilizado en el beneficiado en húmedo, que causa pérdida de calidad e incrementa el riesgo de que se forme OTA en el producto. Antes del secado, la fruta cosechada deberá seleccionarse para eliminar las bayas inmaduras y demasiado maduras, así como las bayas dañadas por marchitez. La selección se puede hacer visualmente o en combinación con flotación en agua. (Prieto, 2002)



Figura 14. Proceso beneficio seco
Fuente: Aitziber, 2020.

1.1.10 Proceso del café

El proceso de traer los frutos del café cosechados a los consumidores como bebida implica una serie de pasos en la que un mayor control de cada paso de este proceso mejora la capacidad de producir un buen café. Después de cosechar, el fruto experimenta el proceso primario para separar las semillas. El procesamiento secundario como el descafeinado y el tratamiento con vapor se realizan antes del tostado.

Después de tostarlo, el café es molido y envasado o procesado para producir el café instantáneo (Toci, 2006).

Producción del café verde

Después de la cosecha, las frutas del café experimentan la extracción de la pulpa para producir las semillas de café verdes. Los métodos más comunes de extracción de la pulpa se conocen como métodos mojados y secos. Con el método de procesamiento seco, las semillas se exponen al sol o a los secadores de aire hasta que el contenido de humedad sea aproximadamente 10% - 12% (Toci, 2006).

La técnica de procesamiento en mojado es más sofisticada y generalmente produce una bebida de mayor calidad. Antes de descortezar y separar las semillas, la selección de cerezas se realiza en tanques de flotación, seguida de remojo y fermentación. Durante la fermentación, durante la cual se pueden añadir enzimas, se retira la piel plateada y aumenta la acidez; el pH se puede reducir a 4,5 (Flament, 2001). Las semillas (café pergamino) se lavan, se pulen y se secan al sol y al aire. El proceso en húmedo se utiliza en Colombia, Asia, y América Central donde frecuentemente es cosechado.

La diferencia principal entre los métodos de proceso figura 13 y 14 es que con las semillas el procesamiento en húmedo se separa de la pulpa y de la piel antes de secarse. En Brasil se ha desarrollado un método alternativo (procesamiento natural) que combina aspectos tanto de métodos secos como mojados. Este método consiste en lavar y seleccionar las semillas en tanques de flotación sin fermentación. Las semillas de café que se someten al proceso natural se utilizan a menudo en mezclas de café expreso, ya que tienden a añadir más cuerpo a la bebida que al mojado procesado porque los polisacáridos de la piel plateada no se fermentan, permaneciendo en las semillas (Bee, 2004).

Café tostado

El aroma de las semillas de café verde es muy diferente de lo que imaginamos cuando oímos la palabra café. Es solamente a través del tueste, que las semillas ganan el aroma y el sabor característico de café. Aunque el tostado parece ser simple en términos de condiciones de proceso, la química subyacente a este desarrollo del sabor es altamente compleja y no entendida totalmente. La alta temperatura de tueste causa una serie de cambios físicos y químicos en las semillas. Las condiciones del tueste son fuertemente influenciadas por cambios y afectan por lo tanto a la actividad y el sabor de la bebida. Los asadores más comunes disponibles para el hogar y el uso industrial son los asadores del tambor, en los

cuales las semillas están en contacto directo con el fuego y/o una superficie caliente. En los asadores más nuevos de la cama del líquido, las semillas están en contacto con aire/gases calientes.

Los asadores fluidos de la cama son para el uso industrial porque son más rápidos, permiten un mejor control de la temperatura y de la velocidad del aire dentro de la cámara de asación/tueste, ya que producen un color más homogéneo que otros asadores. Las temperaturas utilizadas para asar las semillas dependen del tipo de asador, pero las temperaturas máximas utilizadas en los asadores de líquido industriales generalmente varían de 210°C a 240°. En la fase inicial del tostado el agua libre se evapora. Cuando la temperatura de la semilla alcanza los 130 °C, la sacarosa carameliza, y las semillas comienzan a dorarse y a hincharse. Los cambios químicos en esta fase inicial son relativamente pequeños en comparación con los que ocurren al final del proceso de tueste. A temperaturas superiores a 160°C se realiza una serie de reacciones exotérmicas y endotérmicas; las semillas llegan a ser marrones claros, su volumen aumenta considerablemente, y la formación del aroma comienza.

Las reacciones químicas responsables del aroma y sabor del café asado se disparan a aproximadamente 190°C Durante las reacciones de Maillard y Strecker, que implican carbohidratos (reducción de azúcar), proteínas, y otras clases de compuestos, los compuestos de bajo y alto peso molecular, tales como melanoidinas son simultáneamente degradados y producidos. Durante este proceso las semillas marrones claras pueden llegar a ser casi negras. (Clarke, 2014)

Estas reacciones se interrumpen en el punto deseado según el color de la semilla o el tiempo programado. Las semillas se enfrían rápidamente por el agua o el aire, que se prefiere el aire porque el agua aumenta el riesgo de crecimiento microbiano. Después de asar, las semillas se muelen y se comercializan como café tostado molido o se utilizan para la producción de café instantáneo (Clarke, 2014).

1.2 Hongos que atacan el café

1.2.1 Definición de hongo

Los hongos son organismos indispensables para la vida en la Tierra, debido a que se encuentran entre los principales organismos descomponedores de la materia muerta de plantas y animales (Knox, 2015).

Los hongos se pueden dividir en hongos filamentosos o mohos, y hongos regordetes, o levaduras, los hongos-moho son aquellos mismos que forman los micelios, y una levadura es una estructura menos compleja.

En la producción, participación de procesos históricamente han sido muy importantes para la humanidad, como la producción de cerveza, vino y pan, y en épocas más recientes se han aprovechado para obtener compuestos de interés biotecnológico, farmacéutico y cosmetológico, sin dejar de lado que han formado parte de la dieta humana (Keller, 2005) .

Sin embargo, varias especies de hongos pueden representar un peligro para la salud humana y animal, así como una amenaza para la actividad agrícola, debido a que pueden ser patógenos de una gran variedad de especies de todos los grupos biológicos, y son capaces de producir compuestos tóxicos con efectos negativos sobre la salud y, en casos extremos, provocan la muerte del organismo afectado.

Estos efectos adversos pueden deberse en particular a toxinas que varias especies de hongos son capaces de producir (Wu, 2014). Una toxina es una sustancia venenosa producida por células vivas de animales, plantas, bacterias, hongos y otros organismos biológicos (Desjardins, 2000). Las toxinas de los hongos son conocidas como micotoxinas, y son producidas principalmente por mohos. Las micotoxinas se encuentran entre los contaminantes de alimentos más importantes que deben ser controlados con el objetivo de proteger la salud pública en todo el mundo (Wu, 2014).

1.2.2 Clasificación de los hongos que invaden el café

1.2.3 Hongos que producen toxinas

Las diferentes micotoxinas son producidas principalmente por cuatro géneros de hongos: *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium* y *Alternaria*. Aunque existen otros géneros como *Petromyces*, *Rosellina*, *Claviceps*, *Phomopsis*, *Pithomyces*, *Stachybotrys* y *Monascus*, que presentan especies productoras de micotoxinas. Las micotoxinas son metabolitos secundarios producidos por hongos toxigenicos.

A diferencia de los efectos negativos sobre la salud humana y animal, las funciones naturales de las micotoxinas no han sido claramente establecidas, pero se cree que participan en la eliminación de otros microorganismos que compiten en el mismo ambiente. Además, se piensa que ayudan a los hongos patógenos a invadir los tejidos del hospedero (Brase, 2009).

A excepción de las fumonisinas, las micotoxinas tienen afinidad por los lípidos, por lo tanto, tienden a acumularse en la fracción grasa de plantas y animales (Zain, 2011). En general, las toxinas se clasifican de acuerdo con la especie fúngica de la que se aislaron, a su estructura química y al modo de acción. Sin embargo, una sola especie puede producir varias toxinas y una toxina puede ser producida por diferentes especies fúngicas. (Hussein S, 2001)

1.2.4 Consecuencias de los hongos en el café.

En el cafeto existen diversas enfermedades que atacan todos los órganos de la planta durante su ciclo de desarrollo, desde la germinación hasta la producción.

Se han encontrado aproximadamente 300 organismos asociados con la planta del café encontrándose 60 enfermedades en el mundo. Desde 1956 se reportó para los países de América Latina, la existencia de 62 patógenos, de los cuales 25 resultaron importantes desde el punto de vista cuarentenario (Calleja, 2013).

El impacto económico incluye la pérdida de vidas humanas y animales, aumento en tratamientos médicos y veterinarios, eliminación de alimentos contaminados, la pérdida de producción agrícola, entre otros (Wu, 2014) A continuación se describen brevemente las principales micotoxinas producidas por hongos patógenos de plantas, comúnmente encontradas en alimentos de origen vegetal, y se comentan sus efectos adversos sobre la salud humana y animal.

1.2.5 Factores determinantes en el desarrollo de hongos

Los factores que influyen en el desarrollo de los hongos y la síntesis de micotoxinas en alimentos los podemos dividir en factores (tabla 6) intrínsecos y los factores extrínsecos (Pitt, 2009).

TABLA 6. FACTORES PARA EL DESARROLLO DE HONGOS

FACTOR	CARACTERISTICAS
HUMEDAD RELATIVA (HRE)	<p>Es la cantidad de humedad de la que disponen los microorganismos. Una vez alcanzado el equilibrio entre la humedad libre del producto y vapor de agua existente en el medio ambiente.</p> <p>Esto se expresa en por ciento.</p> <p>El % de humedad relativa, con respecto de un valor inferior al 65% representan un escaso crecimiento fúngico, el crecimiento y la proliferación se acelera con porcentajes de humedad >75. (Alberto, 2013).</p>
AGUA DISPONIBLE (aw)	<p>Es la relación existente entre el agua libre en los alimentos y la capacidad de los microorganismos para allí proliferar. La aw nos indica cual es la cantidad de agua disponible para el desarrollo de los hongos una vez se ha alcanzado el equilibrio hídrico en el sistema - alimento/medio ambiente.</p> <p>Así pues, la mayor parte de los hongos se desarrollan a partir de valores de aw de 0.70, en general es raro que haya hongos que germinen con valores de aw entre 0.60 y 0.70 y no obstante el crecimiento de mohos toxicogénicos ya se puede producir en un intervalo de aw de 0,70-0,85 (Alberto, 2013).</p>
TEMPERATURA	<p>La temperatura óptima para el desarrollo de los hongos se encuentra entre 25 y 30°C y el límite máximo entre 40 y 45°C. Destacamos que la mayor parte de los hongos no crecen por</p>

	debajo de 5°C y que sin embargo hay hongos como el <i>Aspergillus flavus</i> , <i>Aspergillus candidus</i> y <i>Aspergillus fumigatus</i> que pueden crecer sin problemas hasta los 55°C.
INTEGRIDAD DEL GRANO	Los tegumentos intactos del grano dificultan el acceso del hongo al almidón endospermico. Los granos partidos son más susceptibles de invasión y desarrollo fúngico, que los granos enteros. Esencialmente esto es debido a un aumento de la superficie de cultivo y una mayor predisposición para que el hongo contacte con la parte interna del grano, la cual es más vulnerable que la cutícula o parte externa.
pH	Los hongos toleran un gran intervalo de pH (2.5 - 7.5), de un modo general soportan mejor el medio ácido que el alcalino. Es de destacar que ellos mismos son capaces de alterar el pH, utilizando como fuente de energía los ácidos orgánicos del alimento o los excretados por bacterias acidificantes que pueden aparecer durante el periodo de deterioro del alimento (Alberto, 2013).
SUSTRATO	En general los hongos se nutren de micro y macroelementos existentes en los materiales orgánicos, sin embargo, la composición del sustrato está ligada a la producción de las micotoxinas.
MINERALES	Los nutrientes minerales, están relacionados con la composición del sustrato y a pesar de que el hierro y el zinc son los elementos más importantes para un desarrollo fúngico, tanto estos como otros pueden ser necesarios para la producción de micotoxinas. Estudios realizados por Alberto 2013, las concentraciones optimas de ciertos minerales son: de 0,055-2,2 mg/l de zinc., 0,004-0,04 mg/l de cobre., 1,2-2,4 mg/l de hierro.
OXIGENO	La mayor parte de los hongos son aerobios y por lo tanto necesitan oxígeno para el desarrollo de sus reacciones metabólicas. Una carencia de oxígeno condiciona el crecimiento de los hongos y la ausencia total puede llegar a producir la muerte de éstos.
PRESENCIA DE INSECTOS	La presencia de insectos actúa como agente de diseminación de la microflora y por lo tanto contribuye al crecimiento y multiplicación de los hongos. El propio metabolismo del insecto eleva el contenido de humedad del sustrato y además la rotura del pericarpio permite la infección del interior del

	grano.
<p style="text-align: center;">ESTIRPES ESPECIFICAS</p>	<p>En una misma especie fúngica, no todas las estirpes se comportan de la misma forma. La sola presencia de hongos en un determinado producto, aún de una cepa productora de micotoxina no significa que la micotoxina esté presente o que se vaya a producir, para que suceda eso se requieren que ocurran las condiciones ambientales de temperatura, humedad, sustrato y tiempo de incubación; sin embargo puede ocurrir el hecho de detectar la micotoxina sin la presencia de o los hongos productores, ya que éstos y sus esporas pueden haber desaparecido, no ocurriendo lo mismo con las micotoxinas, que permanecen en el sustrato.</p>

Fuente: Alberto, 2013.

Así mismo la temperatura mínima necesaria para el desarrollo de algunos mohos y la producción de micotoxinas se muestra en la tabla 7.

TABLA 7. TEMPERATURA MÍNIMA DESARROLLO EN LA PRODUCCIÓN DE MICOTOXINAS

MOHOS	°C DEL MOHO	MICOTOXINASS	°C DE LA MICOTOXINA
<i>ASPERGILLUS FLAVUS</i>	10	Aflatoxina	10
<i>ASPERGILLUS CLAVUS</i>	10	Patulina	12
<i>ASPERGILLUS OCHRACEUS</i>	10-12	Ocratoxina	12
<i>PENICILLUM EXPANSUM</i>	0	Patulina	0-24
<i>PENICILLUM CYCLOPIUM</i>	0	Ocratoxina	4

A pesar de estas temperaturas mínimas necesarias para el crecimiento de algunos mohos, de una forma generalizada (tabla 7) diremos que son condiciones óptimas para un crecimiento y proliferación fúngica, se define con aw superior a 0,75. A una temperatura

superior a 20°C (tabla 8) y orientativamente una humedad del sustrato de 14% o más. Con una actividad de agua a 20°C del 0,85 que aproximadamente puede corresponder a un 15-16% de humedad en el sustrato, las esporas fúngicas germinan en 5 a 12 días, en cambio con una actividad de agua de 0,75 (que corresponde aproximadamente al 13-14% de humedad en el sustrato) a la misma temperatura, las esporas fúngicas tardan en germinar de 4 a 12 semanas. Sin embargo, las cosas pueden variar significativamente si especificamos el tipo de semilla (alimento) de que se trata (Alberto, 2013).

Así pues, la mayor parte de los hongos se desarrollan (tabla 8) a partir de valores de aw de 0.75. En general la influencia del factor aw en el metabolismo de las micotoxinas solo está suficientemente estudiado para aflatoxinas, ocratoxinas, ácido penicílico y patulina. Sin embargo, la producción de micotoxinas sólo se da en condiciones de pleno desarrollo fúngico. Es decir, la producción de micotoxinas es nula o muy baja con aw inferior a 0,85 pese a que el crecimiento de mohos toxicogénicos ya se puede producir en un intervalo de aw de 0.70 a 0.85 (Alberto, 2013).

TABLA 8. TEMPERATURA Y AW EXIGIDAS PARA EL DESARROLLO DE MOHOS Y PRODUCCIÓN DE ALGUNAS MICOTOXINAS

MOHO	TEMP °C	AW	MICOTOXINAS	TEMP °C	PRODUCCIÓN
<i>ASPERGILLUS FLAVUS</i>	10	0.75	Aflatoxina	10-25	0.83
<i>ASPERGILLUS CLAVUS</i>	10	0.85	Patulina	12	0.83
<i>ASPERGILLUSOCHRACEUS</i>	10-12	0.77	Ocratoxina	12	0.99
<i>PENICILLUM EXPANSUM</i>	0	0.85	Patulina	0-24	0.99
<i>PENICILLUM CYCLOPIUM</i>	0	0.82	Ocratoxina	4-31	0.99

Fuente: Alberto, 2013.

1.3 Genero *Aspergillus*

1.3.1 Descripción del género *Aspergillus*

Aspergillus es un género que corresponde a la división de *Deuteromycota*, clase Hyphomycetes, orden Moniliales y familia *Moniliaceae* la cual se reproduce asexualmente por la formación de fila conidios (Ullmann, 2018). En las que se reconocen alrededor de 180

especies (Hedayati, 2017) por lo que algunas especies se reproducen sexualmente, las cuales corresponden a ocho o más géneros tele mórficos. La taxonomía del género más utilizada y compleja, aunque algunos conceptos han ya quedado obsoletos, el número de especies ha variado considerablemente. Recientemente, se han producido importantes cambios en la taxonomía de *Aspergillus ssp.* Y sus teleomorfos (Lee S. , 2016). Estos grupos fueron tratados como secciones pertenecientes a seis subgéneros (tabla 9) subgéneros y secciones del género *Aspergillus* (Vargas, 2008).

TABLA 9. SUBGENEROS Y SECCIONES DEL GENERO ASPERGILLUS

<i>Subgénero</i>	<i>Sección</i>
Nidulates	<i>Nidulantes, Sparsi, Ochraceorosei, Usti, Raperi, Silvati, Bispori</i>
Circumdati	<i>Flavi, Nigri, Circumdati, Cremei</i>
Fumigati	<i>Fimigati, Cervini, Clavati</i>
Terrei	<i>Terrei, Flavipedes</i>
Aspergillus	<i>Aspergillus, Resticti</i>
Candidi	<i>Candidi</i>
Omati	<i>Ornati</i>

Fuente: Vargas, 2008.

En la que especies más importantes productoras de micotoxinas se encuentran agrupadas en cinco secciones (tabla 9) que se pueden distinguir teniendo en cuenta algunas características, de las morfologías de las colonias, como el color de los conidios, diámetro de la colonia, aspecto y color micelial (Klich, 2002).

1.3.1.2 *Aspergillus Ochraceus*

Presenta micelio de color blanco, la formación de sus esclerosis es variable y presenta color rosado o púrpura, el color reverso de la colonia es amarillo (figura 15) o en ocasiones rojo, las colonias por lo general son pequeñas, planas y radiales. Los conidios son esféricos y llegan a medir entre 2.5-3.5µm (Pitt, 2009). La mayoría de la información de esta especie es



Figura 15. Conidifóra compuesta por una vesícula en el extremo de una hifa, con fiálides y esporas del *Aspergillus Ochraceus*

Fuente: Alchetron, 2013.

Principalmente en áreas tropicales de 0-15 grados de latitud, en suelos desérticos, también se ha encontrado en semillas almacenadas principalmente en el café. Son productoras de Ocratoxinas (Klich, 2002).

Aspergillus Ochraceus es una especie de moho en el género *Aspergillus* de la familia *Trichocomaceae* (tabla 10) conocido para producir la toxina ocratoxina a, una de las más abundantes micotoxinas contaminantes de los alimentos, y citrinina. Es un hongo filamentoso en la naturaleza y tiene características biseriados conidióforos. Tradicionalmente un hongo del suelo ha empezado ahora a adaptarse a nichos ecológicos variados, como los productos agrícolas, animales de granja y especies marinas. En seres humanos y animales la consumición de este hongo produce los efectos neurotóxicos, inmunosupresivos, genotóxico, carcinógenos y teratogénicos crónicos. Sus esporas aerotransportadas son una de las causas potenciales de asma en niños y enfermedades pulmonares en seres humanos. (Alchetron, 2013).

TABLA 10. CARACTERISTICAS DE A. OCHRACEUS

REINO	FUNGÍ (HONGO)
ORDEN	Eurotiales
GENERO	<i>Aspergillus</i>
MAYOR CLASIFICACIÓN	<i>Aspergillus</i> filo <i>Ascomycota</i>
FAMILIA	<i>Trichocomaceae</i>
NOMBRE CIENTÍFICO	<i>Aspergillus Ochraceus</i>
RANGO	Especies

Fuente: Alchetron, 2013.

1.3.1.3 *Aspergillus Flavus*

Tienen hifas tabiculares y conidióforos cuya cabeza está localizada en el extremo de una hifa, compuestas por una vesícula rodeada por una corona (figura 16) de fiálides en forma de botella directamente insertadas sobre la vesícula. De las fiálides se desprenden las esporas (conidios). Otras estructuras se encuentran en ciertas especies.

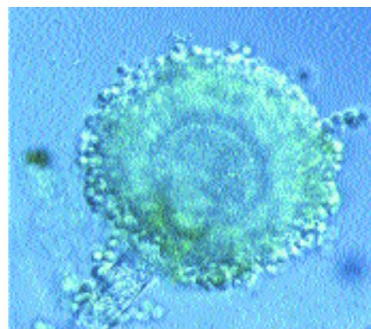


Figura 16. Hifas tabiculares y conidióforos, cabeza localizada en el extremo de una Hifa *Aspergillus Flavus*, vista desde el microscopio

Fuente: Alchetron, 2013.

Las características microscópicas (figura 16) el *aspergillus flavus* presenta cabezas conidiales uniseriadas y biseriadas, principalmente radiales; estipes normalmente rugosos, hialinos o

de color marrón pálido. Vesícula esférica; métulas ocupando prácticamente toda la superficie de la vesícula. Conidios globosos o elipsoidales, lisos o ligeramente rugosos.

Aspergillus es un género mitospórico que se caracteriza por la producción de hifas especializadas, denominadas conidióforos pertenecientes a la familia de las *Trichocomaceae* (tabla 11), sobre los que se encuentran las células conidiógenas que originarán las esporas asexuales o conidios (El conidióforo característico de *Aspergillus*, aunque es una estructura unicelular posee tres partes bien diferenciadas: vesícula (extremo apical hinchado), estipe (sección cilíndrica situada debajo de la vesícula) y célula pie (sección final, a veces separada por un septo, que une el conidióforo con el micelio). Sobre la vesícula se disponen las células conidiógenas, denominadas habitualmente fiálides. En muchas especies, entre la vesícula y las fiálides se encuentran otras células denominadas métulas. Las cabezas conidiales que sólo presentan fiálides se denominan uniseriadas, y las que presentan fiálides y métulas, biseriadas. (Albaca, 2001).

TABLA 11. CARACTERÍSTICAS DE *A. FLAVUS*

REINO	FUNGÍ (HONGO)
ORDEN	Eurotiales
GENERO	<i>Aspergillus</i>
MAYOR CLASIFICACIÓN	<i>Aspergillus</i> filo <i>Ascomycota</i>
FAMILIA	<i>Trichocomaceae</i>
NOMBRE CIENTÍFICO	<i>Aspergillus flavus</i>
RANGO	

1.4 Micotoxinas principales en café

1.4.1 Ocratoxinas

La ocratoxina A (OTA) es un metabolito fúngico tóxico clasificado por el Centro Internacional de Investigaciones sobre el Cáncer (CIIC) y el Comité Mixto FAO-OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios como posible carcinógeno humano (grupo 2B). Unas cuantas especies de hongos de los géneros *Aspergillus* y *Penicillium* producen OTA. En el café sólo la producen algunas especies de *Aspergillus*, específicamente *A. Ochraceus* y especies

afines (*A. westerdijkiae* y *A. steynii*), *A. niger* y especies afines, y *A. carbonarius*. La OTA se produce cuando están presentes las condiciones de actividad del agua, nutrición y temperatura necesarias para el crecimiento y la biosíntesis.

Las principales variedades comerciales de café que se producen y participan en el comercio son *Coffea arábica* (arábica) y *Coffea canephora* (robusta). Después de recogida se selecciona la cosecha, se seca (en bayas o en grano), se almacena y se introduce en el comercio. El contenido de humedad de los granos se reduce a un máximo de 12,5% para prevenir la formación de OTA (FAO/WHO, 2008).

1.4.1.2 Estructura química de Ocratoxina

La OTA (Figura 17) es una micotoxina producida por varias especies de *Aspergillus* y *Penicillium* en climas semi tropicales y templados; *A. westerdijkiae*, anteriormente incluida en el *A. ochraceus*. Especie, que es el principal productor. OTA tiene una molécula de dihidrocoumarina Ligada a través de su 7-grupo carboxil-fenilalanina por un enlace peptídico. Esta es una nefrotoxina potente y hepatotóxica que ejerce efectos teratogénicos, mutagénicos, carcinogénicos e inmunosupresores, incluso en los niveles sanguíneos (Taniwali, 2006).

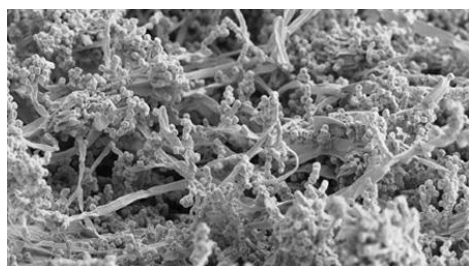


Figura 17. Filamentos; metabolito secundario de especie fúngica ocratoxina.

Fuente: Taniwali, 2006

Esta toxina (figura 18) es generalmente estable a temperaturas normales de cocción, pero no es resistente a las altas temperaturas del tueste del café. Por lo tanto, los cafés de medio a oscuro no suelen contener OTA a menos que las concentraciones iniciales en las semillas

fueran extremadamente altas. La destrucción de OTA en café es tiempo-y temperatura-dependiente y sigue cinética de la reacción de primer orden de la ecuación de Arrhenius similar a los ácidos clorogénicos. (Ferraz, 2010)

Sin embargo, debido a los diferentes métodos y condiciones alrededor del mundo, OTA aún es detectado en algunos cafés. De hecho, debido al alto consumo de café en Europa, el café representa aproximadamente el 7% de la ingesta total de OTA (WorldHealthOrganization, 2001).

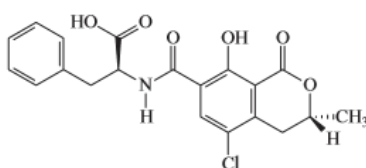


Figura 18. Estructura química de la ocratoxina A

Fuente: Taniwall, 2006.

1.4.1.3 Presencia de las Ocratoxinas en el café

La presencia de Ocratoxina A en el café se descubrió apenas en 1988. Poco después, la Unión Europea puso en marcha un programa de armonización de los reglamentos sobre la presencia de micotoxinas en los alimentos, que comprendía establecer la concentración máxima de OTA en el café. Estas medidas crearon conmoción en la industria del café, cuyo valor ronda los 70 000 millones de dólares al año. Un estudio encargado por la Federación Europea del Café (ECF) (que representa a los importadores de café verde, la torrefacción y la producción de café instantáneo) reveló que, el límite establecido para la OTA de 5 partes por billón (ppb) podría dar lugar al rechazo del 7% de las importaciones de café verde, y que todos los países exportadores de café sufrirían las repercusiones (WHO, 2001).

1.4.1.4 Consecuencia de la ocratoxina en café

Una vez que la OTA se introduce en los cultivos, la contaminación es muy difícil de remover completamente. Mientras que los estudios muestran una variación considerable en el grado de la reducción de OTA lograda por el tostado, los reportes confirman los niveles medibles en productos terminados, en línea con la característica científica de las micotoxinas como es

la resistencia química y al calor que les permiten persistir aun después del proceso de aniquilamiento de los hongos y otros microorganismos perjudiciales. (Coffee World Markets and Trade, Foreign Agricultural Service/ USDA, Office of Global Analysis, 2016)

Aunque las concentraciones de OTA en el café tostado pueden ser de tan solo unas pocas partes por billón (ppb), la evidencia sugiere que la exposición crónica a muy bajas dosis de OTA puede tener efectos negativos en la salud humana. Como causante comprobado de daño al riñón y enfermedades que incluyen cáncer en todas las especies de animales analizadas, la OTA ha sido también ligada a otras enfermedades renales y daño al hígado en humanos y, permanece bajo investigación como un posible carcinógeno primario humano.

Las implicaciones en la salud de la OTA son adicionalmente complicadas por su tendencia a ocurrir simultáneamente con aflatoxinas y fumonisinas, dos grupos de micotoxinas cuyos efectos fisiológicos son similares a los de OTA. Estudios de laboratorio e investigaciones en animales indican que las interacciones entre las diferentes micotoxinas en tales mezclas pueden incrementar dramáticamente su potencial toxico, incluyendo su carcinogenicidad. Estas interacciones pueden resultar en riesgos de salud particularmente severos cuando ocurren entre OTA y uno de los más fuertes carcinógenos humanos conocidos y una potente toxina para el hígado. Algunos investigadores han encontrado niveles de aflatoxina B1 en muestras de granos de café verde descafeinado, los oficiales de salud en muchos países podrían considerar significativos aun sin los efectos combinados de OTA. (Coffee World Markets and Trade, Foreign Agricultural Service/ USDA, Office of Global Analysis, 2016).

1.4.2 Aflatoxinas

Las aflatoxinas son un grupo de compuestos químicos orgánicos no proteicos, de bajo peso molecular, cuyo esqueleto básico es un anillo de furano unido al núcleo de cumarina, producidos principalmente por los hongos *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus* y *A. nonius*; así como los metabolitos de estos compuestos originados en el organismo de los animales que han consumido alimentos contaminados con aflatoxinas.

Las aflatoxinas se consideran como productos metabólicos secundarios, es decir que no tienen una función directa en el metabolismo vital fisiológico del moho sino parecen ser un factor de defensa para un medio hostil.

1.4.2.1 Estructura química de Aflatoxina

Químicamente, se trata de compuestos fluorescentes con una estructura cumarínica condensada con un bifurano y una pentanona (aflatoxinas B) o una lactona (aflatoxinas G) (Figura 20). Sus pesos moleculares oscilan entre 312 y 350. La denominación B es resultado de la exhibición de fluorescencia de color azul bajo la luz ultravioleta mientras que la G se refiere a la fluorescencia verde de estas estructuras bajo la luz ultravioleta (AESAN, 2011)

Se trata además de compuestos que presentan una baja solubilidad en el agua (figura 20), mientras que son solubles en cloroformo, soluciones acuosas de metanol, acetonitrilo o acetona. En su forma pura son inestables a la luz y al aire y pueden dañarse asimismo con amoníaco o con soluciones de hipoclorito de sodio. Asimismo, son termorresistentes con un punto de fusión superior a 250 °C y estables en un rango de pH entre 3 y 10. (Soriano del Castillo J. M., 2007)

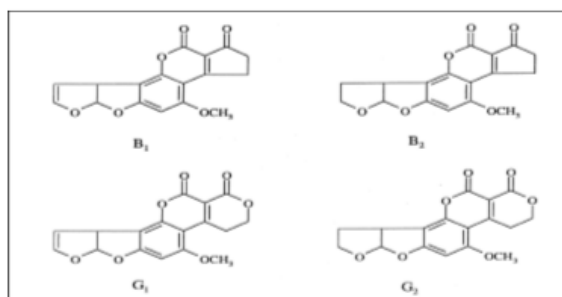


Figura 19. Estructura química de las aflatoxinas

Fuente: OTTA, 2000.

1.4.2.2 Presencia de las Aflatoxinas en el café

La aflatoxina, una toxina de un hongo de ocurrencia natural, es un carcinógeno del Grupo 1 que ha comprobado causar cáncer en humanos. La aflatoxina total está compuesta de la

suma de 4 aflatoxinas: B1, B2, G1 y G2; sin embargo, en algunos casos solamente la B1 es regulada. Por **ejemplo**, dentro de la Comunidad Europea para los granos de café.

Las especies de *Aspergillus* se encuentran en cualquier parte del mundo, pudiendo crecer en una gran variedad de condiciones ambientales tanto en pre como postcosecha. (Copetti, 2011). Y sobre una gran cantidad de materias primas y alimentos. Por eso, hay una elevada cantidad de productos que pueden ser susceptibles de contaminación. La presencia de *Aspergillus* no necesariamente implica presencia de aflatoxinas pues hay cepas no toxigénicas; sin embargo, lo que es más interesante, la ausencia de *Aspergillus* en el alimento no necesariamente implica que el alimento no tenga aflatoxinas, debido a que la toxina puede persistir aún después de que el moho haya desaparecido. *Aspergillus* spp requiere ciertas condiciones especiales para su crecimiento y la producción de aflatoxinas. Estos patrones, son similares para los principales hongos productores de aflatoxinas, *A. Flavus* y *A. Parasiticus*. En relación con los factores implicados en el crecimiento de los hongos pertenecientes al género *Aspergillus* en los alimentos, éstos son tanto propios del medio en el que se desarrollan (pH, composición del alimento, actividad de agua o el daño que pueda presentar el alimento, ya sea causado por insectos o por daños mecánicos. (Copetti, 2011)

1.4.2.3 Consecuencias de la Aflatoxina en café

Las aflatoxinas B y G son micotoxinas genotóxicas y carcinogénicas. Su ingesta se ha asociado con el daño hepático agudo, cirrosis hepática, la inducción de tumores y efectos teratogénicos (Fu et al., 2008). De hecho, las aflatoxinas son consideradas por la Agencia Internacional para la Investigación del cáncer como evidente cancerígeno en animales de experimentación y en humanos (Mohamed, 2011).

Sin embargo, aunque la ruta más conocida de exposición de aflatoxinas para humanos y animales es a través de la dieta, existe evidencia de que las aflatoxinas pueden entrar por vía respiratoria, siendo inhaladas como partículas de polvo y provocando casos agudos y crónicos de intoxicación por esta toxina.

Una vez ingeridas, las aflatoxinas son absorbidas en el intestino delgado y transportado por los glóbulos rojos y las proteínas plasmáticas hasta el hígado. Allí la toxina entrará en las células y serán metabolizadas (Soriano del Castillo, 2007).

Las manifestaciones clínicas de la aflatoxicosis pueden ser de tipo agudo que se producirá cuando se ingieran grandes cantidades de aflatoxinas en periodos de tiempo relativamente cortos, y de tipo crónico que es la forma más frecuente y en cierta forma más difícil de identificar, y es debido al consumo de alimentos contaminados con niveles bajos durante largos periodos de tiempo (Soriano del Castillo, 2007).

1.5 Normatividad e ingesta diaria

1.5.1 Codex alimentario

Las normas alimentarias, directrices y códigos de prácticas internacionales del Codex alimentario contribuyen a la inocuidad, la calidad y la equidad en el comercio internacional de alimentos. Los consumidores pueden confiar en que los productos alimentarios que compran son saludables y de calidad, y los importadores, en que los alimentos que han encargado se ajustan a sus especificaciones.

Naturaleza de las normas del Codex

Las normas y textos afines del Codex no sustituyen ni son una solución alternativa a la legislación nacional. Las leyes y procedimientos administrativos de cada país contienen disposiciones que es necesario cumplir.

En las normas y textos afines del Codex se estipulan los requisitos que han de satisfacer los alimentos con objeto de garantizar al consumidor un producto seguro y genuino, no adulterado y que esté debidamente etiquetado y presentado. Toda norma del Codex para un alimento o grupo de alimentos deberá redactarse de conformidad con el Formato de las normas del Codex sobre productos e incorporar, según proceda, las secciones enumeradas en el mismo. (ONU, 2000).

Las regulaciones actuales de la Unión Europea a través de la EFSA y el Codex Alimentario aplican solamente para el café tostado y soluble (p.ej. instantáneo); sin embargo, límites armonizados para café verde permanecen bajo consideración, 10 países tanto dentro como fuera de la Unión Europea tienen ya fijos sus propios límites para esta mercancía. Aunque los Estados Unidos aún tienen que establecer límites máximos para OTA, la FDA está actualmente monitoreando los niveles de OTA en productos importados y domésticos para informar sobre sus ponderaciones sobre las futuras medidas de control.

En países donde no aplican los límites máximo para café verde, los compradores con frecuencia fijan sus propios niveles para evitar la contaminación de los equipos de tostado y reducir así el riesgo de niveles remanentes de OTA durante el proceso de los productos terminados. Como una línea directiva, la Guía del Exportador del Centro Internacional de Comercio (ITO), previene sobre el uso de café verde con niveles de OTA que excedan 15 ppbs (FAO/WHO, 2008).

1.5.2 Límites a nivel mundial para las aflatoxinas

Comparativamente con la situación en 1995, los niveles máximos tolerados para la aflatoxina B1 en los alimentos no han cambiado dramáticamente en el año 2003, aunque se ha reducido algo el rango de los límites (1-20 $\mu\text{g}/\text{kg}$), con 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ como el límite vigente actualmente en por lo menos 29 países (figura 20). La mayoría de estos países pertenecen a la UE, (donde desde 1998 están vigentes para diversos productos los límites armonizados para la aflatoxina B1 y para la suma de las aflatoxinas B1, B2, G1 y G2), a la Asociación Europea de Libre Comercio y a los países candidatos a incorporarse a la UE. 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 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 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 aflatoxina B1. (ONU, 2000)

Límites a nivel mundial para la aflatoxina B1

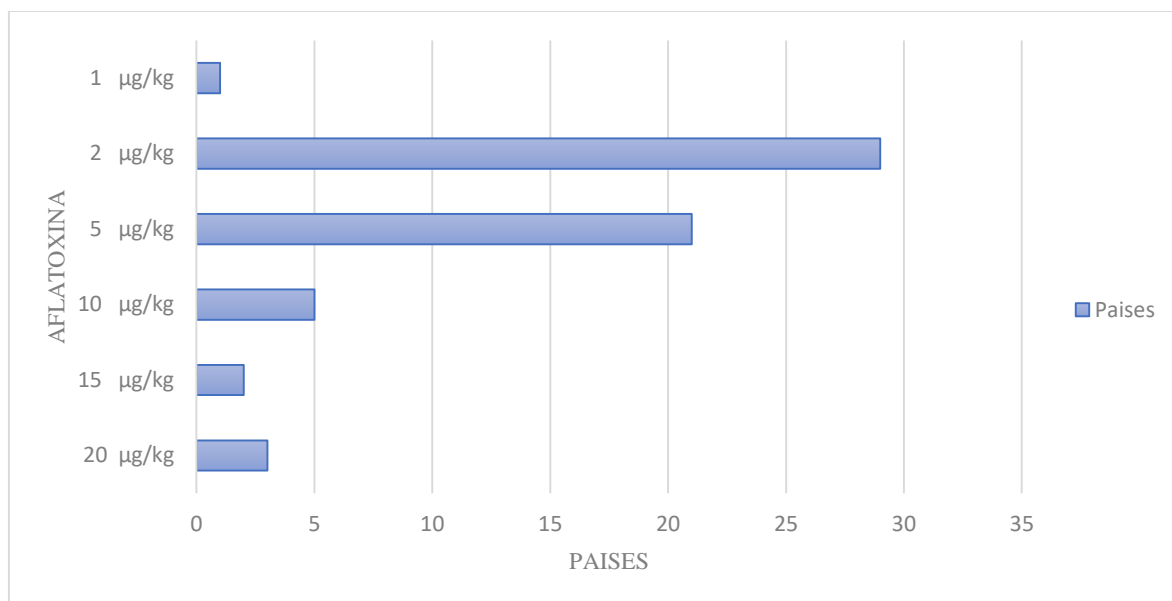


Figura 20. Límites a nivel mundial para la aflatoxina B1, en alimentos μ
Fuente: FAO, 2008.

1.5.3 Límites a nivel mundial para la ocratoxina

Las regulaciones actuales de la Unión Europea y el Codex Alimentario aplican solamente para el café tostado y soluble (tabla 12) (p.ej. instantáneo); sin embargo, límites armonizados para café verde permanecen bajo consideración, 10 países tanto dentro como fuera de la Unión Europea tienen ya fijos sus propios límites para esta mercancía. Aunque los Estados Unidos aún tienen que establecer límites máximos para OTA, la FDA está actualmente monitoreando los niveles de OTA en productos importados y domésticos para informar sobre sus ponderaciones sobre las futuras medidas de control. En países donde no aplican los límites máximos para café verde, los compradores con frecuencia fijan sus propios niveles para evitar la contaminación de los equipos de tostado y reducir así el riesgo de niveles remanentes de OTA durante el proceso de los productos terminados. Como una línea directiva, la Guía del Exportador del Centro Internacional de Comercio (ITO), previene sobre el uso de café verde con niveles de OTA que excedan 15 ppbs.

TABLA 12. LÍMITES DE OCRATOXINA EN DIFERENTES TIPOS DE CAFÉ EN EL MUNDO

PAÍS	LÍMITES DE OTA (PPBS)		
	Café Verde	Café Tostado	Café Soluble
ESTADOS MIEMBROS DE LA UNIÓN EUROPEA		5	10
BRASIL		10	10
BULGARIA	8	4	
REPUBLICA CHECA	10	10	10
EGIPTO		5	10
FINLANDIA	5	5	5
ALEMANIA		3	6
GRECIA	20	20	20
HUNGRÍA	15	10	10
INDONESIA		5	10
ITALIA	8	4	4
MALASIA		5	10
PORTUGAL	8	4	4
SINGAPUR	25	25	
COREA DEL SUR		<5	<10
ESPAÑA	8	4	4
SUIZA	5	5	5
PAISES BAJOS	5		

Fuente: Taniwali, 2006.

Normas Mexicanas

Debido a que en México no hay ninguna regulación ni reglamentación de micotoxinas en los granos de café, por lo que en México las normas existentes relacionadas:

La producción de café se rige cada vez más por la legislación de la UE. Los límites de la UE publicados en 2006 (núm. 1881/2006) son:

- a) 5 µg OTA kg⁻¹ para granos de café tostados y café molido tostado.
- b) 10 µg kg⁻¹ para café soluble (café instantáneo).

Es interesante que algunas muestras en encuestas (tabla 6) tengan niveles más altos. La Federación Europea del café.

- a) Sigue la legislación.
- b) Define la posición del sector Cafetero.
- c) Mantiene contactos con las instituciones de la UE. Además, países como Brasil, Cuba, Indonesia, la República Islámica de Irán y Singapur tienen reglamentos nacionales para la comercialización del café.

TABLA 13. INCIDENCIA DE OCRATOXINA A EN CAFÉ TOSTADO COMERCIAL

PAÍSES	EN TODO EL MUNDO	
	RANGO DE OTA MG/KG	N° DE MUESTRAS/N° DE POSITIVOS
JAPÓN	3.2-17.0	68/5
REINO UNIDO	0.2-2.1	20/17
DINAMARCA	0.1-3.2	11/11
ESPAÑA	0.22-5.64	29/29
ESTADOS UNIDOS	0.1-1.2	13/9
BRASIL	0.99-5.87	47/41
ALEMANIA	0.3-3.3	67/22
CANADÁ	0.1-2.3	71/42

HUNGRÍA	0.17-1.3	38/22
INDIA	<0.1	2/0
JAPÓN	0.11-0.33	9/3
FRANCIA	≤0.025-11.9	30/25

Fuente: Taniwali, 2006.

1.6 Técnicas para la determinación de hongos

Los procedimientos disponibles actualmente para determinación de hongos pueden dividirse en métodos tradicionales basados en técnicas microscópicas, recuentos en placas de agar o membranas y técnicas basadas en número.

Sin embargo, estas técnicas basadas en recuentos en placas de agar tienen como principal desventaja la demora en la obtención de resultados.

Debido a estos inconvenientes y sumada la necesidad de evaluar la viabilidad de los hongos, se han desarrollado, técnicas se debe destacar el análisis usando tinciones selectivas o fluorescentes.

1.6.1 Métodos de análisis de micotoxinas

Los métodos normalizados de análisis para diferentes micotoxinas han sido recomendados por parte de la Asociación Oficial de Químicos Analíticos, y el Comité Europeo de Normalización. Como Métodos Oficiales de la AOAC Internacional se pueden encontrar alrededor de cuarenta métodos válidos para análisis de micotoxinas mientras que el Comité Europeo de Normalización, ha publicado un documento con criterios específicos para varios métodos de análisis de micotoxinas. Los análisis de micotoxinas requieren un alto grado de exactitud, precisión y reproducibilidad (Soriano del Castillo J. , 2007).

1.6.1.2 Métodos de extracción y purificación

- ❖ Extracción de fase sólida
- ❖ Extracción con columnas
- ❖ Dispersión de matriz en fase sólida

❖ Micro extracción en fase solida

1.6.1.3 Extracción con columnas de intercambio iónico

El intercambio iónico requiere que la micotoxina a analizar se encuentre en forma iónica en un disolvente acuoso y para ello juega un papel importante la regulación del pH del medio dependerá de la constante de acidez (K_a) de la micotoxina. Los compuestos en forma aniónica se aíslan mediante columnas de intercambio aniónico (Soriano del Castillo J. , 2007).

1.6.1.4 Extracción con columnas de inmunoafinidad

Ha cobrado una gran popularidad en los últimos años, por su facilidad de uso y alta selectividad frente a otras técnicas de extracción, Las micotoxinas tienen, por lo general, un tamaño molecular bajo comportándose como sustancias heptano.

Los anticuerpos producidos requieren una unión a distintos transportadores tales como agarosa, sefarosa o dextrano, para fijarlo en fase estacionario.

El procedimiento consiste en acondicionar previamente la columna de inmunoafinidad, para luego añadir el extracto objeto de análisis, la micotoxina problema se unirá a los anticuerpos monoclonales fijados en la columna de inmunoafinidad y mediante en liquido de lavado podrán eliminare los restos del extracto. Por último, la elución de la micotoxina permitirá continuar el análisis (Soriano del Castillo J. , 2007).

1.6.1.5 Técnicas de exploración o screening

La finalidad analítica de las técnicas de exploración es la de descartar de una manera rápida las muestras negativas y reducir al máximo el número de análisis. Se aplican

cuando existe un gran número de muestras (Soriano del Castillo J. , 2007).. Las técnicas de exploración más empleadas para el análisis de micotoxinas son;

- ❖ Inmunoensayos
- ❖ Biosensores

1.6.1.6 Extracción asistida por microondas

Se basa en la absorción de energía de microondas por el disolvente y la muestra, produciéndose un incremento de la temperatura que facilita la difusión de compuestos desde la matriz del disolvente (Soriano del Castillo J. , 2007).

1.6.1.7 Técnicas de Confirmación

Estas pruebas tienen como objetivo verificar y confirmar los resultados (Soriano del Castillo J. , 2007). La elección de la técnica para la confirmación depende de la disponibilidad el tiempo y costos. Las técnicas de confirmación más empleadas para el análisis de micotoxinas son;

- ❖ Cromatografía en capa fina
- ❖ Electroforesis capilar
- ❖ Cromatografía gaseosa
- ❖ Cromatografía líquida

1.7 Objetivos

Objetivo general

Detección de Aflatoxina B1 y Ocratoxina A en granos de café mexicano mediante columnas de inmunoafinidad para verificar si cuenta con los límites permisibles en el Codex alimentario $5\mu/\text{Kg}$ y $2\mu/\text{Kg}$.

Objetivo particular 1

- ❖ Cuantificar las Aflatoxina B1 en granos de café distribuidos en centros comerciales mediante la técnica de columnas de inmunoafinidad para establecer la calidad del grano.

Objetivo particular 2

- ❖ Cuantificar las Aflatoxina B1 en granos de café distribuidos en tiendas especializadas en venta de café, mediante la técnica de columnas de inmunoafinidad para establecer la calidad del grano.

Objetivo particular 3

- ❖ Cuantificar Ocratoxina A en granos de café distribuidos en centros comerciales mediante la técnica de columnas de inmunoafinidad para establecer la calidad del grano.

Objetivo particular 4

- ❖ Cuantificar Ocratoxina A en granos de café distribuidos en tiendas especializadas en venta de café, mediante la técnica de columnas de inmunoafinidad para establecer la calidad del grano.

2.0 Metodología experimental

2.1 Cuadro Metodológico

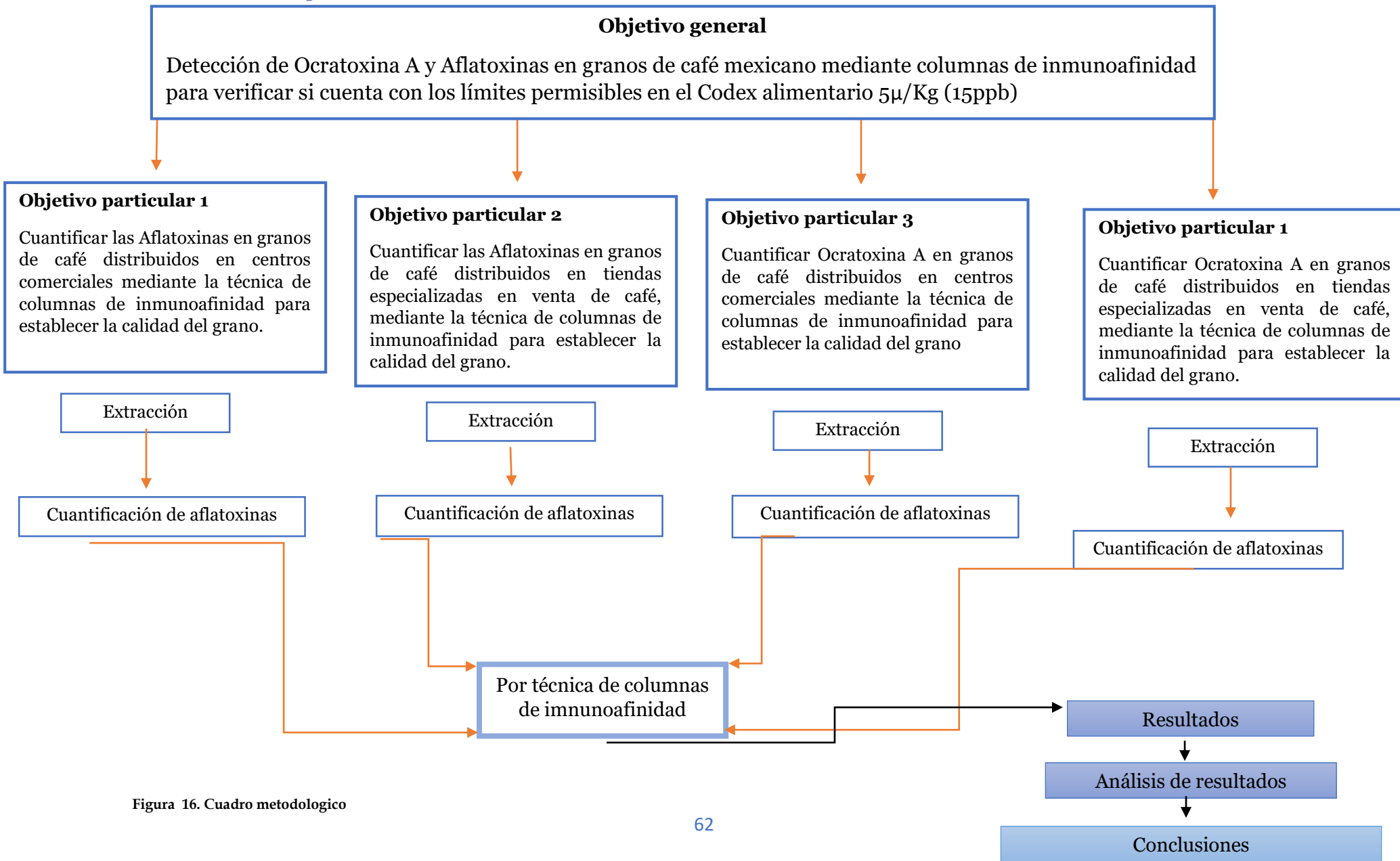


Figura 16. Cuadro metodológico

2.2 Materiales y métodos

A continuación, se detallan los procedimientos que se utilizaron a lo largo de la experimentación para poder cumplir los objetivos planteados.

2.2.1 Obtención de las muestras

Las muestras de café se dividieron en 3 grupos; centros comerciales, tiendas especializadas, y online, los centros comerciales donde se adquirió los granos de café tostado, fue Walmart, Comercial Mexicana en el estado de México, el café en tiendas especializadas se encontró en “Café Chavalete” (figura 23) ubicada cerca del mercado de San Juan en la delegación Cuauhtémoc en la Ciudad de México, y el café en tienda online se obtuvo en Mercado libre.

Para la experimentación se tomaron 4 muestras de las 3 tiendas, y se hizo por duplicado tanto para aflatoxinas como para ocratoxinas.

Así se analizaron 24 muestras para aflatoxinas y 24 ocratoxinas.

Tienda especializada “El chavalete”



Figura 17. Café el Chavalete



Figura 18. Tienda Chavalete local

El local donde se adquirieron fue en la sucursal ubicada en Centro Histórico (figura 24), en Ayuntamiento# 18 esquina con López, Colonia Centro, para poder obtener las muestras, encuentran en contenedores, sin ningún recubrimiento sin ningún tipo de protección especialmente del polvo, que se genera en el ambiente por el paso de las personas y circulación de autos en la calle y la manipulación de los trabajadores con los granos de café.

Al momento de adquirir las muestras, se pesaba la cantidad seleccionada, y se envolvía en una bolsa de papel café como se muestra en la (figura 23)

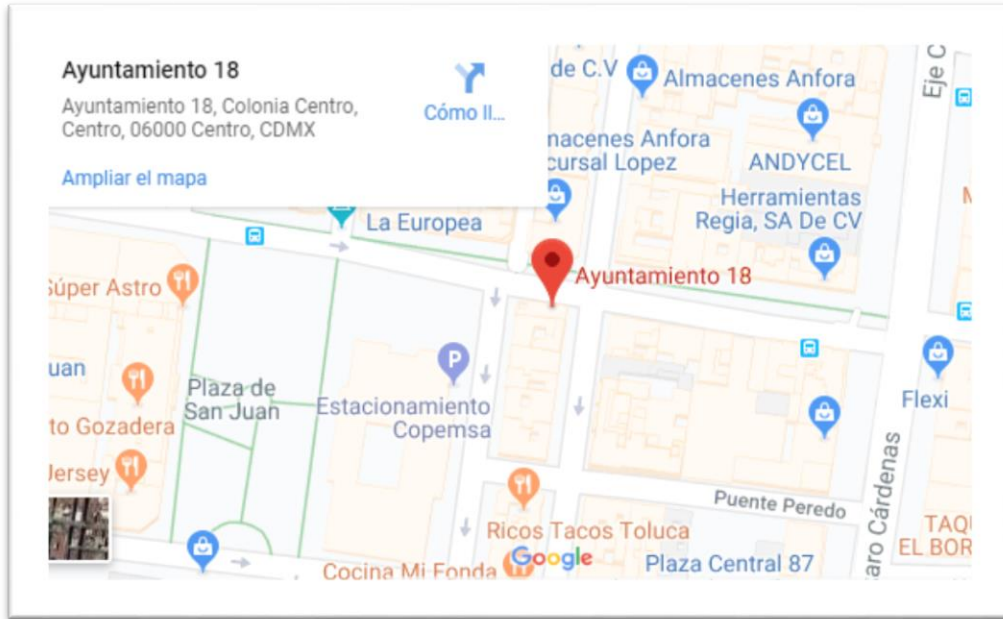


Figura 19. Localización de la tienda especializada

En la (figura 25) se muestra la ubicación de la sucursal mediante Google maps, en la cual podemos observar que es de fácil localización.

Centros Comerciales

Las muestras de cafés en grano para esta experimentación se encontraron en la cadena de tiendas Walmart y Comercial Mexicana donde se adquirieron 2 muestras en cada tienda de autoservicio.

Tienda Online

La página de internet en donde se obtuvieron las muestras fue "Mercado libre". Las 4 muestras fueron marca oso verde.

2.3 Determinación de microbiota

Para la identificación de los hongos presentes en las muestras de grano de café, se utilizó la técnica de siembra en placa agar, se preparó un medio de cultivo agar Sabourand y agar dextrosa papa para el aislamiento, ya que muestra la morfología característica de cada hongo. Para este medio de cultivo a Posteriormente se placas preparadas del grano en las granos por cada 8 días y también se realizaron 3



procedimiento, primero se preparó el las condiciones de 120lb por 15 min. realizó la prueba de esterilidad a las con el medio. Se continuó con la siembra cajas con medio de cultivo, colocando 12 caja de Petri, se incubaron a 26°C durante incubaron a temperatura ambiente se repeticiones por muestra.

Figura 20. Determinación de microbiota

2.4 Determinación de las micotoxinas

Las micotoxinas fueron cuantificadas, mediante la técnica de columnas de inmunoafinidad de anticuerpos monoclonales marca VICAM, en el Laboratorio 14 de la UIM en la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán Campo 4. Esta técnica la contempla la NORMA Oficial Mexicana NOM-188-SSA1-2002, Productos y Servicios. Control de aflatoxinas en cereales para consumo humano y animal. Especificaciones sanitarias.

2.4.1 Determinación de Ocratoxina A

Es un método de identificación que se realizó con una columna de afinidad marca VICAM unida a un soporte de bomba. El soporte tiene una jeringa graduada de vidrio de 10 ml que sirve como depósito para la columna. La bomba con una manguera que proporciona presión de aire para empujar manualmente los líquidos a través de la columna. O bien se conecta una bomba con aire ajustable en lugar de la jeringa para que funcione sin necesidad de utilizar presión manual, el soporte de bomba de doble posición para ejecutar 2 muestras a la vez, se colocan las columnas marca VICAM-OchraTest.

A continuación, se describe la metodología usada para la determinación de la ocratoxina A.

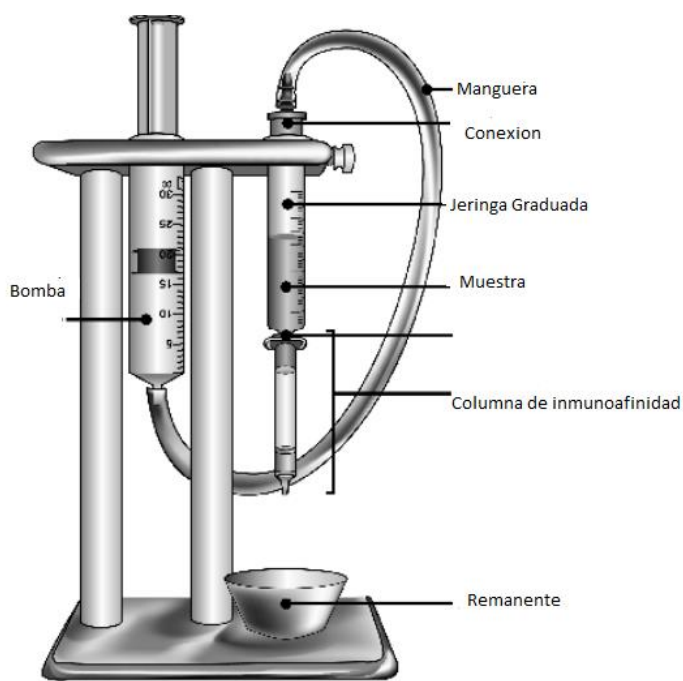


Figura 21. Columna de inmunoadfinidad

1. Retire la tapa superior grande de la columna.
2. Corte la parte inferior de la columna 1/8 in del extremo de la tapa superior de plástico con tijeras. Esto proporciona un acoplamiento reutilizable para reconectar la columna ochratext.
3. Vierta el extracto después de la filtración de microfibras en el depósito de la jeringa de vidrio.
4. Inserte en el extremo de la jeringa de vidrio a la columna retirando la tapa inferior y de la columna.
5. Encienda la bomba para empujar el líquido a través de la columna, mantenga el caudal de 1 a 2 gotas por segundo. Empuje todo el líquido a través de la columna, repitiendo el procedimiento para los pasos de lavado y elución.

2.4.2 Determinación de Aflatoxinas B1

Fundamento:

Las AF son extraídas de la muestra con metanol al 80%, el extracto es filtrado y diluido con agua filtrado y pasando a través de una columna de inmunoafinidad marca VICAM utilizando la columna Aflatest es un método cuantitativo que puede aislar aflatoxinas B1 y B2 de alimentos para animales, alimento humano, granos y nueces vía detección fluorométrica o HPLC. Aflatest es sensible, sencillo y rápido, permitiendo análisis rápidos para niveles de partes por billón o partes por trillón, la cual un anticuerpo monoclonal específico para la AF, en este estado la aflatoxina se liga al anticuerpo de la columna. La columna es entonces lavada con agua para eliminar impurezas. Después de pasar el metanol a través de la columna, las AF son removidas del anticuerpo, esta solución es medida en un fluorometro.

Procedimiento

Preparación de la muestra analítica

- Pesar 25g de la muestra e introducirla en el vaso de la licuadora.
- Adicionar 5g de cloruro de sodio y 100 ml de metanol al 80%.
- Licuar durante un minuto a alta velocidad.
- Filtrar a través de papel aflautado.

Extracción de las AF por medio de las columnas de inmunoafinidad

- Medir 10 ml del filtrado y adicionar 40 ml de agua destilada.
- Filtrar a través de papel filtro a velocidad de 1 o 2 gotas por segundo pasando por la columna.
- Adicionar 10 ml de agua destilada a la columna, filtrar de 1 o 2 gotas por segundo.
- Añadir 1.5 ml de la solución diluyente (aflatest) a la columna.
- Conectar una columna de inmunoafinidad a la punta de una jeringa de vidrio colocada en la bomba manual.

Quitar la tapa de la columna de inmunoafinidad y pasar el filtrado 2 a través de ella a razón de flujo de 2 gotas por segundo. Colectar en el frasco para residuos

- Recolectar en un tubo 1.5 ml
- Colocar la celda en el fluorometro previamente calibrado.
- Leer la concentración de AF después de 60 segundos directamente.

3.0 Resultados y discusión

3.1. Microbiota en muestras de granos de café

De acuerdo con la experimentación descrita no se encontró presencia de hongos en todas las muestras de granos de café.

3.2 Resultados promedio de Ocratoxina

Con base a la metodología descrita a continuación se presentan los resultados obtenidos

TABLA 14.DATOS OBTENIDOS EN LA CUANTIFICACION DE OCRATOXINAS EN TIENDA ESPECIALIZADA

MUESTRA	Repetición 1 ppb	Repetición 2 ppb	Promedio ppb
1	8.4	4.4	6.4
2	12.5	37.5	25
3	30	20	25
4	18	18	18

En la tabla 14 se muestran los datos promedio obtenidos de la cuantificación de ocratoxinas de las muestras obtenidas de tiendas especializadas, en 4 diferentes variedades de café ~~en~~ con un intervalo de 6.4-25 ppb, en la cual se muestra la mayor concentración de ocratoxina en las variedades 2 y 3 con un valor de 25ppb y una menor concentración de 6.4 en la muestra 1. La normatividad vigente de acuerdo con el Codex Alimentario establece 5µg/kg

por lo que las muestras obtenidas se encuentran por encima de la norma. Por lo que puede ser debido a que, los mohos no crecen en alimentos debidamente secos y almacenados, por lo que un secado eficiente de los productos básicos y el mantenimiento de la sequedad o el almacenamiento adecuado, son medidas eficaces contra el crecimiento de mohos y la producción de micotoxinas.

TABLA 15. DATOS OBTENIDOS DE LA CUANTIFICACION DE OCRATOXINAS EN TIENDAS COMERCIALES

MUESTRAS	Repetición 1 ppb	Repetición 2 ppb	Promedio Ppb
1	50	50	50
2	7	8	7.5
3	9.2	9	9.1
4	24	24	24

En la tabla 15 se muestran los datos obtenidos de la cuantificación de ocratoxinas en 4 diferentes muestras de marcas comerciales con un intervalo de 7.5-50 ppb en la cual se muestra la mayor concentración de ocratoxina en la muestra 1 con 50ppb y una menor concentración en la muestra 4 con un total de 7.5 Debido a que los métodos de almacenamiento contribuyen al crecimiento del moho y a la formación de micotoxinas. La mayoría de los granos de café se almacenan durante largos períodos de tiempo en condiciones de calor y humedad.

TABLA 16. DATOS OBTENIDOS DE LA CUANTIFICACION DE OCRATOXINAS EN TIENDA ONLINE

MUESTRA	Repetición 1 ppb	Repetición 2 ppb	Promedio Ppb
1	73	31	52
2	74	74	74
3	55	37	46
4	54	54	54

En la tabla 16 se muestran los datos obtenidos promedio en la cuantificación de ocratoxinas de café comprado online, los resultados son entre un rango de 52 a 74 ppb, la cual el mayor valor alcanzado es de 74ppb en la muestra número 3 y un menor valor el menor valor, 52ppb.

3.3 Resultados promedio de Aflatoxina

TABLA 17. DATOS OBTENIDOS DE LA CUANTIFICACION DE AFLATOXINAS EN TIENDA ESPECIALIZADA

MUESTRA	Repetición 1 ppb	Repetición 2 ppb	Promedio ppb
1	18	20	19
2	50	50	50
3	78	78	78
4	120	140	130

En la tabla 17 se muestran los datos obtenidos de la cuantificación de aflatoxinas en 4 diferentes muestras de café en tienda especializada con un intervalo de 19-130 ppb, en la cual se muestra la mayor concentración de aflatoxina 130ppb en la muestra 4 y una menor concentración de 19ppb en muestra 1. Ya que se ha detectado como contaminantes naturales en un gran número de productos agrícolas, habiéndose confirmado su presencia en todas las muestras analizadas y, en mayor o menor grado

TABLA 18. DATOS OBTENIDOS DE LA CUANTIFICACION DE AFLATOXINAS EN TIENDAS COMERCIALES

MUESTRA	Repetición 1 ppb	Repetición 2 ppb	Promedio ppb
1	65	61	63
2	25	29	27
3	35	35	35
4	25	25	25

En la tabla 18 se muestran los datos promedio obtenidos de la cuantificación de aflatoxinas en 4 diferentes variedades de café en un intervalo de 25-63ppb, en la cual la mayor

concentración de aflatoxina se encuentra en la muestra 1 con un valor de 63 ppb y una menor concentración de 25ppb en la muestra 4. Las aflatoxinas, producidas por los mohos *Aspergillus flavus* ya que crecen en el suelo, la vegetación en descomposición, el heno y los cereales, se encuentran entre las micotoxinas más tóxicas minimizar el riesgo de las micotoxinas para la salud, se recomienda: inspeccionar los granos enteros (que están frecuentemente contaminados con aflatoxinas, para detectar la presencia de mohos, y descartar los que tengan un aspecto mohoso, descolorado o marchito.

TABLA 19.DATOS OBTENIDOS DE LA CUANTIFICACION DE AFLATOXINAS EN TIENDA ONLINE

MUESTRA	Repetición 1 ppb	Repetición 2 Ppb	Promedio ppb
1	19	19	19
2	50	50	50
3	75	81	78
4	103	81	100

En la tabla 19 se muestran los datos promedio obtenidos de la cuantificación de aflatoxinas en 4 diferentes variedades de café en un intervalo de 19-100ppb, en la cual la mayor concentración de aflatoxina se encuentra en la muestra 4 con un valor de 100ppb y una menor concentración de 19ppb en la muestra 1. Debido a que los gobiernos y la Comisión del Codex Alimentarius utilizan las evaluaciones de riesgos de las micotoxinas presentes en los alimentos que hace el Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios para establecer niveles máximos en los alimentos o proporcionar otros consejos sobre la gestión de riesgos para controlar o prevenir la contaminación. Por lo que las pocas reglamentaciones mexicanas permiten que se obtengas resultados tan altos de aflatoxinas.

3.4 Ocratoxina identificada en tiendas comerciales

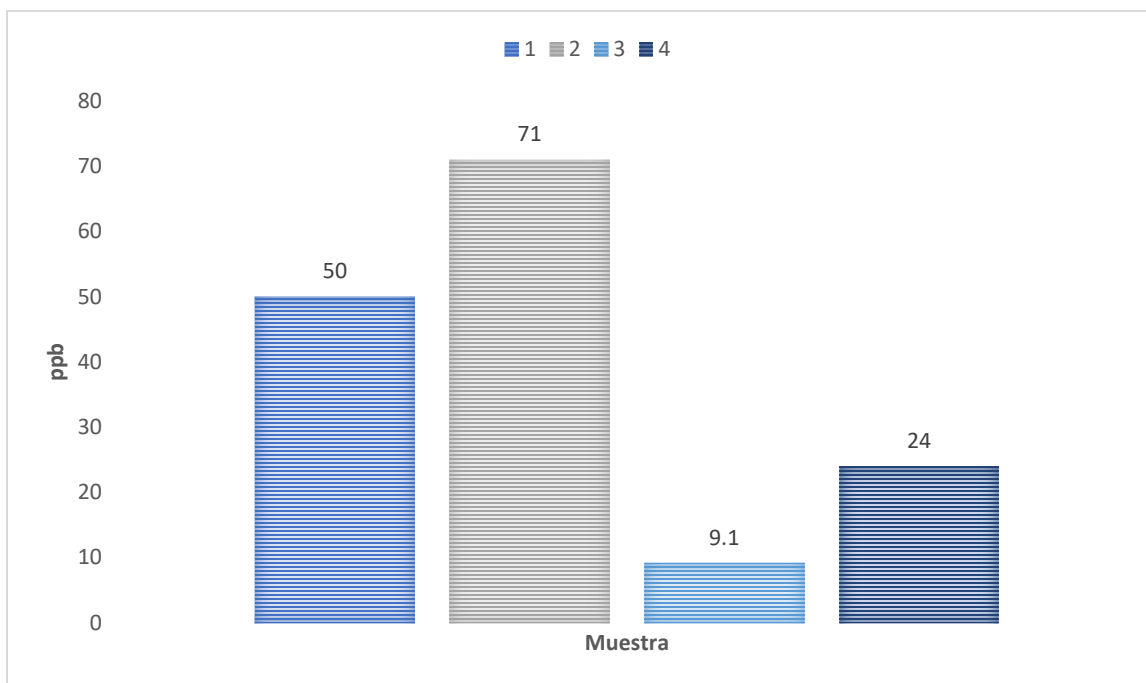


Figura 22. Ocratoxina en tienda comercial

En la (figura 27) se presenta el grafico de ocratoxina encontrada en granos de café en tiendas comerciales.

Durante la experimentación en las muestras analizadas se encontraron niveles de ocratoxina A, en un intervalo desde 9.1 ppb hasta los 71ppb, las cuales superan el límite máximo permitido por la unión europea, para la concentración de $5\mu\text{g}/\text{kg}$. Debido a que en México no hay ninguna regulación ni reglamentación de ocratoxina en los granos de café, sin embargo, los niveles establecidos por la NOM-188-SSA1-2002 (control de aflatoxinas en cereales para consumo humano y animal), se encuentra fuera de la norma ya que el límite máximo de aflatoxinas es ($20\mu\text{g Kg}^{-1}$) y animal (de 21 a $300\mu\text{g Kg}^{-1}$).

El café es un alimento importante en el consumo humano, y que a pesar de los avances tecnológicos ni el proceso de tostado ni el de preparación aseguran la destrucción completa de OTA, por lo que es necesario un correcto control de higiene en la producción de café

verde para preservar la salud de los consumidores, disminuyendo así su exposición a la ingesta alimentaria de esta toxina. (A. Ravelo Abreu, 2011).

3.7 Ocratoxina identificada en tiendas especializada

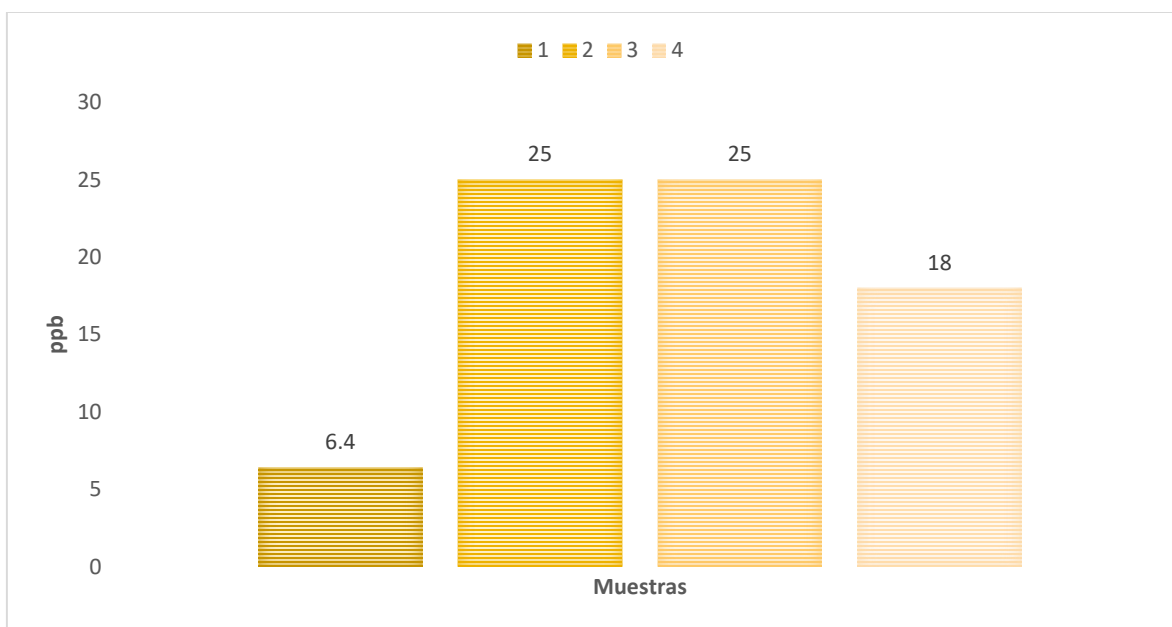


Figura 23. Ocratoxina en tienda especializada

Durante la experimentación en las muestras analizadas se encontraron niveles de ocratoxina A en la tienda especializada (figura 28) con intervalos superan el límite máximo permitido por la unión europea y el Codex alimentario.

Según (Robledo, 2013) en México no se ha publicado ningún estudio sobre la presencia de esta toxina en café en su trabajo indican que un 67% de las muestras de café analizadas se encontró contaminación por ocratoxina A, con un promedio de 30,1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ -1 siendo los resultados obtenidos ligeramente superiores a los observados en otros países importantes por su producción cafetalera, como Colombia, Brasil, Zaire o Tanzania (Studer-Rohr I, 2013) Hay que hacer constar que el tostado del café no es un proceso que asegure la total destrucción de esta toxina , habiéndose incluso demostrado que tratamientos de 200 °C

durante 20 min no consiguen reducir una concentración inicial de 114 $\mu\text{g OA/kg}$ café verde en más de un 12 % (Robledo, 2013).

A la vista de los resultados ofrecidos en este estudio preliminar, si en México se tuvieran más controladas las condiciones de cultivo, almacenamiento y venta, la inocuidad del alimento sería mayor.

3.6 Ocratoxina identificada en tienda online

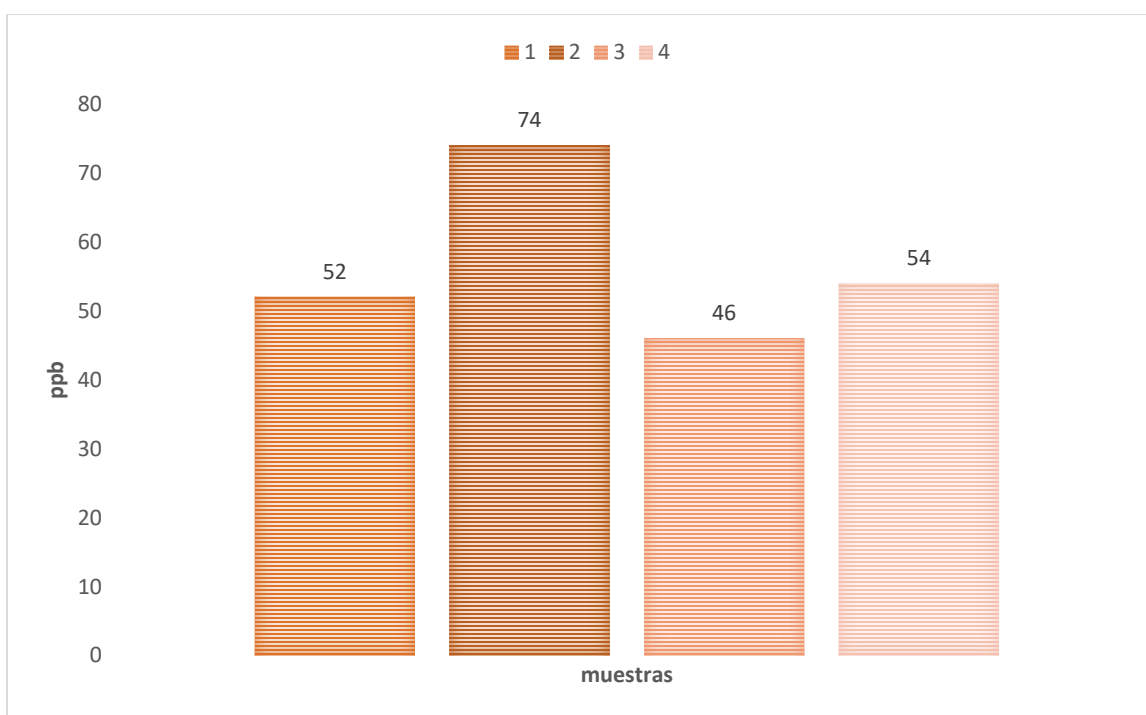


Figura 24. Ocratoxina en tienda online

En la (figura 29) los resultados en la ocratoxina A, indican niveles por arriba de la norma del codex alimentario, han sido detectados en las diferentes etapas del manejo del producto, y su desarrollo se ve influenciado por diferentes factores, como humedad condiciones ambientales composición del 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 antagónicos de los productores de micotoxinas), protegen de manera natural la cereza de la invasión. (Heriberto Franco, 2014)

3.7 Resultados comparativos de ocratoxina

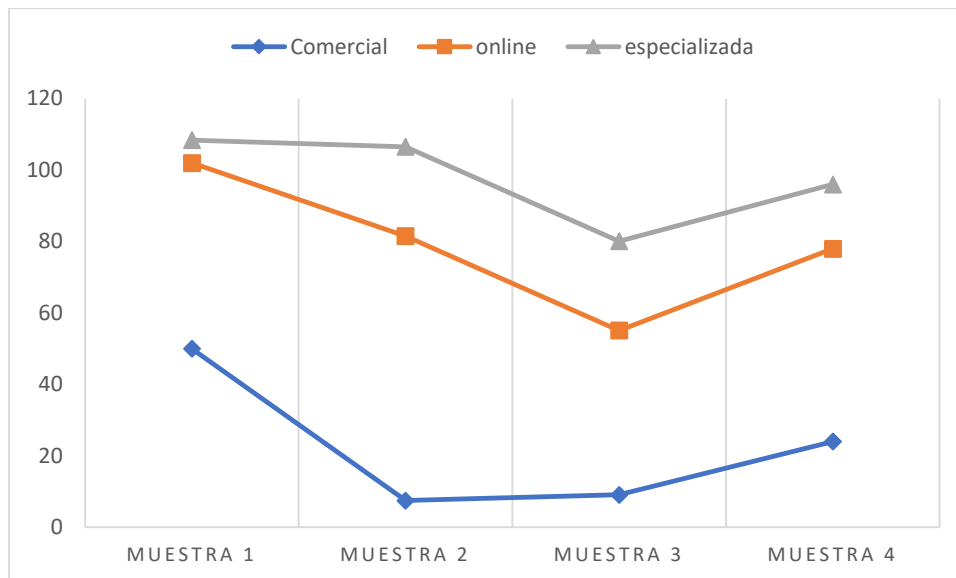


Figura 25. Resultados comparativos de ocratoxina

El primer factor que llega a tener una influencia directa en el resultado es el muestreo. El contaminante tóxico natural Ocratoxina A (OTA) presenta una amenaza continua a la comercialización y valor del café en cada paso de su recorrido al mercado. Para cultivadores. El problema del muestreo, en el caso de micotoxinas, es un problema bastante fuerte y representa la mayor fuente de error en los resultados por lo cual en la figura se muestra una tendencia al alza en la cuenta de las ocratoxinas (Arellano, 2013). En este aspecto hay consenso respecto a que un mal procedimiento de muestreo lleva a resultados que difieren de un laboratorio a otro. Por lo tanto, se recomienda seguir un procedimiento más riguroso en cuanto a realizar más repeticiones, y un muestro más completo de los lotes.

En la (figura 30) la cantidad de ocratoxina en tiendas especializadas se encuentra en mayor proporción debido a que los granos de café no se encontraron almacenados en condiciones adecuadas al no tener bien establecidos las buenas prácticas en la cadena de suministro como es el almacenamiento se logran niveles más elevados (Arellano, 2013).

3.8 Aflatoxina identificada en tienda especializada

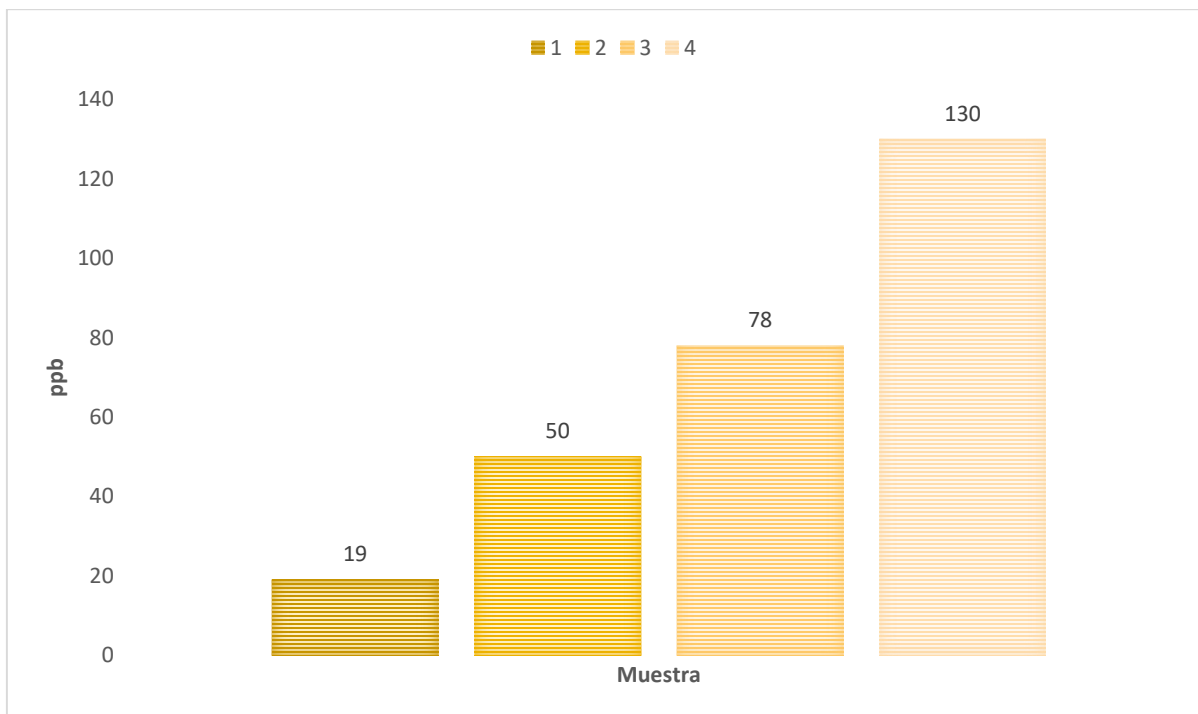


Figura 26. Aflatoxina en tienda especializada

En la (figura 31) muestra los altos índices de aflatoxina encontrados en las muestras de café en tiendas especializadas con valores por arriba de 100 ppb, en la que la calidad inicial de los granos cosechados, la presencia de hongos productores de aflatoxinas, así como las condiciones del sitio de procesamiento, pueden contribuir a la formación de micotoxinas durante el beneficiado húmedo. 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. (Heriberto Franco, 2014). El Codex Alimentarius estableció un contenido de $10 \mu\text{g kg}^{-1}$ en consecuencia los resultados se encuentran fuera de norma.

3.9 Aflatoxina identificada en tienda comercial

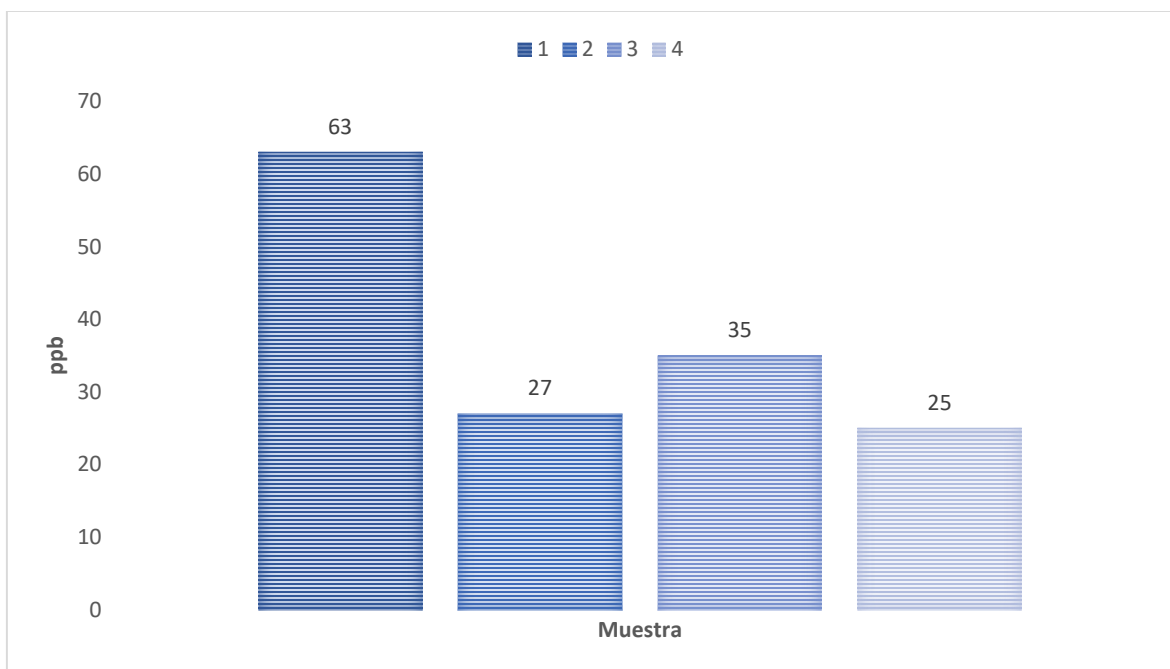


Figura 27. Aflatoxina en tienda comercial

Los niveles establecidos por la NOM-188-SSA1-2002 (control de aflatoxinas en cereales para consumo humano y animal), aflatoxinas es de (20 $\mu\text{g Kg}^{-1}$) y animal (de 21 a 300 $\mu\text{g Kg}^{-1}$).

En la (figura 32) se muestran los altos índices de aflatoxina, en la cual un ejemplo, muy claro de esto se muestra en un estudio realizado por donde se analizó Aflatoxina en un maíz desde la recepción en bodega hasta el alimento final en la granja. Los análisis mostraron un aumento desde 1.2 ppb a la recepción del grano a 8.8 ppb en la granja, es decir un incremento de 8 veces en todo el sistema de producción.

Estos estudios ponen de manifiesto la problemática sobre la contaminación por micotoxinas y mohos en productos agroalimentarios. Por lo que este campo debe ser prioritario desde el punto vista de investigación y legislación, ya que es evidente la presencia de estos compuestos tóxicos, aún en pequeñas cantidades, en productos alimentarios no procesados e industrializados. Por otra parte, la ingesta diaria y constante de estos compuestos, a través de alimentos básicos, sin duda tiene un papel importante en la inducción o modulación de patologías en los animales y en el hombre.

4.0 Aflatoxina identificada en tienda online

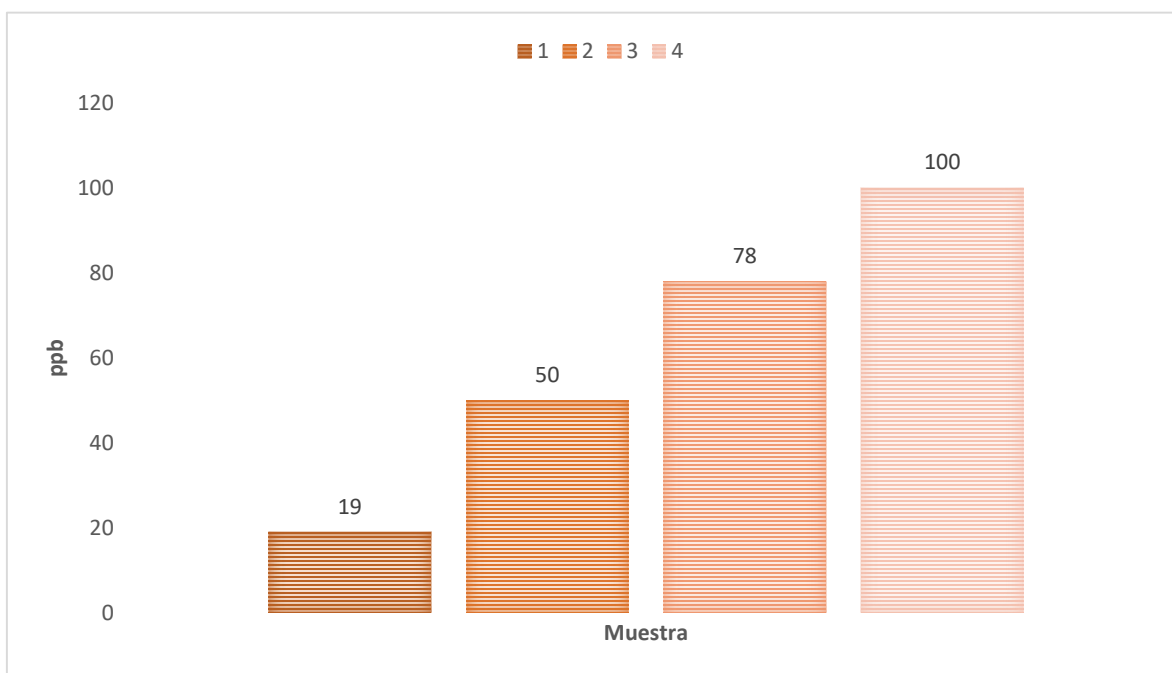


Figura 28. Aflatoxina en tienda online

Sin ninguna duda, las aflatoxinas son las micotoxinas que han sido más profundamente estudiadas en todo el mundo en México sin embargo, siendo los resultados obtenidos superiores de aflatoxina como de muestra en la (figura 33) con valores desde los 19-100ppb según (Robledo, 2013) comparados con otros países importantes por su producción cafetalera, como Colombia, Brasil, se debe a las condiciones del cultivo durante y post cosecha.

4. 1 Resultados comparativos de aflatoxina

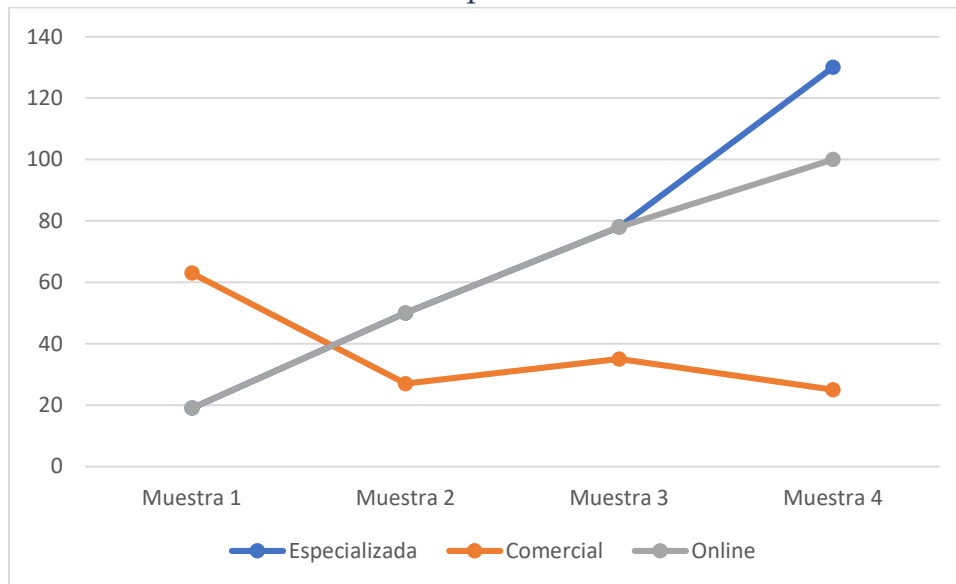


Figura 29. Resultados comparativos de aflatoxina

En la (figura 34) se muestran cantidades por arriba de los límites permitidos, por lo que la ingesta de esta toxina ocasiona especialmente al hígado y el riñón; son causa de cáncer hepático y se han relacionado con otros tipos de cáncer. La AFB1 es carcinógena para el ser humano; la potencia hepatocarcinógena de las aflatoxinas aumenta de forma significativa en presencia de infección por el virus de la hepatitis B (VHB).

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%, las altas de tueste no garantizan la destrucción de las toxinas. Por lo que un enfoque integrado que controle las aflatoxinas en todas las fases, desde el campo hasta que llegan a la mesa. Un enfoque de este tipo incluye prácticas de mejoramiento de las plantas, la potenciación de su resistencia y métodos de control biológicos, combinados con medidas aplicadas después de la cosecha, como el secado y almacenamiento adecuados de los productos potencialmente afectados, así como la búsqueda de usos alternativos apropiados que permitan sacar algún beneficio económico de las cosechas dañadas. (OMS, 2018).

Conclusiones

Los granos de café por su composición química permiten el desarrollo de una gran cantidad y variedad de microorganismos como son los hongos *Aspergillus*, de los cuales corresponden a cepas productoras de aflatoxinas y ocratoxinas.

En todas las muestras analizadas se encontró presencia de Aflatoxias y Ocratoxinas por arriba de las normas y códigos de prácticas internacionales que limita la exposición a las micotoxinas presentes en granos de café mexicanos las cuales superan el límite máximo permitido por la unión europea, para la concentración de $5\mu\text{g}/\text{kg}$ para ocratoxina y El Codex Alimentarius estableció un contenido de $20\ \mu\text{g}\ \text{kg}^{-1}$ para aflatoxinas.

Debido a que en México no hay ninguna regulación ni reglamentación de ocratoxina en los granos de café, sin embargo, la aflatoxina los niveles establecidos por la NOM-188-SSA1-2002 (control de aflatoxinas en cereales para consumo humano y animal)

La contaminación con micotoxinas se puede deducirse, como un proceso aditivo, que comienza desde el campo de cultivo y se incrementa en los pasos subsecuentes de cosecha, almacenamiento y uso final.

En esta etapa la formación de micotoxinas se puede evitar mediante el control de la humedad desde la recepción en el almacén. El objetivo de controlar la humedad es mantener los insumos libres de crecimiento fúngico y así evitar la formación de micotoxinas, no hay que olvidar que una vez iniciado el crecimiento fúngico el agua producida por el metabolismo del hongo puede dificultar el secado. Es importante mencionar que el contenido de humedad considerado seguro depende del grano almacenado, por ejemplo, a $20\ ^\circ\text{C}$ para el café del 14%.

Las condiciones de almacenamiento y distribución solo se observaron en la tienda especializada ya que la incidencia de estas toxinas es alta en las muestras analizadas, se observó que tanto en el manipuleo y la falta de higiene en la manipulación de los granos almacenados en la intemperie y al contacto con el polvo.

Es claro que para los granos que se consumen es muy difícil poder controlar sin las normativas existentes en México, pero si se puede exigir mejor calidad en los mismos de tal forma que se puedan evitar los problemas consecuentes.

El proceso de tostado no asegura la destrucción de las toxinas esto se identifican con todas las muestras analizadas desde tiendas especializadas hasta las obtenidas en tiendas online, por eso es necesario prevenir la aparición de micotoxinas en la cadena alimenticia. Para esto se debe ver el problema desde un punto de vista integral que incluya desde la producción de los granos hasta el consumidor final.

Además, existen grandes problemas para obtener una muestra representativa de grandes lotes y por si esto no fuera poco, un análisis de micotoxinas confiable es de alto costo.

Recomendaciones

- ❖ Asegurar que las bayas caídas se sometan rápidamente al secado, ya que pueden presentar una probabilidad mayor de crecimiento fúngico
- ❖ Fomentar el uso correcto de práctica sobre los granos de café transformados, con el objetivo de reducir la concentración de OTA presente en los alimentos y evitar la toxicidad consecuente al consumo de alimentos contaminados por OTA.
- ❖ Mantener mediante la aplicación de buenas prácticas (BP) en la cosecha, después de la cosecha, almacenamiento, transporte y comercio local
- ❖ Adoptar procedimientos para proteger el café en cada parte de la cadena, rechazar el café de dudosa procedencia y evitar prácticas que puedan generar o incrementar el problema
- ❖ El café debe de protegerse de rehumedecerse por contacto con agua

Bibliografía

- A. Ravelo Abreu, C. R. (2011). La ocratoxina A en alimentos de consumo humano: revisión. *SciELO*.
- Abrunhosa, L. M.-C. (2014). A review of mycotoxins in food and feed products in Portugal and estimation of probable daily intakes. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition.*, 10.
- Aitziber Buqué, N. B. (2020). Possible mechanisms of cancer prevention by nicotinamide.
- Albaca, L. (2001). Taxonomía e identificación de especies implicadas en la aspergilosis.
- Alberto, G. (2013). Los Hongos y las Micotoxinas en la Alimentación Animal; Conceptos, Problemas, Control y Recomendaciones.
- Alchetron. (2013). *Alchetron*. Obtenido de Alchetron: <https://alchetron.com/Aspergillus-ochraceus>
- Allred, K. F. (2009). Trigonelline is a novel phytoestrogen in coffee seeds. *J.Nutri.*, 139, 1833–1838.
- Amorim, H. V. (1977). Polyamines in green and roasted coffee. *J. Agric. Food Chem.* , 957-958.
- Antonio, A. G. (2010). Species, roasting degree and decaffeination influence the antibacterial activity of coffee against *Streptococcus mutans*. *Food Chem*, 118, 782–788.
- Arellano, J. L. (2013). Métodos de Determinación, Identificación y Control de Micotoxinas en Ingredientes para la Nutrición Animal.
- Arreola. (22 de septiembre de 2001). *Paquete tecnologico para el cultivo de cafe organico en el estado de colima*. Obtenido de <http://www.fundesyram.info/biblioteca.php?id=1686>
- Aseeva-DGOF-DAEM. (Abril de 2009). *El mercado de cafe en Mexico* . Obtenido de SAGARPA Mexico : <http://www.cefp.gob.mx/intr/edocumentos/pdf/cefp/cefp0542001.pdf>
- Aserva-DGOF-DAEM. (15 de Abril de 2009). *El mercado de cafe en Mexico*. Obtenido de SAGARPA: <http://www.cefp.gob.mx/int/edocumentos/pdf/cefp0542001.pdf>
- Badui. (2006). *Quimica de los alimentos* . Mexico : Pearson .
- Bee, S. B.-S. (2004). *Espresso coffe, the science of Quality* . Estados unidos: Elsevier Academic Press.
- Brase, S. E. (2009). Chemistry and biology of mycotoxins and related fungal metabolites. . *Chemical Reviews.* , 3903-3990. .
- Bryden, W. L. (2012). Mycotoxin contamination of the feed supply chain: implications for animal productivity and feed security. *Animal Feed Science and Technology.*, 134-158.
- Calleja, A. R. (julio de 2013). *Enfermedades del cafeto y su control en Mexico* . Obtenido de Secretaria de Agricultura y Recursos Hidraulicos : <http://biblioteca.inifap.gob.mx:8080/jspui/bitstream/handle/123456789/3700/687%20enfermedades%20del%20cafeto%20y%20su%20control%20en%20Mexico.pdf?sequence=1>

- Cano-Flores, M. D.-P. (2004). Estudio de mercado sobre el consumo de café en la ciudad de Xalapa. *IIESCA*, 108-127.
- Cavin, C. (2002). Cafestol and kahweol, two coffee specific diterpenes with anticarcinogenic activity. *FoodChem.Toxicol*, 40.
- CEFP. (2005). *El mercado del café en México*. Mexico, DF: H.Congreso de la Unión.
- Chi-Tang Ho, P. T. (2000). Caffeinated Beverages Health Benefits Physiological Effects and Chemistry .
- Christensen, C. &. (1969). *Grain Storage: The role of Fungi in quality losses*. University of Minnesota Press, Minneapolis.
- Cinza-Borelli, R. A. (2002). Chemical Characterization and antioxidant properties of coffee melanoidins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50; 6527-6553.
- Clarke, R. J. (2014). *Coffee Volume 2 Technology* . U.K: 6th edition, Clarke, R. J., Macrae, R., eds.
- Clifford, M. N. (2000,). *Chlorogenic acids and other cinnamates—nature, occurrence, dietary burden, absorption and metabolism*, . U.S: J. Sci. Food Agric.
- Coffee World Markets and Trade, Foreign Agricultural Service/ USDA, Office of Global Analysis*. (20 de 02 de 2016). Obtenido de VICAM: <https://www.fas.usda.gov/data/coffee-world-markets-and-trade> (
- Copetti, M. V. (2011). Aflatoxigenic fungi and aflatoxin in cocoa. *International Journal of Food Microbiology*, 148, 141–144.
- Cortijo, J. (2010). *El mundo del café* . U.S.A.
- Costa, L. L. (2010). Discrimination of Brazilian C. Canephora by location using mineral composition. *Coffee Sci. ASIC, 2010*.
- Davis, A. G. (The impact of climate change on indigenous arabica coffee (coffee arabica)). 2012. Obtenido de Predicting future trends and identify: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0047981>
- Desjardins, A. E. (2000). Mycotoxins in Plant Pathogenesis. *Molecular Plant. Microbe Interactions.*, 161-168.
- Diaz, G. (2003). Metodos moleculares para el estudio de comunidades microbianas en alimentos . *Rev. Latinoam Microbio*, 45,30-40.
- Diaz-Rubio, M. E.-C. (2007). Dietary fiber in brewed coffee. *J. Agric. Food Chem*, 55,1999-2003.
- Fabiani, A. C. (2010). *Correlation between different clean-up methods and analytical techniques performances to detect ochratoxin A in wine* . Talanta .
- FAO/WHO. (31 de March de 2008). *Discussion paper on ochratoxin A in coffee. Food standards programme*. Obtenido de ftp://ftp.fao.org/codex/meetings/CCCC/CCCC2/cf02_14e.pdf).

- Farah, A. d. (2006). Chlorogenic acids and lactones in regular and water-decaffeinated arabica coffee. *J. Agric. Food Chem*, 54,374-381.
- Farah, A. D. (2006,). *Phenolic compounds in coffee*. Braz. J. Plant Physiol.
- Felicia Wu, J. D. (2014). Public health impacts of foodborne mycotoxins. *Journal Annual reviv of food science and technology*, 351-372.
- Ferraz, M. B. (2010). Kinetics of ochratoxin A destruction during coffee roasting. *Food Control* . , 872-877.
- Flament, I. G. (2001). *Les composants furanniques de l'arome cafe: quelques chimiques et spectroscopiques*. Paris: Proc. 3rd Coll. Int. Coffee Sci.
- Folstar, P. (1985). Lipids. In: *Coffee. Elsevier Applied Scienc*, 203-22.
- Gava, M. A. (2015). Botánica y Producción del Café. En *Cocoa and Coffee Fermentations* (págs. 341-361). Grupo Taylor y Francis.
- Hedayati, M. T. (2017). *Aspergillus flavus: human pathogen, allergen and mycotoxin producer*. Obtenido de <https://doi.org/10.1099/mic.0.2007/007641-0>
- Heriberto Franco, A. V. (2014). Niveles de Ocratoxina A y Aflatoxinas totales en cafés de exportación de Panamá por un método de ELISA. *ARCHIVOS LATINOAMERICANOS DE NUTRICIÓN Órgano Oficial de la Sociedad Latinoamericana de Nutrición*.
- Heriberto, F. (2014). Niveles de Ocratoxina A y Aflatoxinas totales en cafés de exportación de Panamá por un método de ELISA. *ARCHIVOS LATINOAMERICANOS DE NUTRICIÓN Órgano Oficial de la Sociedad Latinoamericana de Nutrición*.
- Hernandez, D. C. (Abril de 2013). *Botanica*. Obtenido de Sileshare: <https://www.slideshare.net/chalddar/botanica-18645380>
- Hirakawa, N. O. (2005). Anti-invasive activity of niacin and trigonelline against cancer cells. *Biosci. Biotechnol. Biochem*, 69, 653–658. .
- Hussein S, J. B. (2001). Toxicity, metabolism, and impact of mycotoxins on humans and animals. *Journal of the Science of Food and Agriculture*.
- Innis, M. (2010). *Amplificacion de ADN in vitro po PCR*. Puerto Rico .
- IPPC. (2013). *Sumary for policymarkers*. Cambridge: University Press.
- Kölling-Speer, L. S. (2005). *The Raw Seed composition*. In: *Espresso Coffee, the Science of Quality*. Illy, A. Italy: Elsevier Academic Press.
- Karakousis, A. T. (2006). *An assessment of the efficiency of fungal DNA extraction methods for maximizing the detection of medically important fungi using PCR*. *Journal of Microbiological Methods*.

- Karakousis, A. T. (2006). An assessment of the efficiency of fungal DNA extraction methods for maximizing the detection of medically important fungi using PCR. *Journal of Microbiological Methods*, 65(1),38-48.
- Keller, N. P. (2005). Fungal secondary metabolism - from biochemistry to genomics. *Nature Reviews Microbiology*, 3, 937-947. .
- Kemsley, E. K. (1995). *Discrimination between coffee Arabica and Coffea canephora variant Robusta beans using infrared-spectroscopy*.
- Klich, A. (2002). *Identification of common Aspergillus species*. USA: departamento de agricultura.
- Knox, B. y. (2015). Key players in the regulation of fungal secondary metabolism. *Biosynthesis and Molecular Genetics of Fungal Secondary Metabolites* , 13-28.
- Kuiper-Goodman, T. (2004). *Risk assessment and risk management of mycotoxins in food*. En N. Magan, y M. Olsen (eds.), *Mycotoxins in food. Detection and control*. Reino Unido: Woodhead Publishing Limited, Cambridge. .
- Lee, C. (2000). Antioxidant ability of caffeine and its metabolites based on the study of oxygen radical absorbing capacity and inhibition of LDL peroxidation. *Clin, chim*, 295,141-154.
- Lee, S. (2016). Diversity of Marine-Derived Aspergillus from Tidal Mudflats and Sea Sand in Korea. Taylor and Francis Online.
- Levi, C. &. (2001). Study of occurrence of ochratoxin A in Brazilian roasted and instant coffee beans. *Journal of Association Analytical Chemists*, 57.
- Levi, C. P. (Journal of Association of official Analytical Chemists). Study of the occurrence of ochratoxin A in green coffee beans.
- Lopez, C. M. (2003). *Tecnologías moleculares de trazabilidad alimentaria* . España: informe de vigilancia tecnológica .
- Mazzafera, P. B. (2009). *Decaf and the steepchase towards decaffito the coffee from caffeine-free Arabica plants*. Tropical Plant Biol.
- Mohamed, Z. (2011). Impact of mycotoxins on humans and animals. *ScienceDirect*, 129-144.
- Mora, A. (1991). *Aplicacion de Verticilum lecanii como control biologico de la roya del cafe* . Veracruz : Tesis.
- Moroing, F. (14 de septiembre de 2004). *Ecos del cafe Puerto Rico: En linea* . Obtenido de <http://academic.uprm.edu/mmonroing/id51.htm>
- Nesic, K. I. (2014). Fusarial Toxins: Secondary Metabolites of Fusarium Fungi. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* . Springer.
- Nunes, F. M. (2001). Chemical characterization of the high molecular weight material extracted with hot water from green and roasted Arabica coffee. *J. Agric. Food Chem*, 49,1173- 2003.

- Oestreich-Janzen, S. (2010). Chemistry of coffee. In L. Mander, & H. -W. Liu. *Amsterdam: Elsevier.*, 1085-1117.
- Ogita, S. U. (2003). *Producing decaffeinated coffee plants. Nature* .
- OMS. (Febrero de 2018). *Resumen sobre inocuidad de los alimentos*. Obtenido de https://www.who.int/foodsafety/FSDigest_Aflatoxins_SP.pdf?ua=1
- ONU. (2000). *Comisión del codex alimentarius*. CX/FAC 99/14.
- Otta, K. H. (2000). Determination of aflatoxins in food by overpressured-layer chromatography. *Journal of Chromatography* , 882, 11–16.
- Ovando M., M. M. (2017). ESTABLECIMIENTO DE PLANTACIONES DE CAFÉ *Coffea arábica* L. CON GENOTIPOS TOLERANTES A ROYA ANARANJADA (*Hemileia vastatrix* Berk y Broome) EN EL ESTADO DE OAXACA. *Ovando M., Martinez M., Lopez R., 37*.
- Paterson, R. &. (2010). *Toxicology of mycotoxins*. Experientia Supplementum.
- Perera, J. (2002). *Ingeniería genética, Preparación, análisis, manipulación y clonaje de DNA*. Madrid, España: vol 1.
- Pitt, J. I. (2009). *Fungi and Food Spoilage*. London: Blackie Academic & Professional.
- Prieto, D. (2002). *Caracterización física del café semitostado* . Bogota, Colombia: Tesis de Ingeniería Química. Facultad de ingeniería .
- R.Mateob.Medinaa.Jiménez, M. G. (2005). Occurrence of mycotoxin producing fungi in bee pollen. *International Journal of Food Microbiology*, 6-8.
- Robledo, M. d. (2013). Contaminación natural con micotoxinas en maíz forrajero y granos de café verde en el Estado de Nayarit (México). *Revista Ibeoramericana*, 141-144.
- sectorial, I. y. (20 de Septiembre de 2016). *Panorama Agroalimentario*. Obtenido de https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/200636/Panorama_Agroalimentario_Caf__2016.pdf
- Shlonsky, A. K. (2003). Traits of persons who drink decaffeinated coffee. *Ann. Epidemiol*, 13, 273–279.
- Silveira, T. M. (2007). Profile and levels of bioactive amines in instant coffee. *J. Food. Compos. Anal*, 451-547.
- Soriano del Castillo, J. (2007). *Micotoxinas en los alimentos*. Diaz de Santos España.
- Soriano del Castillo, J. M. (2007). *Micotoxinas en alimentos. España*. Diez de Santos. Madrid. .
- SPC-SAGARPA. (2007). Sistema Producto Café- Secretaría de Agricultura. México D.F.: Prospectiva crediticia para la actividad cafetalera nacional. Comité.
- Speer, K. K.-S. (2006). *The lipid fraction of the coffee bean*. Brazil: J.Plant.
- Studer-Rohr I, D. D. (2013). The occurrence of ochratoxin A in coffee. 341-355.

- Surzycki, S. (2000). *Basic Techniques in molecular Biology*. Indiana, USA: vol 8.
- Taniwali, M. (2006). An update on ochratoxigenic fungi and ochratoxin A in coffee. *Advances in food mycology*, 189-202.
- Thrane, A. D. (2003). *Advances in Food Mycology*. Boston, USA: Plenum Press.
- Toci, A. T. (2006). *Efeito do processo de descafeinacao com diclorometano sobre a composicao quimica dos cafes Arabica e Robusta*. Brasil : Quimica nova .
- Trugo, L. (1984). *A study of the effect of roasting on the chlorogenic acid composition of coffee using HPLC*. Food Chem.
- Trugo, L. C. (2003). *Coffee Analysis*. In: *Encyclopedia of Food Science and Nutrition, 2nd edition*, Caballero, B., Trugo, L. C., Finglas. Oxford, UK: Oxford : Academic Press.
- Turner, N. W. (2009). Analytical methods for methods for determination of mycotoxins: a review. En N. W. Turner, *Analytica Chimica Acta* (pág. 632(2)). journal of Chromatography.
- Ullmann, A. (2018). Clinical Microbiology and Infection. *ELSERVIER*, 1-38.
- Vargas, J. (2008). *aspergillus in the genomic*. Holanda: Wagening Academic.
- WHO. (2001). Evaluation of Certain Mycotoxins:OchratoxinA.In:Food Additives Series 47. FAO Food and Nutricio. 74.
- Wu, F. P. (2014). Public health impacts of foodborne mycotoxins. . *Annual Review of Food Science and Technology*, 351-372.
- Yelton, M. M. (1984). Transformation of Aspergillus nidulans by using a trpC plasmid . En Yelton, *Proceedings of the National Academy of sciences of the United States of America* (págs. 1470-1474). E.U.
- Zain, M. E. (2011). Impact of mycotoxins on humans and animals. *ournal of Saudi Chemical Society.*, 129-144.
- Zhou, S. N. (2004). *Analysis of wheat extracts for ochratoxin A by molecularly imprinted solid-phase extraction and pulsed elotuion* . Analytical and Bioanalytical Chemistry .