

Micotoxinas en Guerrero: Presencia de Ocratoxina A en granos de café de Atoyac de Álvarez

ALVAREZ, Patricia*†, RAMIREZ, Rubén, LÓPEZ, Luis, MORENO, Ma.Elena

Recibido 22 Julio, 2014; Aceptado 16 de Enero, 2015

Resumen

Ocratoxina A (OTA) es un metabolito secundario producido por varias especies toxigénicas de *Aspergillus* y *Penicillium*. OTA es de gran importancia en cuanto a la salud de los consumidores, ya que se ha demostrado que posee propiedades nefrotóxicas, inmunosupresoras, teratogénicas y carcinogénicas; Además la Agencia Internacional para la Investigación sobre el Cáncer (IARC) ha clasificado la OTA como un posible carcinógeno humano (grupo 2B). Frecuentemente se encuentra OTA como un contaminante en el sector de los cereales a nivel mundial y es la principal causa de contaminación por micotoxinas en el café. La recomendación de la Comisión en cuanto a los niveles de OTA en el café es de 5 µg/Kg. La presencia de OTA en el café no es deseable, ya que puede ser utilizado como un obstáculo al comercio, afectando a la economía de los países productores. En este estudio se cuantificó la concentración OTA en café de Atoyac de Álvarez Gro, mediante el método de ELISA. Los niveles de contaminación por OTA en los granos de café de Atoyac Gro en el rango de 6.1-93.4 µg/Kg, lo que indica

Ocratoxina A, Café, carcinogénico, Atoyac

Abstract

OchratoxinA (OTA) is a secondary metabolite produced by several toxigenic species of *Aspergillus* and *Penicillium*. OTA is the great importance in terms of the health of consumers because has been shown to exhibit nephrotoxic, immunosuppressive, teratogenic and carcinogenic properties, furthermore the international Agency for Research on cancer (IARC) has classified OTA as a possible human carcinogen (group 2B). OTA frequently occurs as a contaminant in cereals worldwide and it is the main mycotoxin contamination reported to be found in coffee. The European Commission has not yet fixed maximum levels for OTA in coffee, and has only given one recommendation, in which a reference level of 5 µg/Kg. The presence of OTA in coffee is undesirable because it may be used as a barrier to trade, affecting the economies of producing countries. In this study the samples were tested in order to quantify OTA, using the immunoaffinity ELISA method. In this study the samples showed levels of contamination of OTA in the beans coffee of Atoyac Gro in range of 6.1-93.4 µg/Kg.

Ochratoxin A, Coffee, carcinogenic, Atoyac.

Citación: ALVAREZ, Patricia, RAMIREZ, Rubén, LÓPEZ, Luis, MORENO, Ma.Elena. Micotoxinas en Guerrero: Presencia de Ocratoxina A en granos de café de Atoyac de Álvarez. Revista de Simulación y Laboratorio 2015, 2-2: 36-40

*Correspondencia al Autor (Correo Electrónico: paty_fit@hotmail.com)

†Investigador contribuyendo como primer autor

Introducción

La Ocratoxina A (OTA) es una molécula que está formada por un anillo de 3,4-dihidrometilisocumarina unido, por medio de su grupo carboxilo y a través de un enlace tipo amida a una molécula de fenilalanina (Fig. 1). Esta toxina es producida por hongos filamentosos pertenecientes principalmente a los géneros *Aspergillus*, *Fusarium* y *Penicillium*. De acuerdo con la amplia distribución de los hongos productores de OTA, se puede decir que esta toxina es de distribución mundial, por lo que se encuentra contaminando productos como frutos secos, cereales, granos de café, vinos, cerveza, alimentos de origen animal y especias (Miller, 1995; Jaimezet *et al.*, 2003; Luna *et al.*, 2010; Herrero, 2012; Pitt *et al.*, 2013; Probstet *et al.*, 2014).

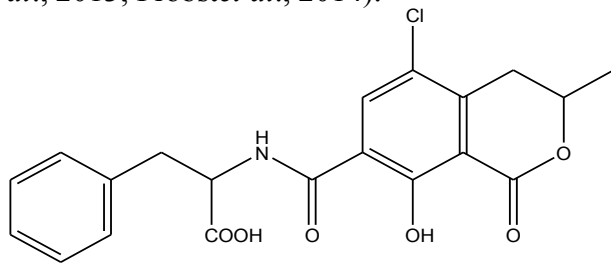


Figura 1 Estructura Química de la Ocratoxina A (Ravelo *et al.*, 2011)

Se han descrito en la literatura algunos métodos para la determinación de OTA en alimentos como la cromatografía de capa fina (TLC, thin-layer chromatography), la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC, high-performance liquid chromatography), cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) con transformación química post-columna y purificación en columna de inmunoafinidad y técnica inmunoenzimática de ELISA, siendo esta última una prueba económica y rápida para la detección de OTA (Teixeira *et al.* 2010).

En los últimos años, con los datos conocidos sobre la toxicidad de OTA, varias organizaciones internacionales han establecido valores permisibles de OTA en alimentos, la Comisión de Regulación Europea (EC) No. 1126/2007 determina los límites permisibles de OTA en granos de café tostado en 5 µg/kg, aunado a esto la Agencia Internacional de Investigación del Cáncer (IARC, 1993) clasifica a esta toxina como posible carcinogénico humano clase 2B. Debido a que el café es un alimento de amplio consumo y la población tiene una elevada probabilidad de ser contaminada por OTA, se hace necesario cuantificar esta toxina, ya que el tostado del café no es un proceso que asegure su total destrucción (Luna *et al.*, 2010).

En cuanto a la presencia de OTA en café. Galarce-Bustos *et al.* (2014) encontraron altos contenidos de OTA en muestras de café colectados en Chile (5.58-7.24 µg/Kg). Alcocer y Enriquez (2014) encontraron contaminación por OTA en granos de café del municipio de Iliatenco Gro. (8-59 µg/Kg).

El estado de Guerrero cuenta con aproximadamente 40 122.89 hectáreas sembradas de café, en las cuales se producen 38 214 .90 toneladas, particularmente de cafés de tipo natural, posicionando al Estado como el quinto productor de café a nivel nacional. Las zonas cafetaleras en el Estado están distribuidas en cuatro regiones: Costa Grande, Costa Chica, Montaña y Centro; Siendo la región de Costa Grande la principal productora de café, específicamente el municipio de Atoyac de Álvarez en el cual se producen 40 496.30 toneladas de café (73.99% de la producción) y que en conjunto con los municipios de Malinaltepec, San Luis Acatlán e Iliatenco aportan el 82% de la producción estatal de café (PICEG, 2011; Fundación Produce Guerrero, 2012).

El objetivo de esta investigación fue determinar la concentración de OTA en granos de café del municipio de Atoyac de Álvarez Gro.

Metodología

Protocolo de muestreo y tratamiento de las muestras de café

Las muestras de granos de café fueron colectadas en el municipio de Atoyac de Álvarez Guerrero. Las muestras fueron colectadas el mismo día, tomándose porciones (150g) al azar en los almacenes de acuerdo a lo establecido por el reglamento (CE) No. 401/2006. Las muestras fueron colectadas en bolsas de papel y se enviaron al laboratorio de Toxicología y salud Ambiental de la Universidad Autónoma de Guerrero, para evaluar la concentración de OTA mediante el método inmunoenzimático de ELISA.

Análisis de los niveles de Ocratoxina A

Método Inmunoenzimático de ELISA

Para la extracción de OTA, se emplearon 5 g de la muestra molida, los cuales se extrajeron con 12.5 ml de metanol (70%). Se agitó por diez minutos y posteriormente la muestra se filtró y se tomó de lo filtrado una parte para diluir en una relación 1:1 con agua destilada.

La determinación de la OTA se realizó siguiendo la metodología proporcionada por el kit RIDASCREEN® FAST Ochratoxina A de ELISA para el ensayo Cuantitativo de OTA en café, en donde se adicionaron en los pozos correspondientes de la microplaca (48 pozos) 50 µL de los estándares y 50 µL del extracto de cada muestra a analizar, después se adicionaron 50 µL del conjugado Ochratoxina A-enzima y posteriormente 50 µL del anticuerpo de anti-Ochratoxina A.

La microplaca se mezcló e incubó durante 10 min a temperatura ambiente (20-25 °C), transcurrido el tiempo, la microplaca se vació y se lavó con agua destilada, se agregaron 100 µL de sustrato/cromógeno en cada pozo, la microplaca se agitó y fue nuevamente incubada durante 5 min en la oscuridad a temperatura ambiente (20-25 °C).

Posteriormente se agregaron 100 µL de la solución stop y la microplaca se mezcló la lectura de la densidad óptica se realizó a 450 nm en el analizador automatizado Stat Fax 2100.

Resultados

Protocolo de muestreo y tratamiento de las muestras de café

Se colectaron 41 muestras de café en el municipio de Atoyac de Álvarez Gro (fig. 2).



Figura 2 Colecta de granos de café

Análisis de los niveles de Ocratoxina A

Método Inmunoenzimático de ELISA

El 97% de las muestras analizadas presentaron contaminación por OTA en un rango de concentraciones de 6.1-93.4 µg/Kg (Gráfico 1) las cuales sobrepasan la concentración establecida por la Unión Europea (5 µg/Kg).

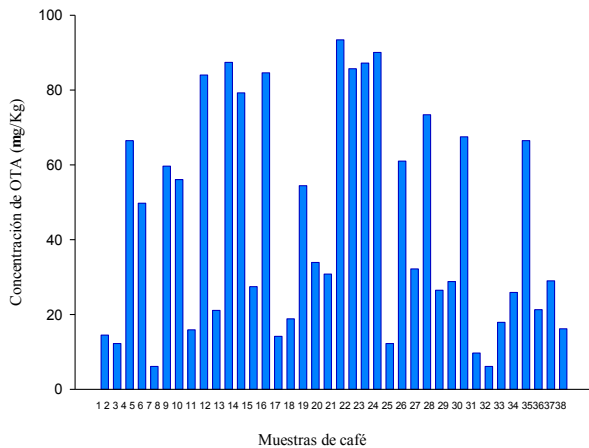


Grafico 1 Concentracione de OTA enmuestras de café del municipio de Atoyac de Alvarez.

Discusión

La presencia de OTA en granos de café puede deberse a condiciones ambientales como: clima, tiempo de almacenamiento y transporte, y a condiciones de procesamiento (Romaniet *al* 2000). Las muestras de café analizadas en este estudio provienen de un beneficio de tipo seco, lo cual podría estar relacionado con la altas concentraciones de OTA encontradas, al respecto la formación de OTA durante el proceso seco ya ha sido documentada.

Urbano *et al* (2001) cuantificaron la concentración de ocratoxina A en cafés obtenidos por beneficio seco, obteniendo como resultado que el 32% de las muestras estaban contaminada por OTA en niveles de 8 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Taniwakiet *al* (2003) analizaron muestras de granos café brasileño sometidos a diferente beneficios, encontrando un alto porcentaje de infección por OTA (5-20 $\mu\text{g}/\text{kg}$). En el estado de Guerrero, Alcocer y Enriquez (2014) encontraron contaminación por OTA en granos de café del municipio de Iliatenco Gro.

En un rango de concentraciones de 8-59 $\mu\text{g}/\text{Kg}$. Aunado a esto se conoce que la influencia de otros factores determinantes en la producción de OTA como la actividad de agua (a_w), temperatura, pH y condiciones ambientales deben ser estudiados (Suarez-Quiroz *et al* (2004).

Conclusiones

La concentración de OTA cuantificada para el café de municipio de Atoyac de Álvarez supera los valores establecidos por la Unión Europea (5 $\mu\text{g}/\text{kg}$). El tipo de beneficio, las pobres prácticas de secado y almacenamiento podría ser los causantes de la contaminación por hongos y por consiguiente de la elevada concentración OTA en las muestras analizadas. Debido a que el café es un alimento de amplio consumo, la población tiene una elevada probabilidad a ser contaminado por ocratoxina A.

Por todo lo anterior, se requiere que todos los involucrados con el beneficio, almacenamiento, acondicionamiento, venta y consumo de los principales productos del estado de Guerrero cuenten con herramientas de laboratorio para realizar el análisis de inocuidad (micotoxinas) y puedan promover mejoras en la salud pública y servir de base para establecer las medidas precautorias pertinentes para favorecer la comercialización de este producto de importancia económica en mercados nacionales e internacionales.

Agradecimiento

Los autores de este trabajo agradecen a la universidad Autónoma de Guerrero, por el financiamiento recibido a través del proyecto semilla.

Referencias

- Commission Regulation (EC). Setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs (Text with EEA relevance). No. 1126/2007
- Diario oficial de la Unión Europea. Reglamento (CE) N°1881/2006 / De la comisión.
- Herrero, QL. (2012). Puesta a o punto y validación de un método de análisis de aflatoxinas, en frutos secos y cereales. Master en iniciación a la investigación en ciencia y tecnología de los alimentos. Departamento de producción animal y ciencia de los alimentos. Universidad de Zaragoza.
- International Agency For Research on Cancer (IARC). (1993). Some naturally occurring substances: food ítems and constituents, heterocyclic amines and mycotoxins.
- Jaimez, OJ; Fente, CA; Vázquez, BI; Franco, CM and Cepeda, A.(2003). Development of a method for direct visual deterrnation of aflatoxin production by colonies of the *Aspergillus flavus* group. *Internation Journal of Food Microbiology* 83: 219-225.
- Luna, M; Lozada, Y yTrigos, A. (2010). Aislamiento de cepas de *Aspergillus niger*, productoras de Ocratoxina A, en café verde (*Coffearabica*) almacenado. *Revista Mexicana de Micología*. 32: 63-68.
- Miller, JD. (1995). Fungi and micotoxing in grains, implications for stored productos research. *Journal of stored Products Research*.31: 1-16.
- PICEG. Pan de Innovación de la Cafeticultura en el Estado de Guerrero. (2011).
- Fundación Produce Guerrero, A.C. Agenda de Innovación 2012. Guerrero.
- Galarce-Bustos, O; Alvarado, M; Vega, M; Aranda, M. (2014). Occurrence of ochratoxin Ain roasted and instant coffees in Chilean market. *Food control*. 46: 102-107.
- Pitt, JI; Taniwaki, MH and Cole MB. (2013). Mycotixin production in major crops as influenced by growing, harvesting, storage and processing, with emphasis on the achievement of food safety objectives. *Food Control*. 32: 205-215.
- Probst, C; Bandyopahnyay, R and Cotty, PJ. (2014). Diversity of Aflatoxin-producing fungi and their impact on food safety in Sub-Saharan Africa. *International Journal of FoodMicrobiology*.174: 113-122.
- REGLAMENTO (CE) No 401/2006 DE LA COMISIÓN de 23 de febrero de 2006 por el que se establecen los métodos de muestreo y de análisis para el control oficial del contenido de micotoxinas en los productos alimenticios
- Suárez-Quiroz, M; González-Rios, O; Barel, M; Guyot, B; Schorr-Galindo, S and Giuraud JP.(2004). Study of Ochratoxin A-producing strains on coffee processing. *International Journal of Food and Technology*. 39: 501-507.
- Taniwaki, M.H., Pitt, J.I., Teixeira, A.A., Iamanaka, B.T.(2003). The source of ochratoxin A in Brazilian coffee and its formation in relation to processing methods. *Int. J. FoodMicrobiol.*, 82:173-179