



INSTITUTO TECNOLÓGICO DE TUXTLA GUTIÉRREZ

INFORME TÉCNICO DE RESIDENCIA PROFESIONAL

“MEJORA DE LA FERMENTACIÓN Y SECADO DEL GRANO DE CAFÉ (*COFFEA ARABIDA L.*) Y SU RELACIÓN CON LA CALIDAD E INOCUIDAD DEL GRANO”

RESIDENTE:

Hernández Hernández Yolanda Ausencia

AGOSTO-DICIEMBRE 2014

Asesor interno:

QBP. Aura Flores Pérez

Asesor externo:

Dr. Francisco Javier Cruz Chávez

TUXTLA GUTIÉRREZ CHIAPAS, ENERO DE 2015



Carretera Panamericana Km. 1080, C. P. 29050, Apartado Postal 599
Tuxtla Gutiérrez, Chiapas; Tels. (961) 61 54285, 61 50380, Conmut. Ext. 0

www.ittg.edu.mx



Índice

	CONTENIDO	PÁG.
1.	Introducción	1
2.	Justificación	2
3.	Objetivos	3
	3.1 Objetivo general	3
	3.2 Objetivos específicos	3
4.	Caracterización del área en que participo	4
	4.1 Localización geográfica de la institución	4
	4.2 Función de la empresa dentro del sector público	5
	4.3 Objetivos de la empresa	6
5.	Problemas a resolver	7
6.	Alcances y limitaciones	8
	6.1 Alcances	8
	6.2 Limitaciones	8
7.	Fundamento Teórico	9
	7.1 Clasificación Científica	10
	7.2 Fitomejoramiento	10
	7.3 Estructura del vegetal	11
	7.4 Floración	12
	7.5 Estructura del grano de café	13
	7.6 Variedades existentes	14
	7.7 Condiciones climáticas de cultivo	14
	7.7.1 Temperatura	15
	7.7.2 Precipitación	16
	7.7.3 Humedad relativa	16
	7.7.4 Luz solar	16
	7.8 Tipo de suelo para cultivo	17
	7.8.1 pH	17
	7.8.2 Color	18
	7.8.3 Textura	18

7.8.4	Relieve	19
7.8.5	Profundidad	19
7.8.6	Fertilidad	19
7.8.7	Materia orgánica	20
7.9	Tipo de poda	20
7.10	Enfermedades y plagas pre y post cosecha y su control	21
7.11	Índice de cosecha	28
7.12	Cultivo del café	28
7.13	Tiempo de cosecha	29
7.14	Control de calidad	29
7.15	Micotoxinas	30
7.15.1	Ocratoxina A	34
8.	Procedimientos y descripción de las actividades realizadas	40
8.1	Procesamiento de las muestras	42
8.2	Análisis microbiológico de las muestras de café.	42
8.3	Análisis de extracción de Ocratoxina A, utilizando el método de ELISA.	43
8.4	Cuantificación de Ocratoxina A por el método de inmunoensayo enzimático RIDASCREEN FAST Ochratoxin A.	44
9.	Resultados	45
9.1	Análisis microbiológico del café	46
9.2	Evaluación de Ocratoxina A presente en los granos de café	48
9.3	Evaluación de la infección por hongos microbiológicos y su capacidad de producción de Ocratoxina A (OTA), en granos de café.	51
10.	Discusión de resultados	52
11.	Conclusión y recomendaciones	53
11.1	Recomendaciones	54
12.	Referencias bibliográficas y visuales	55
13.	Anexos	59

Índice de tablas

	PÁG.
Tabla 1. Clasificación Científica del Café	10
Tabla 2. Alimentos y hongos asociados a las Micotoxinas.	30
Tabla 3. Principales micotoxinas agrupadas a su origen biosintético.	32
Tabla 4. Micotoxinas y sus enfermedades.	33
Tabla 5. Concentración de OTA en café.	39
Tabla 6. Registro de variedades provenientes del banco de germoplasma del CERI.	40
Tabla 7. Porcentaje de granos sanos y granos dañados.	45
Tabla 8. Descripción de colonias de hongos encontrados en los granos de café en las muestras analizadas.	46
Tabla 9. Porcentaje promedio y desviación estándar de grano sano y granos contaminados por hongos.	47
Tabla 10. Niveles de ocratoxina A, determinado en granos de café.	48
Tabla 11. Rangos de Ocratoxina A, determinado en grano de café.	50
Tabla 12. Porcentaje promedio y desviación estándar de grano sano, granos contaminados con hongos en muestras del Banco de germoplasma del CERI.	51

Índice de graficas

	PÁG.
Gráfica 1. Porcentaje de granos sanos y granos dañados.	45
Grafica 2. Porcentaje promedio y desviación estándar de grano sano y granos contaminados por hongos	47

Índice de figuras.

	PÁG.
Figura 1. Ubicación geográfica del área de estudio.	4
Figura 2. Ubicación del municipio de Ocozocoautla de Espinosa, Chiapas.	5
Figura 3. Municipios con plantaciones de café en México.	9
Figura 4. Planta de Café	11
Figura 5. Floración del Café	12
Figura 6. Flor del Café	13
Figura 7. Estructura del grano de café	13
Figura 8. Climas en Chiapas	15
Figura 9. Desplazamiento de cultivos de café por cambio climático.	17
Figura 10. Estructura de la Ocratoxina A.	35
Figura 11. Metabolismo de la OTA	37
Figura 12. Muestras del Banco de Germoplasma del CERI	59
Figura 13. Pesos de los granos de café.	59
Figura 14. Molienda de los granos	59
Figura 15. Muestras molidas de café para extracción de Ocratoxina A.	60
Figura 16. Muestras con metanol al 70%, se agregaron 12.5 ml de metanol y se agito manualmente durante 3 min	60
Figura 17. Filtración de las muestras con papel Whatman no. 1 para cuantificación de OTA.	61
Figura 18. Colocación de las muestras en los micropozos para cuantificación de Ocratoxina A.	61
Figura 19. Reactivos del kit para la cuantificación de Ocratoxina A.	62
Figura 20. Se colocaron los diferentes reactivos del kit RIDASCREEN FAST Ochratoxin A en los micropozos, con una pipeta multicanal.	63

Figura 21. Lectura de la absorbancia (450 nm), se usó un espectrofotómetro de micropozos marca BIOTEK modelo EL301.

1. Introducción

El hombre conoce los hongos que crecen en los alimentos desde la antigüedad y los ha utilizado en su propio beneficio como alimento directo, para mejorar alimentos y especialmente con fines terapéuticos (antibióticos). Sin embargo, ciertas especies fúngicas son capaces de producir metabolitos secundarios con carácter tóxico llamadas micotoxinas. La segregación de estas sustancias se produce bajo ciertas condiciones ecológicas favorables.

Las micotoxinas son un grupo muy amplio de metabolitos secundarios de origen fúngico caracterizadas por presentar una elevada toxicidad tanto para el hombre como para los animales. Los mohos productores de micotoxinas se encuentran en la mayoría de hábitats y pueden contaminar los alimentos, principalmente los productos agrícolas, y como resultado de su actividad metabólica acumular en éstos las toxinas (Betina, 1989). La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha caracterizado la toxicidad de las micotoxinas (de estas la Ocratoxina A (OTA)) en los alimentos con un efecto carcinogénico, teratogénico y mutagénico (Mally et al., 2004).

Las micotoxinas se originan por el crecimiento del hongo sobre harinas, granos, frutas, subproducto y otros, incluso aun sin cosechar, producen daño en el organismo del animal y pueden transmitirse al hombre. Están presentes en casi la totalidad de las materias primas y alimentos utilizados en la alimentación de animales. Se pueden encontrar en cualquier punto de la cadena alimenticia, desde la siembra y cosecha hasta en la carne y la leche que se consume. Los alimentos más susceptibles a la contaminación fúngica y la consecuencia producción de Ocratoxina A son los granos y cereales, frutos secos, frutos deshidratadas, leche y productos lácteos, hierbas especies, café, cacao, aceites vegetales y cerveza, entre otros (orris, 1997).

El aseguramiento de la inocuidad de los alimentos se ha constituido en los últimos años como una meta importante de acción y es prioridad nacional contar con una excelente calidad en cada alimento. El presente proyecto se realiza para conocer la inocuidad de los granos de café, determinando la concentración de OTA presente y verificando que se encuentran en los rangos que permite la Norma Europea para su exportación y consumo, debido a que los granos de café son importantes desde el punto de vista nutricional y económico para el estado.

2. Justificación

La mayoría de las unidades agrícolas que se dedican al cultivo de café (*Coffea arabica* L.) mantienen técnicas tradicionales del beneficiado del fruto, heredados de sus ancestros sin importarles la preservación de la calidad del grano, lo cual repercute en el precio y deterioran la calidad del producto favoreciendo la contaminación por organismos biológicos productores de toxinas que afectan la salud del consumidor.

El aseguramiento de la inocuidad se ha ido consolidando en los últimos años, resultan preocupantes tanto los peligros microbiológicos como los químicos, es por eso que resulta importante evaluar el proceso del café, ya que la susceptibilidad del grano repercute en la contaminación por hongos micotoxigénicos.

En Chiapas el problema de las Micotoxinas es muy poco conocido, debido a los pocos estudios realizados en esta zona para su identificación presente en el café. Las enfermedades como el cáncer en órganos del aparato digestivo, pueden ser causadas por alimentos contaminados con Micotoxinas. La OMS ha caracterizado recientemente la contaminación de los hongos con Micotoxinas (OMS, 2002), de estas la Ocratoxina A con efecto cancerígeno se distribuye mundialmente (Mally et al., 2004) y es común que se encuentre contaminando los granos de café (Romani et al., 2000)

El café es de alto consumo para los mexicanos y los chiapanecos, además de ser exportado a diferentes países, el problema por la contaminación de estos hongos es grave, ya que aunque el café sea procesado (tostado), no elimina totalmente dichas toxinas, lo que puede ocasionar problemas a la salud humana. (Escamilla et al. 2005)

La presente investigación surge de una de las necesidades por mejorar la inocuidad del grano y los problemas que pueden ocasionar la ingestión de café contaminado, tanto en consumo directo e indirecto de estas sustancias tóxicas. Por tanto se identificara las Micotoxinas presentes en el café de los genotipos existentes en Banco de Germoplasma del café del CERI. Las muestras serán colocadas en bolsas de papel y se trasladaran al laboratorio de Sanidad Vegetal, del Campo Experimental Centro de Chiapas (CECECH).

Dichos granos serán analizados bajo técnicas estandarizadas para determinar la presencia de Ocratoxina A, para así poder enviar al CERI dichos datos y evalúen la mejora de la calidad del grano.

3. Objetivos

Objetivo general.

Determinar la presencia de Ocratoxina A del grano de café (*coffe arabida L.*) en el estado de Chiapas.

Objetivos específicos.

- Determinar la presencia de Ocratoxina A en los granos de café (*coffe arabida L.*) con la técnica de enzima inmunoensayo de RIDASCREEN Ochratoxin A.
- Identificar Ocratoxina A en dichos granos con la técnica de enzima inmunoensayo de RIDASCREEN Ochratoxin A.
- Evaluar la concentración de los niveles de Ocratoxina A presentes en los granos de café.

4. Caracterización del área en que participo

El Instituto Nacional de Investigación Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) es una institución de excelencia científica y tecnológica con liderazgo y reconocimiento nacional e internacional por su capacidad de respuesta a las demandas de conocimiento e innovaciones tecnológicas en beneficio agrícola, pecuario y de la sociedad en general.

4.1 Localización geográfica de la institución

El proyecto se realizó en el laboratorio de fitopatología del Instituto Nacional de Investigación Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) Campo Experimental Centro de Chiapas (CECECH), que se encuentra ubicado en el kilómetro 3 de la carretera internacional Ocozocoautla-Cintalapa, Chiapas.

Figura 1. Ubicación geográfica del área de estudio.



El municipio de Ocozocoautla de Espinosa está ubicado en la parte occidental dentro del estado del estado de Chiapas, colinda al Norte con Tecpatán, al Este con Berriozábal, Tuxtla Gutiérrez y Suchiapa, al Sur con Villaflores y al Oeste con Jiquipilas y Cintalapa. Abarcando con la Depresión Central y de las montañas del Norte. Sus coordenadas geográficas son 16° 45´ N y 93° 22´W. su altitud es de 820 msnm. Su extensión territorial es de 2,476.60 km². El clima varia de cálido subhúmedo a cálido húmedo según la zona, por lo que el tipo de vegetación es de selva media y alta. (INEGI, 2002).

Figura 2. Ubicación del municipio de Ocozocoautla de Espinosa, Chiapas.



4.2 Función de la empresa dentro del sector público

Los Centros de Investigación Regional (CIR) ofrecen el servicio de investigación agropecuaria y forestal en apoyo a los productores de la región, industriales, instituciones de enseñanza y gobierno en sus tres niveles. Las investigaciones las realiza el equipo de investigadores altamente capacitados en las diferentes disciplinas, quienes operan en los 81 campos experimentales distribuidos a nivel nacional.

Los resultados de las investigaciones van más allá del solo incremento de la producción de los productos básicos, ya que, llegan hasta la mesa de los consumidores y se relacionan con la salud y nutrición humana.

4.3 Objetivos de la empresa

Objetivo 1.

Generar conocimientos e innovaciones tecnológicas que contribuyan al desarrollo sustentable de las cadenas agroindustriales, forestales, agrícolas y pecuarias del país.

Objetivo 2.

Desarrollar programas y proyectos interinstitucionales de investigación de frontera para solucionar los grandes retos nacionales forestales, agrícolas y pecuarios, con la participación de los sectores público y privado.

Objetivo 3.

Promover y concertar programas con organizaciones e instituciones públicas, sociales y privadas de apoyo a la transferencia de tecnología forestal, agrícola, pecuaria y agroindustrial, en las entidades federativas y regiones indígenas del país.

Objetivo 4.

Fortalecer la capacidad institucional a través de la actualización, renovación y motivación de su personal, así como la modernización de la infraestructura, procedimientos y administración, para satisfacer las demandas de la sociedad.

5. Problemas a resolver

Hoy en día, el café y sus derivados son alimentos esenciales en la dieta humana debido a sus múltiples propiedades, entre ellas su contenido en proteínas de alto valor biológico. Además, es una materia prima ampliamente. Esto lo convierte en un alimento altamente consumido. Sin embargo, este consumo no está exento del riesgo que implica la presencia de sustancias no saludables, como son las Micotoxinas. Por todo ello, la contaminación del café y de sus productos derivados es una causa de preocupación en el campo de la Seguridad Alimentaria.

En consecuencia, la presencia de Micotoxinas constituye un serio problema para la salud debido a su elevada toxicidad y a sus efectos nocivos y/o cancerígenos. A fin de asegurar la salud de los consumidores y la inocuidad de los alimentos, la Unión Europea ha establecido límites máximos de residuos (LMR) para estos contaminantes.

Por tanto esta investigación tiene como propósito conocer la inocuidad de los granos de café así como identificar en qué tipo de granos se presenta mayor alojamiento de estas toxinas y en qué grado de toxicidad se presenta.

Con este proceso se pretende dar a conocer mediante talleres a los productores la importancia de las Micotoxinas, así como estrategias para un mejor manejo desde el momento de la cosecha hasta el almacenamiento.

6. Alcances y limitaciones

6.1 Alcances

Uno de mis alcances del proyecto fue el poder extraer y cuantificar Ocratoxina A presente en los granos de café, ya que como se ha ido mencionando a lo largo del proyecto es un grave peligro para la sociedad el consumo de café contaminado con dicha toxina.

Así como también la observación e identificación durante el desarrollo de los hongos provenientes del grano de café.

6.2 Limitaciones

Debido a que las muestras de café no llegaron en el tiempo establecido por el INIFAP, el desarrollo del proyecto se atraso.

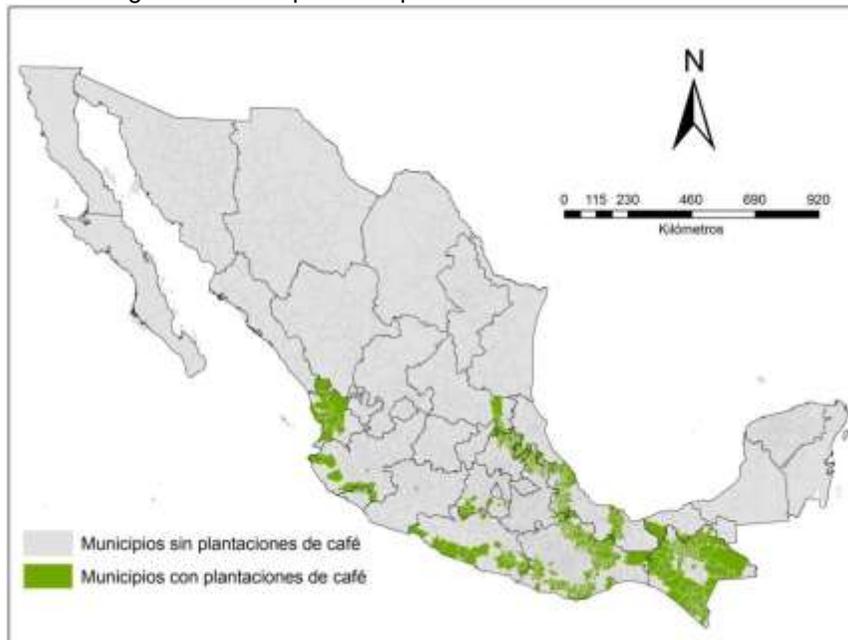
7. Fundamento teórico

El cafeto fue introducido a territorio mexicano, en lo que antes era la Nueva España, hacia la última década del siglo XVIII, desde entonces el grano es considerado uno de los cultivos de mayor importancia económica, sociocultural y ambiental (Pérez y Díaz, 2000). Las principales especies de cafeto que se producen en México son *Coffea arabica* y *Coffea canephora*.

Actualmente México ocupa el quinto lugar a nivel mundial como país productor de café después de Brasil, Colombia, Vietnam e Indonesia. En el año 2009 la producción total nacional fue de 1.4 millones de toneladas, en la cual participaron los estados de Chiapas, Veracruz, Puebla, Oaxaca, Guerrero, Hidalgo, San Luis Potosí, Nayarit, Colima, Jalisco, Querétaro, Tabasco, México, Morelos y Michoacán (Figura 3). De la producción total nacional para ese año, los estados de Chiapas y Veracruz concentran más de la mitad de la producción con 529,395 t y 318,745 t respectivamente (SAGARPA, 2010).

En el mismo 2009 la Organización Internacional del Café (ICO, 2009) reporta que las exportaciones de México de café procesado ascendieron a 37,903 t y de café verde a 132,382 t. Los principales países importadores de café mexicano son Estados Unidos de América, Bélgica y Alemania con el 61.7 %, 5.3 % y 4.5 %, respectivamente del volumen total exportado (AMECAFE, 2010).

Figura 3. Municipios con plantaciones de café en México.



SAGARPA, 2010

7.1 Clasificación científica

El cafeto es un arbusto perenne originario de África y Asia tropical, pertenece a la familia Rubiaceae y al género *Coffea*. Dentro de este género se encuentran aproximadamente 30 especies, de las cuales *Coffea arabica* L. (café arábigo), *C. canephora* Pierre ex Froehner (café robusta), *C. liberica* Mull ex Hiern (café liberiano) y *C. excelsa* A. Chev. (Café excelso), son las más importantes desde el punto de vista económico (ICO, 2010).

Tabla 1. Clasificación Científica del Café

NOMBRE	COFFEA
REINO	<i>PLANTAE</i>
DIVISION	<i>MAGNOLIOPHYTA</i>
TIPO	ESPERMATOFITAS
ESPECIES	ARABICA, CANEPHORA, LIBERICA
CLASE	<i>MAGNOLIOPSIDA</i>
ORDEN	<i>GENTINALES</i>
FAMILIA	<i>RUBIACEAE</i>
SUB-FAMILIA	<i>IXOROIDEAE</i>
TRIBU	<i>COFFEEAE</i>
GENERO	<i>COFFEA</i>

7.2 Fitomejoramiento

El café arabica es un tetraploide (44 cromosomas) y es auto-polinización. Hay dos variedades botánicas distintas: arabica (típica) y bourbon. Históricamente, típica se cultiva en América Latina y Asia, mientras que bourbon llegó a América del Sur y, más tarde, el este de África a través de la colonia francesa de Bourbon (Reunión). Debido a que el Café arabica es de auto-polinización, estas variedades tienden a permanecer estables genéticamente. Sin embargo, las mutaciones espontáneas que muestran características deseables se han cultivado en su propio derecho, así como ser explotados para fines de cruzamiento.

Los cultivares se han desarrollado para dar el rendimiento económico máximo en condiciones regionales específicas, tales como el clima, el suelo, los métodos de cultivo y la prevalencia de plagas y enfermedades. Algunas de las variedades más conocidas son:

- Blue Mountain - crecido en Jamaica y Kenya
- Mundo Novo - un cruce entre typica y bourbon, originalmente cultivado en Brasil
- Kent - desarrollado originalmente en la India, que muestra una cierta resistencia a las enfermedades
- Catuai - desarrollado como un híbrido de Mundo Novo y Caturra, que se caracteriza por las cerezas, ya sea amarillo o rojo: Catuai-amarelo y Catuai-vermelho respectivamente. (Wrigley G., 1988)

7.3 Estructura del vegetal

Los cafetos son arbustos de las regiones tropicales del género *Coffea*, de la familia de los rubiáceos, es un arbusto o árbol pequeño, perennifolio, de fuste recto que puede alcanzar los 10 metros en estado silvestre; en los cultivos se los mantiene normalmente en tamaño más reducido, alrededor de 3 metros. Las hojas son elípticas, oscuras y coriáceas. Florece a partir del tercer o cuarto año de crecimiento, produciendo inflorescencias axilares, fragantes, de color blanco o rosáceo; algunas especies, en especial *C. arábica*, son capaces de auto fertilización, mientras que otras, como *C. robusta*, son polinizadas por insectos. (Franz Augstburger, 2000)

El fruto es una baya que se desarrolla en unas 15 semanas a partir de la floración; el endospermo comienza a desarrollarse a partir de la duodécima semana, y acumulará materia sólida en el curso de varios meses, atrayendo casi la totalidad de la energía producida por la fotosíntesis. Cuando se abre una cereza, se encuentra el grano de café encerrado en un casco semirrígido transparente, de aspecto apergaminado, que corresponde a la pared del núcleo. Una vez retirado, el grano de café verde se observa rodeado de una piel plateada adherida, que se corresponde con el tegumento de la semilla. Dos son las especies que se utilizan para la preparación de la bebida, aunque también se han probado otras especies del género *Coffea* con gran éxito y difusión. (Café y sus características, 2012)

Figura 4. Planta de Café



7.4 Floración

La floración del café es marcadamente estacional, efectuándose generalmente sólo con la presencia de tiempo húmedo, pero la periodicidad puede ser mucho menos distinta donde las condiciones climáticas son relativamente estables en todo el año. La cantidad de flores producidas y su tamaño dependen de las relaciones de agua prevalecientes. Las condiciones extremadamente húmedas pueden ocasionar la formación de distintas flores estériles de color verdoso, las llamadas "flores-estrella". Las lluvias en la época de la polinización pueden reducir el cuaje de los frutos en forma considerable. Otras especies de café son mucho menos estacionales en sus períodos de floración y también menos sensibles, a las lluvias que evitan la polinización.

Las flores del café son polinizadas por el viento y otros agentes; hay aparentemente un elevado porcentaje de polinización entre las plantas adyacentes. Las variedades de café arábigo pueden amarrar fruta con la autopolinización, mientras que del grupo robusta no lo logran. Se dice que las flores del café liberiano se auto polinizan en el estado de botón, pero esto no evita que sean polinizadas en cruz por el polen extraño y de germinación más rápida después de que las flores han abierto. La tendencia hacia la heterostilia, que se observa con frecuencia en toda Rubiaceae, se ha presentado, según se informa, en varias especies de café, particularmente en el grupo robusta. Las, variedades de café arábigo y los híbridos de las formas arábigo y liberiana, son casi autocompatibles; mientras que la autoesterilidad es común en el grupo robusta.

Figura 5. Floración del Café.



El café presenta uno de los pocos casos de xenia, o sea, el efecto inmediato del polen en el endospermo como resultado de una doble fertilización en los géneros dicotiledóneos. El color del endospermo de las almendras de *C. Arábica* es verde – azulado, mientras que los de *C. Libérica* son amarillos; los híbridos de estas dos especies muestran una mezcla de los dos colores, dependiendo la proporción de

cuál es el progenitor masculino. Por otra parte, los cruces, incluyendo *C. Libérica* y *C. Stenophylla*, no exhiben esta característica.

Recientes experimentos de campo tratan de averiguar la influencia de la temperatura en el crecimiento vegetativo y en la floración. Dichos ensayos revelan que existen unas temperaturas óptimas para la floración que oscilan entre los 33-28 grados en verano, potenciándose tanto el crecimiento vegetativo como el número de nudos florales.

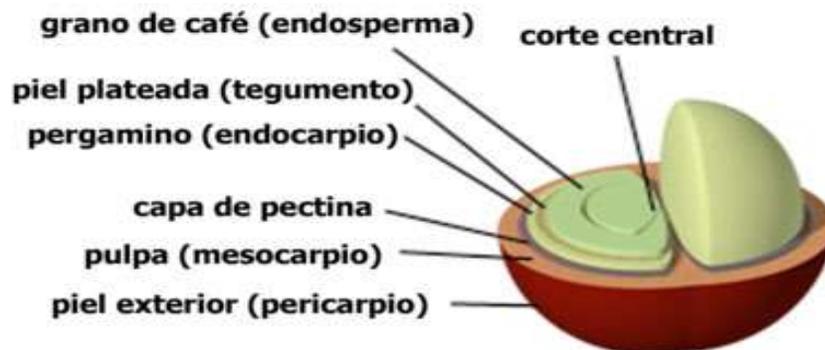
Cuando las temperaturas invernales oscilan entre los 23-18 °C se ha visto que estas favorecen el desarrollo posterior de la planta además de favorecer la sincronización de la floración para desarrollar el máximo número de inflorescencias por nudo (Drinnan y Menzel, 1995).

Figura 6. Flor del Café



7.5 Estructura del grano del café

Figura 7. Estructura del grano de café



7.6 Variedades existentes

Existen dos grandes especies genéticas o especies *Cafeto Arábica* (*Coffea Arábica*) y *Cafeto Robusta* (*Coffea Canephora*). Luego, según las características botánicas de la planta hay múltiples variedades y sus variedades (como el terreno, altura, clima, régimen de lluvia, aptos para su cultivo). A su vez según el tamaño del grano, se distinguen más de una decena de clases (siendo tipo AA, la denominación del más grande).

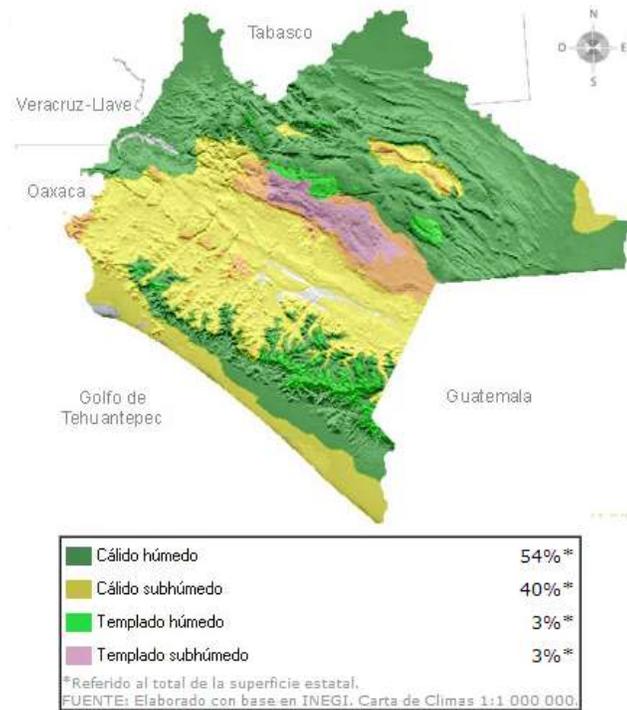
También, referirse como "variedad" al indicarse su procedencia (café brasilero, café colombiano, etc.) generalizarse así varias características para connotar un sabor (de lo que no hay que fiarse pues un "sabor" en realidad depende no sólo del ambiente local donde crecen las plantas de café, sino también de su procesamiento, método de secado, etc.). (Franz Augstburger, 2000)

7.7 Condiciones climáticas de cultivo.

Para el cultivo de café, al igual que para cualquier otro, existen características climáticas y edáficas bien definidas, las cuales en cuanto más se aproximen a las condiciones ideales requeridas por el cultivo, en sus diferentes fases fenológicas, mayores posibilidades tendrá de exponer todo su potencial genético, lo que se traducirá en mayor producción, que es que en última le interesa al cafecultor.

El clima más favorable para el cultivo del café se localiza en América Central, América del Norte y África. Las plantaciones de café que se encuentran dentro de estos continentes proporcionan las mejores calidades y las que están fuera son marginales para el cultivo. Dentro de estos continentes las zonas adecuadas para el cultivo están determinadas por el clima, suelo, y altitud. El café necesita temperaturas favorables en promedio de 20 ° C. y precipitaciones pluviales de 2500 mm. En México el café se cultiva en 12 estados: Chiapas, Veracruz, Puebla, Oaxaca, Guerrero, Hidalgo, San Luis Potosí, Nayarit, Colima, Jalisco, Querétaro, Tabasco. (Resumen histórico y características del café, 2012)

Figura 8. Climas en Chiapas



INEGI, 2010

7.7.1 Temperatura

Las fluctuaciones y termo período (duración) son las características de temperatura que deben evaluarse cuando se requiere determinar si una región es apta para el cultivo de café. Es importante tomar en consideración las temperaturas medias de los meses más cálidos y de los más fríos.

Los rangos de temperatura media anual señalados como óptimos para esta especie, están entre 17°C y 23°C, o aun en rangos más estrechos, ubicándose entre los 18.3°C y 27.2°C. Se cita además, otro margen de oscilación de temperaturas más amplio que va desde los 13°C hasta los 27°C.

En la mayoría de las regiones cafecultoras del mundo la fluctuación estacional de la temperatura no constituye un problema, gracias a la evolución que ha experimentado la especie para poder adaptarse a las condiciones ambientales a las que la ha sometido el hombre, en su incesante búsqueda por una mayor productividad.

7.7.2 Precipitación

Es un factor climático muy importante que tiene un efecto significativo en la floración y, por lo tanto en la producción y en su época de maduración. Se ha determinado que, dependiendo de la época de maduración (temprana, media o tardía), se presentan diferencias importantes en el tamaño y calidad del grano, así como en la acidez, aroma y cuerpo de café en taza.

Entre las variables que deben valorarse para definir niveles óptimos de precipitación para el cultivo del café están:

- Precipitación media anual.
- Distribución de la precipitación durante el año (número de meses secos).
- Desviación de la precipitación anual media (promedio años secos o húmedos).
- Condiciones del suelo (características físicas)

7.7.3 Humedad Relativa.

Se ha determinado que la humedad del aire no es un factor determinante en el cultivo del café. No obstante, se ha señalado que un promedio de humedad relativa, de 70 a 95%, es recomendable para *C. arabica*.

La limitación por este factor se da cuando se presentan valores iguales o mayores a 90%, pues se estimula el ataque de enfermedades fungosas.

7.7.4 Luz solar

La luz solar influye en los vegetales por el efecto de dos variables:

- a) Duración (fotoperiodo)
- b) Intensidad (irradiación)

De estas, la que más influencia tiene sobre el comportamiento del género *Coffea* es la intensidad lumínica. (Alvarado & Gilberto, 2007).

Figura 9. Desplazamiento de cultivos de café por cambio climático.



7.8 Tipo de suelo para cultivo

El café se cultiva a nivel mundial, en suelos de características físicas y químicas muy dispares. La producción de cosechas altas solo puede tener lugar en suelos fértiles. En su defecto, la fertilidad debe ser mantenida artificialmente mediante la adición de abonos minerales, orgánicos o ambos, pues contribuyen al logro de un equilibrio nutricional óptimo.

7.8.1 pH

El cultivo de café prefiere suelos ligeramente ácidos, o sea, suelos cuyos pH oscilen entre 6 y 6,5. Sin embargo, se sabe que es totalmente tolerante a niveles de pH inferiores, obteniéndose excelentes cosechas en suelos con grados de acidez de hasta 3.1, siempre y cuando las propiedades físicas sean satisfactorias. El café posee una gran adaptabilidad a la reacción del suelo (grado de acidez), pues muchas regiones son cultivadas con éxito en suelos alcalinos de pH de hasta 8 o aún más.

Existen varios factores que contribuyen a la acidificación de los suelos, tales como:

- El lavado de los suelos por efecto de la alta precipitación.
- El uso intensivo del suelo
- La fertilización (especialmente con fertilizantes a base de nitrógeno)

d) La descomposición de la materia orgánica.

Para corregir el grado de acidez del suelo es necesario encalar con cierta periodicidad, para lo cual deben hacerse las mediciones respectivas y determinar las cantidades de cal que van a utilizarse.

7.8.2 Color

En términos generales, el color negro de los suelos indica un buen contenido de materia orgánica. Los suelos oscuros son los mejores para el café y los cultivos, en general.

7.8.3 Textura

El cultivo del café requiere suelos de buena textura; es decir, suelos francos o migajosos, ya que la aireación es fundamental para el buen crecimiento de las raíces. Se ha indicado que un suelo ideal para este cultivo debe tener un espacio de poro del 60%, del cual el 30% debe permanecer ocupado por el aire del suelo cuando se encuentra húmedo.

En el cultivo del café, deben evitarse los extremos de textura ya que suelos muy arenosos, no asegurarían reservas adecuadas de agua y nutrimentos; por otro lado, suelos muy arcillosos no permitirían la aireación adecuada de las raíces.

La retención de agua es muy fuertemente influida por la textura, la estructura y las propiedades químicas de los ingredientes del suelo.

Un suelo ideal para el cultivo de café debe poseer las siguientes condiciones:

- a) Textura franca o migajosa, con un buen nivel de materia orgánica para asegurar una buena economía del agua y aire.
- b) Textura mediana, con arcillas de buenas calidades para mantener el agua y los nutrimentos en el suelo.
- c) Un suelo profundo con un subsuelo permeable, que permita una buena distribución de raíces, lo cual es básico para el adecuado abastecimiento de agua y los nutrimentos en el suelo.

7.8.4 Relieve

El cafeto, por ser una planta rustica, se adapta con facilidad a condiciones topográficas que son desfavorables para otros cultivos.

Los suelos planos o ligeramente ondulados son los más aptos para el cultivo del café, por su mayor profundidad, capacidad de retención de agua y nutrimentos y, por ser aptos para la mecanización.

Debe evitarse pendientes mayores de 45% para que no se produzcan procesos erosivos que deterioren el suelo, o en su defecto, deben aplicarse buenas medidas de conservación, lo cual facilita la producción de café en suelos con pendientes de hasta 60 y 70%.

7.8.5 Profundidad

La profundidad efectiva del suelo es la capa que permite la penetración de las raíces de las plantas. En el caso del cultivo de café han determinado que son recomendables los suelos con profundidades no menores a un metro.

La erosión ocasionada por las inadecuadas prácticas de desyerba del cultivo, disminuye la profundidad efectiva del suelo. (Alvarado & Gilberto, 2007)

7.8.6 Fertilidad

Esta propiedad del suelo está estrechamente relacionada con la cantidad disponible de nutrimentos para las plantas.

Los elementos nutritivos que el cafeto requiere en mayor cantidad son: Nitrógeno, Fósforo y Potasio.

El cafeto necesita en menor cantidad de Calcio - Magnesio, Azufre - Hierro, Zinc - Manganeso, Boro – Cobre.

La carencia de alguno de estos nutrimentos afecta el normal crecimiento y desarrollo de la plantación cafetera al igual que su producción potencial, tanto en calidad como en cantidad de café.

Un suelo que presente mediana a baja fertilidad se puede mejorar con la aplicación de fertilizantes.

En general, se puede decir que para el cultivo del cafeto son más importantes las buenas condiciones físicas del suelo que su fertilidad natural.

7.8.7 Materia orgánica

Está representada por los residuos descompuestos de plantas y animales. La pulpa de café descompuesta aporta materia orgánica a los suelos. La materia orgánica tiene mucha importancia para obtener una alta productividad del cultivo. Influye en forma decisiva en el mejoramiento de las condiciones físicas del suelo, favorece la retención de humedad y es el principal sustrato para el desarrollo de pequeños organismos que la transforman en una gran fuente de alimento para el cafeto. Los suelos buenos para cultivar café deben tener contenidos de materia orgánica mayores al 8%. (Arias N., 2012).

7.9 Tipo de poda

Existen dos aspectos principales que hay que tomar en consideración en cuanto a la poda del café: primero, la formación de los árboles jóvenes para construir una estructura vigorosa y bien balanceada con buenas ramas de fructificación, y segundo, el rejuvenecimiento periódico de las ramas de fructificación, a medida que envejecen y dejen de producir.

La formación se empieza poco después de que las plantas obtenidas de semilla o las clonales, se trasplantan en el campo. Con el café arábigo existen dos tipos de formación, como árboles de un solo tallo o como árboles de tallos múltiples. Un sistema mixto permite que crezca un solo tallo principal hasta una altura de 1,35 a 1,50 m, altura a la cual se poda para evitar su posterior extensión hacia arriba.

Las ramas secundarias y terciarias que empiezan desde el tallo principal y las ramas principales laterales se podan para proporcionar el espaciado uniforme y para que la luz llegue a toda la superficie productora. El método general más usado para la formación del café en África y en todo el resto del mundo es uno de los sistemas de tallo múltiple. Casi cada país ha desarrollado una o más variantes sobre dos patrones generales. Los árboles se pueden cortar cuando tienen más o menos 30 cm de altura, de nuevo a una altura mayor, de tal manera que haya de 3 a 4 tallos erectos de aproximadamente igual tamaño y fuerza formando la estructura básica del árbol. Los otros dos sistemas generales consisten en doblar la punta del tallo hasta que crezcan ramas erectas y el tallo principal haya crecido lo suficiente para retener su forma doblada. Se retienen de dos, tres o cuatro de las mejores ramas rectas, y el resto se corta. La punta de la guía principal se puede cortar o se puede dejar crecer. En el invernadero es una práctica común el sembrar las semillas cerca para que las plantas crezcan altas y delgadas. Los mejores árboles se producen si las plantas con más o menos seis pares de hojas se doblan.

Tanto con el sistema de formación de un solo tallo o uno múltiple, es necesario el rejuvenecimiento periódico de los árboles, para mantenerlos en condiciones de producción vigorosa. La mejor época del año para podar a los árboles de café es poco después de la cosecha, puesto que la mano de obra es abundante entonces y las plantas así tienen tiempo de recuperarse antes de la siguiente temporada de floración (InfoAgro.com).

7.10 Enfermedades y plagas pre y post cosecha y su control.

Las enfermedades que ocurren en el cafeto están causadas principalmente por hongos, bacterias y nematodos y afectan las plantas en distintas etapas de su desarrollo. La influencia que éstas puedan tener en el crecimiento, producción y rendimiento de los cafetos estará determinada por su incidencia, por la edad de la planta y por el manejo de todas las condiciones para el desarrollo del cultivo. Por lo tanto, además de poder reconocer los síntomas de las enfermedades, el combate de las mismas envuelven estrategias que propicien el vigor y la salud de las plantas y plaguicidas con permiso de uso los cuales se tienen que aplicar siguiendo las instrucciones que se describen en la etiqueta del producto.

7.10.1 Principales enfermedades

Roya del cafeto - *Hemileia vastatrix* Berk & Br.

Los síntomas de esta enfermedad se presentan como manchas de tono verde pálido o verde amarillo en el haz de las hojas; en el envés son manchas anaranjadas, (cuerpos fructíferos del hongo). Las hojas severamente atacadas se desprenden del árbol y en consecuencia éste se ve limitado en su producción. Bajo condiciones favorables para el desarrollo de la enfermedad puede llegar a provocar defoliación total y muerte del cafeto.

Control

- *Control cultural*

Consiste en reducir los factores que predisponen el cultivo a la enfermedad; esto se logra mediante la regulación de sombra, control de malezas, manejo del tejido productivo, densidad de siembra, fertilización, etc.

- *Control químico*

La severidad de la roya puede reducirse con aspersiones de fungicidas protectivos. Se recomiendan los cobres, alternando con fungicidas sistémicos para controlar o bajar el nivel infeccioso de focos.

Se sugiere que el programa de aspersiones para el control de la Roya, comience con las lluvias en la zona. Además es necesario realizar una buena protección del cafetal antes de la cosecha, debido a que el movimiento de personas durante esta época, favorece la diseminación de las esporas del hongo.

Los controles deben realizarse de tal manera que no se permita al patógeno superar un índice del 10% de infección, para aprovechar que los cobres (preventivos) puedan dar efectos positivos. Se sugiere tres aspersiones con una frecuencia de 30 días entre una y otra. Cuando los índices de infección sobrepasen el 20% se sugiere la aplicación de fungicidas sistémicos, (curativos).

Mancha de hierro - cercospora coffeicola Berk & Cooke

En su fase inicial se presentan manchas circulares de 3 a 10 mm de diámetro, con 3 colores concéntricos bien definidos; una mancha circular cenicienta oscura en el centro, con diminutos puntos negros, luego un anillo café-rojizo y en toda la orilla un halo amarillo. La enfermedad completa, es el resultado de un complejo de factores:

- a. Debilitamiento natural en el cafetal después de la cosecha.
- b. Cierta presión sobre las funciones del cafeto con la entrada del verano, el aumento de la temperatura del ambiente y de sus hojas.
- c. Reducción de la humedad en el suelo y en el ambiente a la salida del invierno.
- d. “Desombrado” drástico a la entrada del verano, que intensifica las condiciones señaladas.
- e. Nutrición mineral deficiente.

Estos factores en un cafetal bien manejado, provocan las condiciones favorables y predisponen a los cafetos para que el hongo encuentre la situación óptima para su ataque; la enfermedad se vuelve severa provocando defoliación y pérdida del fruto.

En almácigos se hacen más sensibles los cambios del ambiente y del suelo al entrar el verano, combinados con el tamaño y etapa de crecimiento de los cafetos. Cambios drásticos de temperatura y humedad en el ambiente y en el suelo, acompañados de una pobre fertilización de los cafetos, puede provocar su defoliación, debilitándola, un marcado deterioro en su forma y crecimiento y aún muerte de las plantitas. La Mancha de Hierro es una enfermedad provocada por un hongo y un desequilibrio fisiológico en el cafeto.

Control

- *Control cultural*

Evitar desombrados repentinos en los almácigos a la entrada del verano y procurar que no baje la humedad en el suelo. Aplicar un buen manejo y la fertilización. En plantación, evitar “desombrados” fuertes en el verano, principalmente en las fincas más bajas, con riesgos de sequía relativa, con mayor intensidad y más horas de sol y con suelos arenosos.

- *Control químico*

El inicio del control de esta enfermedad debe hacerse por lo menos 15 días antes de que se establezcan las lluvias. Es recomendable que antes del inicio de las aspersiones, cada finca haya determinado previamente las áreas afectadas por la enfermedad, para que el tratamiento se haga por sistema de foqueos, ahorrando tiempo y dinero. En el almácigo se recomienda hacer la aspersión pareja a todas las plantitas, repetir aplicación cada 30 días en forma preventiva.

Antracnosis - *Colletotrichum coffeanum* Noack

La enfermedad es conocida como muerte descendente porque la infección se inicia en la parte terminal de las ramas y avanza hacia el eje (tallo) central; está considerada como una enfermedad de los frutos, no obstante, puede causar daños a la flor, bandolas y hojas. Los síntomas en las hojas se presentan como manchas concéntricas que van de los bordes hacia la parte central; en frutos como puntos negros no concéntricos sobre la pulpa, deteniendo su crecimiento y provocando la momificación del mismo.

Los factores que predisponen al cafeto al ataque del patógeno son: períodos prolongados de lluvia, exposición directa a la luz solar y suelos con desequilibrios nutricionales.

Control

- *Control cultural*

El control de la enfermedad debe estar enfocado a mantener una adecuada fertilidad del suelo y nutrición del cafeto. Deberá también evitarse la exposición directa del cultivo al sol y el "anegamiento".

- *Control químico*

Aplicados a intervalos de 30 días. El tratamiento puede realizarse al inicio de las lluvias y durante el desarrollo del fruto, una, dos o tres aspersiones alternando

productos de acción protectora y sistémica, dependiendo de la incidencia y severidad de la enfermedad.

Ojo de Gallo - *Mycena citricolor* Berk y Curt Sacc., *Omphalia flavida* Maublanc & Rangel

Se caracteriza por la presencia de numerosas manchas en las hojas, más o menos circulares de 5 a 15 mm de diámetro y de color gris ceniciento; en brotes tiernos y frutos tienden a ser ovaladas, inicialmente negruzcos, luego aumentan de tamaño y cambian a color café y más tarde a gris. En condiciones óptimas, el hongo desarrolla sobre las manchas unos hilitos amarillos en forma de diminutos alfileres erguidos y doblados que corresponden a los cuerpos fructíferos del hongo.

Este hongo se desarrolló en condiciones de alta humedad y temperatura relativamente baja, siendo común en plantaciones con abundante maleza y sombra muy densa. La enfermedad causa principalmente perforaciones a la hoja, defoliación y caída de frutos.

Control

- *Control Cultural*

El mejor control lo constituyen las limpiezas oportunas, el manejo adecuado del tejido productivo y la correcta regulación de la sombra. Hay focos difíciles de erradicar por estar en lugares que favorecen el desarrollo del hongo, como joyas, laderas poco iluminadas y próximas a riachuelos o tomas de agua y nublados frecuentes, que obligan a complementar el buen manejo del cafetal con el control químico. Deben eliminarse las malezas que crecen dentro y próximas al cafetal que son hospederos del Ojo de Gallo. Los Catimores son más susceptibles al ataque de este hongo, por lo que no se recomienda su cultivo en zonas de mayor altitud y humedad relativa alta.

- *Control Químico*

Debe realizarse por lo menos de 15 a 30 días antes de que se establezcan las lluvias. Se recomienda que se hayan determinado previamente las áreas afectadas para que el tratamiento se haga por focos. La segunda aplicación debe llevarse a cabo 30 días después de la primera.

Mal rosado - *Corticium salmonicolor* Berk & Br.

Es causada por un hongo que en estados avanzados toma una coloración rosada, invadiendo tejidos conductores. Al atacar las plantas en producción, los frutos son

invadidos por el micelio del hongo semejando una telaraña, causando necrosis y muerte de la parte basal, así como la formación de motitas del micelio sobre la superficie. Causa marchites en el follaje terminal de las ramas; ataca el tejido leñoso y joven de ramas principales, causando lesiones. Es común a altitudes entre 1,500 y 3,000 psnm, lluvias frecuentes y mañanas soleadas.

Control

La presencia del mal rosado es evidente poco antes de finalizar el invierno, el control comprende dos aspectos:

- *Control Cultural*

El inoculo puede llegar a erradicarse de los cafetales si se sigue un programa cuidadoso de eliminación de ramas afectadas, es importante tratar los machetes, tijeras podadoras y sierras que se usan para cortar las partes enfermas, con una solución desinfectante, para no llevar el hongo de un lugar a otro.

- *Control Químico*

Se recomiendan realizar aplicaciones de manera preventiva con productos a base de cobre. Se asperjaron los cafetos en los focos donde se ha detectado la enfermedad en años anteriores al inicio de la época lluviosa, si fuera necesario una segunda aplicación se hará 30 días después de efectuara la primera.

Cáncer del tronco - *Ceratocystis fimbriata* Elliot & Halst Hunt.

El hongo penetra el cafeto a través de una herida, luego avanza dentro del tejido sano hasta rodear el tallo por completo. Cuando la mancha ha alcanzado unos 8 cm de diámetro, la corteza que la cubre principia a agrietarse; después se revienta y abre. Los cuerpos fructíferos del hongo pueden sobrevivir en el suelo durante la época seca. El tejido morroñoso y agrietado de la corteza es un síntoma claro para identificar los cafetos afectados por cáncer. Al remover la corteza se comprueba la presencia de manchas necróticas de tejido infectado. Cuando la enfermedad se encuentra en estado avanzado, las hojas se vuelven amarillas y el cafeto presenta un aspecto marchito y decaído, poco tiempo después, las hojas caen, la planta se seca y muere.

Ataca principalmente el tronco, pero también suele invadir las ramas. Una infección fuerte de Cáncer puede matar un cafeto adulto en un período de 2 a 3 años.

Control

- *Control cultural*
 1. No lastimar o causar heridas al cafeto al realizar las labores de limpia en forma manual o mecánica.
 2. Al momento de la poda hacer bien los cortes y tratar las heridas con un fungicida cobre-cortes (2 onz de un producto a base de cobre en 8 onz de vaselina inocua)
 3. Es conveniente la desinfección de todos los instrumentos usados en esta actividad (2 lbs. De hidróxido de calcio en 50 gl. de agua es recomendable).
 4. Eliminar plantas muertas por cáncer y quemarlas.

Fumagina - Capnodium sp. y Meliola sp.

Esta enfermedad prospera sobre las excreciones de insectos chupadores como escamas, cochinillas del follaje y afidos o pulgones. Los hongos que la forman tienen una tela negra que parece tizne u hollín.

La Fumagina crece sobre las hojas, el fruto y los brotes del cafeto. Cuando la invasión del hongo es severa, interfiere con las funciones de la hoja y afecta el desarrollo normal de los brotes, provocando amarillamiento y debilitamiento del cafeto.

Control

Controlar los insectos que indirectamente provocan la enfermedad. Las aspersiones deben hacerse cuidando de cubrir bien los brotes, ramas tiernas y las hojas en el haz y envés. Una sola aplicación puede destruir una infestación de insectos y eliminar el hongo. Una segunda aplicación es conveniente. Se recomienda el uso de insecticidas mezclados con algún aceite agrícola o de un adherente, tales como:

Pudrición del fruto - Corticium sp.

Esta enfermedad se caracteriza por una invasión de pedúnculo que luego avanza por la base del tallo hasta llegar a cubrirlo, si el ataque es al inicio de la formación del fruto, este se daña, terminando por pudrirse o caerse.

Control

- *Control Cultural*

Se recomienda mantener un adecuado estado nutricional de la planta considerando importante las aplicaciones del zinc al momento de la formación del grano y favorecer la ventilación dentro de los cafetales.

- *Control Químico*

Debido a que la incidencia, es por exceso de sombra y alta humedad, se sugiere que estos factores predisponentes se reduzcan al mínimo, estas medidas pueden complementarse mediante el uso de una o dos aspersiones de fungicidas a base de cobre.

Mancha circular de la hoja - *Sclerotium coffeanum*

Esta enfermedad se caracteriza por la formación de manchas cafés en bandas circulares concéntricas, que al final se tornan café oscuro a negro, esta última característica corresponde a los cuerpos fructíferos del hongo. En cafetales donde se ha observado, provoca la destrucción del área foliar y consecuentemente defoliación.

Control

Aspersiones dirigidas a focos de infección con fungicidas a base de cobre.

Ahorcamiento del tallo - *Myrothecium roridum* Tode ex Fries

Poco se conoce sobre los hábitos de este hongo y sobre el desarrollo de la enfermedad. Los síntomas se presentan unas veces solo en las hojas, otros solo en el tallo y otros aparecen juntos. En hojas, el hongo provoca manchas circulares de color café oscuro con círculos concéntricos, el tejido se desprende y deja perforaciones. En el tallo, el hongo provoca un ahorcamiento que hace frágil la planta y puede llegar a quebrarla con facilidad.

La incidencia de la enfermedad está asociada a otros factores como: exceso de humedad en el suelo y siembra profunda o exceso de tierra por encima del cuello de la raíz.

Control

La incidencia de esta enfermedad puede prevenirse evitando el exceso de humedad, siembra profunda y aporques innecesarios; además, no debe

descartarse la alternativa del uso preventivo de productos químicos, a través de la desinfección del suelo del semillero, almácigo y ahoyado.

Recomendaciones

- Producción de almácigos libres de la bacteria, por medio del control de los insectos vectores.
- Eliminar los cítricos dulces "enfermos" cercanos al área de almacigo o las plantaciones.
- En plantaciones medianamente afectadas, realizar podas en su momento oportuno y aplicaciones a base de sulfato de cobre sobre el follaje.
- En plantaciones de café con síntomas muy severos, programar su renovación con plantas de almácigo sano.

7.11 Índice de cosecha

Cuando la semilla alcanza su madurez fisiológica, que en este caso coincide con la agrícola, se produce una separación en dos del tabique interno de la semilla y además ésta adquiere una coloración marrón o café con leche. Otro indicador de madurez es el quiebre de pelón, el cual se asocia directamente con la dehiscencia del fruto y así se puede extraer el fruto sin dificultad del árbol (Lemus, 2001).

Ambos indicadores debiesen producirse de forma simultánea, sin embargo es bastante frecuente que no coincidan. En particular el quiebre de pelón se retrasa con respecto al cambio interno del tabique, lo que produce que al cosechar, la semilla esté sobre madura haciendo bajar así su calidad comercial y el precio de venta.

7.12 Cultivo del café

La planta del cafeto requiere para su cultivo unas condiciones específicas: calor y lluvia. Así, la climatología y la fertilidad de la tierra influyen en la planta. Para la variedad Arábica, la temperatura adecuada está entre los 15-24 °C mientras que para la robusta, es un poco superior, entre los 24-29 °C. Los suelos más fértiles son aquellos húmedos, permeables y ricos en nutrientes. El grado de maduración de los frutos depende de la lluvia; si ha llovido de forma uniforme a lo largo del año, es posible encontrar, al mismo tiempo, flores y frutos con diferentes grados de maduración. Para que la flor del Coffea Arábica se convierta en fruto maduro, se requiere de 6 a 8 meses; la Robusta, por su parte, necesita de 9 a 11 meses.

Desde la plantación, pasarán entre 2 y 4 años para que el cafeto produzca su primera cosecha. A partir de aquí, durante 20 o 30 años, la planta, cuidada correctamente, podrá producir café de alta calidad (Jose Daniel Cortijo, 2014).

7.13 Tiempo de cosecha

El momento de la recolección viene marcado por el color de las cerezas o drupas, que son las que contienen los granos de café.

La maduración se alcanza cuando estas cerezas han adquirido un color rojizo. Es importante tener en cuenta la elección del fruto, antes de recolectarlo, pues un grano verde o poco maduro, potencia el sabor amargo mientras que uno demasiado maduro, da un sabor fuerte. Los recolectores se ponen manos a la obra y van de planta en planta, con algunas semanas de intervalo. Podemos hablar de dos métodos de recolección:

- Grano a grano o **“picking”**: los recolectores van cogiendo una a una las cerezas o drupas, seleccionando sólo aquellos granos que estén realmente maduros y sanos. Este sistema, lógicamente, es más costoso y lento pero asegura un grano de calidad y, por tanto, más cotizado.
- **“Stripping”**: este modo consiste en desgranar las ramas desde el interior hacia el exterior y se puede hacer manualmente o con maquinaria. Este método supone que se recojan tanto los frutos rojos como los verdes. (Jose Daniel Cortijo, 2014)

7.14 Control de Calidad.

El Control de Calidad de café debe de iniciarse desde el corte de cereza, tomando cuidado de cortar las cerezas maduras y sanas, por separado a las cerezas dañadas.

Dentro de los factores principales que influyen en la calidad del café, el beneficio húmedo es uno de los más importantes. Independientemente de que los otros trabajos de manejo de abonos orgánicos, de conservación de suelos, de podas y sombra y del control de plagas sean buenos o muy buenos, el beneficio húmedo juega un papel determinante en la calidad final de su café.

En esta fase, todo la calidad que se ha ganado en el campo puede echarse a perder si no se llevan cabalmente los pasos del beneficio húmedo.

Las etapas o pasos que se dan para el proceso de beneficio húmedo son: corte, recepción, clasificación, despulpado, fermentación, lavado, oreado, secado, y clasificación, para el almacenaje. Todo esto se logra en un tiempo promedio de 50 horas.

7.15 Micotoxinas

Las Micotoxinas se generan por la multiplicación de ciertos hongos, principalmente durante la precosecha y almacenamiento de los granos, bajo condiciones favorables para su crecimiento.

Estas incluyen factores físicos: humedad y agua disponible, temperatura, zonas de microflora (pequeñas zonas del alimento con alto contenido en humedad) e integridad física del grano o del alimento y factores químicos: composición del sustrato, pH, nutrientes minerales y disponibilidad de oxígeno.

Actualmente se conocen más de 200 diferentes Micotoxinas presentes en granos (tabla 2) como el maíz, trigo, cebada, arroz, semilla de sésamo, maní, etc., siendo las Aflatoxinas, la ocratoxina A, la zearalenona, las fumonisinas y los tricotecenos las principalmente asociadas a problemas de toxicidad alimentaria. (Delgado L., 2011)

Tabla 2. Alimentos y hongos asociados a las Micotoxinas.

Micotoxinas	Alimentos	Hongos asociados
Aflatoxinas	Maní, pistaches, nueces, maíz, semilla de algodón y cereales	<i>Aspergillus parasiticus</i> , <i>A. flavus</i>
Fumonisin	Maíz y otros cereales	<i>Fusarium verticillioides</i> , <i>F. proliferatum</i>
Ocratoxina	Legumbres, cereales y granos de café	<i>Penicillium verrucosum</i> , <i>Aspergillus ochraceus</i>
Patulina	Manzanas, uvas y otras frutas	<i>Penicillium expansum</i> , <i>Aspergillus giganteus</i> , otros <i>Penicillium</i> y <i>Aspergillus spp.</i>
Tricotecenos	Trigo, maíz	<i>Fusarium tricinctum</i> , <i>F. poae</i> y otras especies de <i>Fusarium</i>

(Sharma, 2004)

Las micotoxinas son compuestos ubicuos que difieren mucho en sus propiedades químicas, biológicas y toxicológicas. Una micotoxicosis primaria se produce al consumir vegetales contaminados, y secundaria al comer carne o leche de animales que ingirieron forrajes con micotoxinas.

Características de una micotoxicosis son:

- No es una enfermedad transmisible,
- En los brotes observados en el campo, el problema es estacional debido a que las condiciones climáticas afectan al desarrollo del moho,
- El brote está comúnmente asociado a un alimento o forraje específico,
- El examen del alimento o forraje sospechoso revela signos de actividad fúngica (Lillehoj, 1991).

Los primeros casos de micotoxicosis conocidos fueron debidos al centeno contaminado con *Claviceps purpurea*, en la Edad Media. En la Argentina, Quevedo (Quevedo, 1912) describió la acción de los metabolitos tóxicos de un *Aspergillus* del maíz sobre varias especies animales. Pero la intoxicación masiva de pavos en Inglaterra llevó al estudio de las aflatoxinas en 1960, llamadas así pues son producidas por especies del grupo *Aspergillus flavus* (Lillehoj, 1991).

La presencia de las micotoxinas en los vegetales puede deberse:

- A la infección de la planta en el campo por el hongo patógeno o la colonización de las hojas por los saprobios,
- Al crecimiento de los mohos saprobios o patógenos post-cosecha sobre los frutos y granos almacenados,
- Al desarrollo fúngico saprobio durante el almacenamiento de los materiales ya procesados (Swanson, 1987).

Las micotoxinas son específicas. Cuanto más compleja es la ruta biosintética de estos metabolitos secundarios más restringido es el número de especies de hongos productores de micotoxinas (tabla 3). Las esporidesminas son producidas solamente por *Pithomyces chartarum* (Moss, 1991). La patulina es producida por unas once especies de *Penicillium*, tres de *Aspergillus* y dos de *Byssochlamys* (Moss, 1991).

Tabla 3. Principales micotoxinas agrupadas a su origen biosintético.

Origen	Micotoxinas	Algunas especies productoras
Policetonas	Ácido penicílico	<i>Aspergillus ochraceus, Penicillium simplicissimum</i>
	Ácido secalónico D	<i>Penicillium oxalicum, Claviceps purpurea</i>
	Aflatoxinas	<i>Aspergillus flavus, A. nomius, A. parasiticus</i>
	Alternariol	<i>Alternaria alternata</i>
	Citrinina	<i>Penicillium citrinum, P. verrucosum</i>
	Citroviridina	<i>Aspergillus terreus, Penicillium citreonigrum</i>
	Esterigmatocistina	<i>Aspergillus versicolor, Eurotium amstelodami</i>
	Fumonisinias	<i>Fusarium nygamai, F. proliferatum, F. verticilloides, Alternaria arborescens</i>
	Luteoskirina	<i>Penicillium islandicum</i>
	Moniliformina	<i>Fusarium nygamai, F. tapsinum, F. proliferatum</i>
	Ocratoxinas	<i>Aspergillus ochraceus, Penicillium verrucosum</i>
	Patulina	<i>Penicillium expansum, P. griseofulvum, P. roqueforti</i>
	Zearalenona	<i>Fusarium equiseti, F. graminearum</i>
Aminoácidos	Ácido ciclopiazónico	<i>Aspergillus flavus, A. tamarii, Penicillium commune</i>
	Alcaloides del ergot	<i>Claviceps purpurea</i>
	Bovericina	<i>Fusarium proliferatum, F. subglutinans, F. verticilloides</i>
	Citocalasinas	<i>Aspergillus terreus, Phoma medicaginis</i>
	Esiaframina	<i>Macrophomina phaseolina</i>
	Roquefortinas	<i>Penicillium roqueforti</i>
Terpenos	Fusaproliferina	<i>Fusarium proliferatum, F. subglutinans</i>
	Paspalinina	<i>Claviceps paspali</i>
	Penitrem A	<i>Penicillium crustosum</i>
	Tricotecenos	<i>Fusarium graminearum, F. sporotrichoides, F. poae, Myrothecium roridum, Stachybotrys chartarum</i>
Acidos	Ácido tenuazoico	<i>Alternaria arborescens, A. tenuissima</i>
Tricarboxílicos	Rubratoxinas	<i>Penicillium purpurogenum</i>

(Kale, 1992 y Desjardins, 2001).

Hongos toxicogénicos y micotoxinas 'naturales'

Las micotoxinas son ingeridas con los alimentos o forrajes contaminados directa o indirectamente. La contaminación directa con un moho y la consecuente producción de toxina puede ocurrir durante la producción, el transporte, el

estacionamiento o el procesamiento del alimento o forraje. Mientras que la contaminación indirecta se debe a la presencia de un ingrediente previamente contaminado con un moho toxinogénico que ya ha desaparecido cuya micotoxina persiste. (Swanson, 1987).

En la tabla 4 se resumen las afecciones en los animales provocadas por la ingesta de algunas micotoxinas.

Tabla 4. Micotoxinas y sus enfermedades.

Micotoxinas	Trastornos
Ácido ciclopiazónico	Desórdenes gastrointestinales y neurológicos; cambios degenerativos y necrosis en vísceras.
Ácido penicílico	Hepatotóxico y cancerígeno
Ácido secalónico D	Teratogénico
Ácido tenuazónico	Baja eficiencia de la alimentación, pérdida de peso; congestión y hemorragias de estómago e intestino, agrandamiento de riñones.
Aflatoxinas	Daño hepático agudo, cirrosis, inducción de tumores, eritrogénesis; excreción por leche, acumulación en tejidos
Alternariol-metiléter	Mutagénica
Beauvericina	Afecta la contractilidad del músculo liso de mamíferos.
Citocalasinas	Inhibe la división celular, la función tiroidea y la secreción de amilasa
Citrinina	Toxicidad renal en monogástricos
Desoxinivalenol	Rechazo del alimento, vómitos; inmunosupresión en cerdos y otros animales
Esterigmatocistina	Cambios patológicos en hígado, inducción de tumores
Fumonisinias	Leucoencefalomalacia equina; edema pulmonar en cerdos; cáncer hepático en ratas; excreción por leche.
Ocratoxina A	Nefropatía en cerdos y aves; acumulación en riñón, hígado y músculo
Rizonina A	Gastroenteritis, afecta hígado y riñones.
Patulina	Trastornos gastrointestinales y neurológicos; inducción de tumores.
Tremógenos (fumitremógeno, paspalinina, penitrem A, territrem B y otros)	Daño del sistema nervioso central, temblores.
Zearalenona	Síndrome estrogénico en cerdos y ganado de cría; excreción por leche junto con α y β -zearalenol.

(Ueno Y. 1985.)

7.15.1 Ocratoxina A

La ocratoxina A fue identificada durante la investigación de la toxicidad del *Aspergillus ochraceus*; de ahí deriva su nombre, y en ese momento no había conexión alguna con patología humana o animal. Más adelante se comprobó que esta especie no era su principal productor, sino el *Penicillium viridicatum*, y el *P. verrucosum* (Krogh, P., 1987)

Los principales hongos productores son: *Aspergillus ochraceus*, *A. sulfureus*, *A. melleus*, *A. alliaceus*, *A. ostianus* y *Penicillium viridicatum*, *P. verrucosum*, *P. commune*, *P. cyclopium*, *P. variable*, *P. purpurescens*, *P. palitans* (Coie, R. et al, 1982). Los hongos son especies biológicas de gran ubicuidad, siendo habitualmente saprófitos del suelo, agua y aire. Para cada género de hongo existen condiciones ambientales que le permiten su crecimiento y producción de toxina (Metabolitos tóxicos).

El *A. ochraceus*, crece y produce ocratoxina A, a temperaturas que oscilan entre 12 °C-37 °C y con una actividad de agua del sustrato de 0,87 a 0,99; en tanto que el *P. viridicatum*, necesita temperaturas entre 4 °C y 31°C, con actividad de agua entre 0,95 a 0,99 (. Jeuek, C. F et al). Esto implica que el primero es contaminante frecuente en las zonas de climas templados (Yugoslavia, Australia) y el segundo de climas fríos (Canadá, Escandinavia). En Chiapas el *A. Ochraceus* se desarrolla a una temperatura de 30°C, aunque la toxina alcanza mayor concentración a 31 °C y una actividad de agua de 0.80, debido que en Chiapas se tiene una temperatura de 18°C a 30 °C las condiciones para la proliferación de *A. Ochraceus* son óptimas para su crecimiento en regiones de los altos de Chiapas y zona costera, (Organización Panamericana de la Salud, 2006), el *A. ochraceus* que debido a su temperatura su crecimiento será menor.

El contenido del aire influye sobre la producción de ocratoxina, ya que por arriba de un 40 % de su contenido (en atmósfera controlada), incrementa la producción; y la presencia de un 30% de CO₂, inhibe, totalmente, la producción de ocratoxina (Howell, M. V., 1982).

Como casi todas las micotoxinas, el principal sustrato en que se las encuentra son los cereales; fue hallada por primera vez en maíz, Y con posterioridad en trigo, cebada, trigo pan, granos de café, arroz, soja (Page, R. K., et al, 1980).

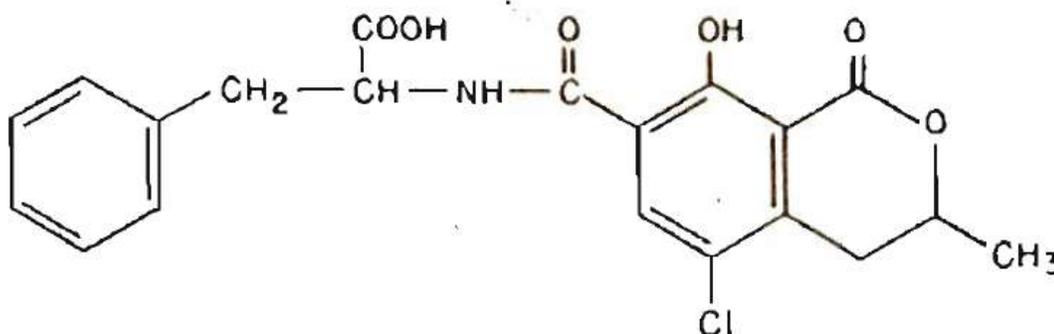
La composición del sustrato sobre el que colonizan estos hongos, cumple un importante rol para favorecer la producción de toxina, ya que a medida que se incrementa el contenido natural de nitrógeno (indirectamente en contenido de proteína) del grano o semilla, aumenta la producción de ocratoxina (Vanyi, A., et al). Esto se considera relevante, en aquellos cultivos en los que se han utilizado fertilizantes.

Micotoxicosis por Ocratoxina A

El agente causal es, principalmente, una micotoxina, la ocratoxina A (OTA), químicamente 7- carboxi-5-cloro-8-hidroxi-3 ,4-d ihidro-3 R-metilisocumarina-7L---fenilalanina; de peso molecular 403.0822 (C₂₀H₁₈O₆NCI). La OTA (figura 10), está comprendida entre un grupo de siete compuestos similares, todos derivados isocumarínicos, como son las Ocratoxinas B, y sus metil y etil ésteres; la ocratoxina C; y la 4 hidroxiocratoxina A.

La ocratoxina A, la de mayor toxicidad y más frecuentemente hallada, como contaminante natural, es un compuesto cristalino, escasamente coloreado, moderadamente soluble en solventes orgánicos, ligeramente soluble en agua y soluble en solución acuosa bicarbonatada. Es bastante estable al frío, ya que puede almacenarse en metanol, en refrigeración por un año; así como al calor, ya que resiste, en una alta proporción, el autoclave durante 3 h.

Figura 10. Estructura de la Ocratoxina A.



La presencia del agente causal (ocratoxina A), en los alimentos, depende de la interrelación hongo-sustrato-medio ambiente; sobre esta tríada se ejercerían las acciones preventivas (Bullerman, lo B., 1985).

La mayoría de los países, han detectado contaminación de diferentes Micotoxinas en sus cultivos, durante el almacenamiento postcosecha y/o en productos elaborados.

Los hongos productores de ocratoxina, se desarrollan más frecuentemente durante el almacenamiento que durante el cultivo, cuando el mismo se lleva a cabo en condiciones inadecuadas. Los granos, cereales y oleaginosas después de la cosecha, son sometidos durante el transporte, el almacenamiento en silos, la molienda, etc., a diversas acciones que pueden favorecer el desarrollo de éstos u otros hongos toxicogénicos. (Pacin A., 1990)

No todos los hongos producen micotoxinas, ni todos los hongos producen Ochratoxina A. La mayoría de las micotoxinas son producidas por hongos de los géneros *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium*. La Ochratoxina A es producida por varias especies de *Aspergillus* y *Penicillium*, principalmente por *Aspergillus ochraceus* encontrado con mayor frecuencia en regiones tropicales y por *Penicillium verrucosum*, hallado sólo en regiones más templadas. (Avances Técnicos, Cenicafé, 2003)

Vías de exposición

Los principales alimentos contaminados por OTA son los cereales y derivados, y son considerados la principal fuente de exposición a esta micotoxina. Más recientemente, se ha demostrado que el vino es una matriz de alimentos que podría estar contaminada con frecuencia con OTA y puede tener una importante contribución a la exposición general de la micotoxina. Además, esta micotoxina se ha encontrado en otros alimentos como el café, especias, frutos secos, cerveza, verduras o queso.

Toxicocinética de la OTA

El perfil toxicológico de la OTA se ha descrito principalmente de su efecto nefrotóxico. Diferentes estudios epidemiológicos realizados en Dinamarca, Hungría, Polonia y Escandinavia han demostrado su importante papel en la etiología de la nefropatía porcina. También se ha asociado con nefropatías humanas como la nefropatía endémica de los Balcanes y la nefropatía tunecina. Se ha demostrado en ratas su efecto altamente tóxico en las células nerviosas, y su efecto inmunosupresor ha sido puesto en evidencia tanto en dosis bajas como altas dosis. Se ha observado un potente efecto teratogénico en animales de laboratorio. La OTA puede atravesar la placenta y acumularse en tejido fetal, causando anomalías morfológicas. Aunque algunos estudios con animales la administración de OTA ha inducido carcinomas hepatocelulares y adenomas, no existen estudios que relacionen la exposición a la OTA y el cáncer en humanos (Pfohl-Leszkowicz et al., 2007).

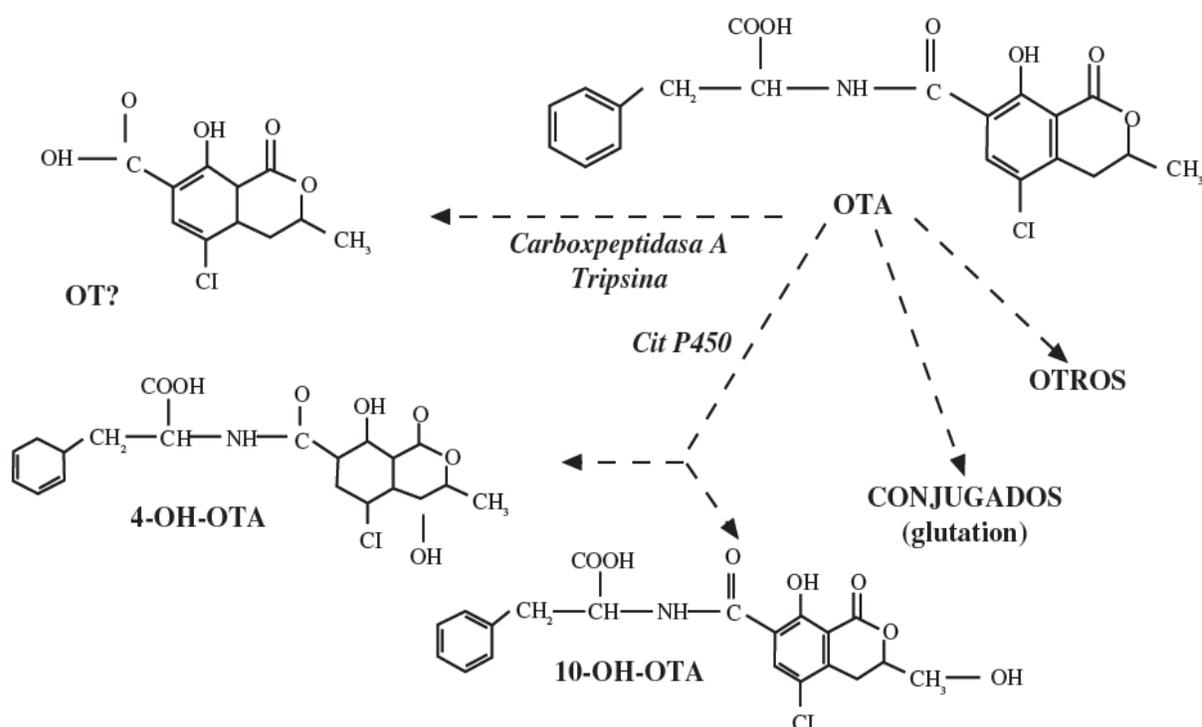
La OTA se absorbe en el tracto gastrointestinal, y pasa a la circulación sistémica, detectándose en sangre y tejidos. Las concentraciones más altas se detectan en los órganos de mayor actividad metabólica como riñón, hígado, músculo y grasa. Durante su distribución, la OTA tiene una alta capacidad de fijación a las proteínas plasmáticas, y presenta una semivida de eliminación larga, con valores en el cerdo de 72-120 horas y en el hombre 840 horas (35 días), siendo la fracción libre de toxina < 0,2%. Tanto la OTA como sus Metabolitos se excretan por vía renal y hepatobiliar. También se han observado niveles de OTA en las secreciones lácteas lo cual constituye un riesgo para el recién nacido afectándolo de manera directa en su crecimiento y desarrollo. Un caso excepcional es el de los rumiantes ya que la OTA no es excretada por vía láctea debido a su previa degradación por acción de la microflora del rumen. (OTA en alimentos de consumo humano, 2002).

Toxicodinámica: mecanismo de acción

Los principales mecanismos de acción de la Ocratoxina A mediante los cuales ejerce su toxicidad son:

- *Alteración sobre la respiración celular:* La OTA actúa inhibiendo competitivamente la actividad de la ATPasa, la succinato deshidrogenasa y la citocromo C oxidasa lo que genera efectos similares a los producidos en una lesión celular, obteniendo como productos finales radicales hidroxilados por peroxidación lipídica.

Figura 11. Metabolismo de la OTA



- *Alteración de la síntesis de proteínas:* Este mecanismo se produce a nivel post-transcripcional por inhibición competitiva de la Phe-ARNt sintetasa. Estudios *in vitro* con células renales demuestran un efecto inductor de la OTA sobre la caspasa y la proteína quinasa que induce a la alteración de la síntesis de ADN con sus consiguientes lesiones.

- *Secuestro de calcio microsomal:* Este mecanismo constituye una reacción temprana y ligada al fenómeno de peroxidación lipídica. Diversos estudios tanto *in vitro* como *in vivo* demuestran que la OTA produce una inhibición en el bombeo y captación del calcio a través del retículo endoplasmático del hepatocito. Experimentalmente, se ha demostrado que los niveles de calcio descienden entre

un 43,5% (al tratar ratas con 10 mg/kg p.c) y un 80% (al tratar con 10 M de OTA en un cultivo de microsomas hepáticos de rata).

Ocratoxina A en café

La presencia de Ocratoxina A en café ha suscitado un especial interés, desde su primer estudio en muestras de café verde en grano y sobre todo en la detección de la toxina en muestras de café tostado y en infusiones de café. Se han realizado numerosos estudios que demuestran que el procedimiento de tostado influye sobre la destrucción de OTA, a pesar de que los resultados son bastante contradictorios, ya que algunos autores opinan que no se detectan diferencias significativas, inferiores al 12% en lo relativo a la reducción de OTA por la operación del tostado, mientras que otros autores afirman que se reduce la producción de OTA en torno a un 80%, o incluso valores superiores.

Según Blanc y cols.109, la variación de los niveles de Ocratoxina A se reduce entre un 84-87%, tras realizar maniobras operacionales en los granos de café verde, principalmente tostado, molienda y trituración para obtener café en polvo.

Diversos trabajos demuestran una reducción en el contenido de OTA de la infusión de café con respecto al café tostado de partida. En este caso el modo de preparación de la infusión parece tener un papel determinante en la producción de OTA, siendo el sistema “expreso” el más eficaz, seguido de la cafetera italiana a rosca, y éste a su vez más que el de cafetera de filtro, pero la eliminación nunca es completa y en ningún caso superior al 50%.

La concentración media de OTA del café (tabla 5), es variable en función de las operaciones agrotecnológicas realizadas sobre el grano de café. Los valores de concentración de OTA obtenidos por diferentes autores en café, muestran que existen muestras, que superan el límite máximo establecido según legislación vigente (5 µg/kg para café tostado en grano y molido; 10 µg/kg para café soluble e instantáneo), a pesar que los valores medios de concentración de OTA de las muestras de café no superan los valores propuestos.

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.

Tabla 5. Concentración de OTA en café

Tipos de café	Media (µg/kg)
Granos de café verde	-
Café tostado molido y en grano	5.0
Café tostado y molido	5.0
Café tostado	7.0
Café descafeinado	-
Café soluble	10.0

8. Procedimientos y descripción de las actividades realizadas.

Se recibieron 73 muestras provenientes del banco de germoplasma del CERI, colectadas en Tuxtla Chico ubicado en la llanura costera, de las cuales se registran las siguientes variedades tabla 6, las muestras fueron almacenadas en bolsas de papel durante 10 días en condiciones adecuadas de almacenamiento y transportadas al Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), donde fueron recibidas para registrar las variedades y comenzar con los análisis correspondientes.

Tabla 6. Registro de variedades provenientes del banco de germoplasma del CERI.

variedad
COCRG
INIFAP 2000-1200
SELECCIÓN MAR-BOUR
INIFAP 2000-860
INIFAP 2000-1275
GUADALUPE
COLUMNARIS
TH-217-1-22
GARNICA IQUIMITE
COLOMBIA BROTE CAFÉ
INIFAP 2000-68
88 ORO AZTECA IV
COLOMBIA BROTE VERDE
CATIMOR 9026-35 TIMOR
GUATUSCO 3
BGC 9027
ORO AZTECA
KANA
GARNICA F5
BGC-9033
BOURBON 91
MUNDO NOVO
SELECCIÓN ROSARIO A Y D
INIFAP 1018

CATUAP AMARILLO
BOURBON 91
BGC 9033
BGC 9027
VITRO PLANTA ARABE
BGC 9035
COLOMBIA BROTE CAFÉ
COLOMBIA BROTE VERDE
GARNICA F5
MOKKA
PACAMARA
INIFAP 2000-1128
VARIEGATA 41; INIFAP 2000-692
CATIMOR 9026-35 TIMOR
DILA ALCHE SARCHIMOR
PACHE
SL9
S12 KAFFA GARNICA
CLOCCIE 5.6
KANA
MUNDO NOVO 346
MUNDO NOVO
COLUMNARIS 39
SELECCIÓN ROSARIO A Y D
TIPICA XANTHOCARPA
BLUE MOUNTAIN
GUADALUPE
S197
COCRG F/C
SELECCIÓN MAR-BOUR
BOURBON 227
BATIE
PLUMA HIDALGO 48
BOURBON 802
INIFAP 2000-T324
INIFAP 2000-1306
INIFAP 2000-860

INIFAP 2000-1150
INIFAP 2000-1275
INIFAP 2000-1200
TH219-1-71
INIFAP 200-68 AGARO
TH-217-1-22
BGC 9026
88 ORO AZTECA 4
PLUMA HIDALGO 178
INIFAP 2000-1019
ORO AZTECA
INIFAP 2000-164

8.1 Procesamiento de las muestras.

Las muestras se almacenaron en bolsas de papel durante 5 días en el laboratorio de Fisiología y Patología Vegetal, del CECECH, se determinó % de granos dañados de acuerdo al manejo general en la recepción y almacenamiento de granos de covenin 1935-87. De las muestras recibidas, se analizaron la presencia de hongos microbiológicos, extracción y cuantificación de Ocratoxina A.

8.2 Análisis microbiológico de las muestras de café.

Se realizó el aislamiento de los granos en el laboratorio de Fisiología y Patología Vegetal del CECECH, utilizando los materiales adecuados para el procesamiento de las muestras. La cámara de transferencia se desinfectó con benzal antes y después de la inoculación de los granos para evitar contaminaciones.

El procedimiento para el aislamiento de los granos es la siguiente:

1. Las muestras de café fueron desinfectadas con hipoclorito de sodio al 3% por 3 min.
2. Se enjuagó con H₂O destilada estéril
3. Se colocaron en cajas petri con medio papa agar dextrosa (PDA) para su crecimiento previamente esterilizadas, cinco granos.

4. Se sellaron las cajas con clic pack para evitar contaminación.
5. El periodo de incubación fue a temperatura ambiente, durante 2 a 4 días.
6. Se observó el desarrollo y crecimiento del hongo cada 24 horas.
7. Se describieron características macro y microscópicas (forma, tamaño, y tipo de colonia) e identificación de los hongos presentes en los granos utilizando la clave de Barnett&Hunter.
8. Se aislaron y conservaron las cepas de los hongos encontrados en los granos.

8.3 Análisis de extracción de Ocratoxina A, utilizando el método de ELISA.

Para la extracción de Ocratoxina A, se realizó lo siguiente:

1. Se emplearon 5 gr de la muestra molida.
2. Se extrajeron con 12.5 ml de metanol al 70%.
3. Se agitaron manualmente por tres minutos; posteriormente se filtró la muestra y se depositó 1 µl de la muestra filtrada en tubos de eppendorf para conservarlos hasta el momento de la cuantificación de Ocratoxina A.

La cuantificación de Ocratoxina A se realizó siguiendo la metodología proporcionada por el kit de ELISA para inmunoensayo enzimático RIDASCREEN FAST Ochratoxin A, las lecturas de la absorbancia se hicieron en el analizador automatizado Biotek EL301.

8.4 Cuantificación de Ocratoxina A por el método de inmunoensayo enzimático RIDASCREEN FAST Ochratoxin A.

Las muestras deben ser almacenadas en un lugar fresco, protegidas de la luz. Una muestra representativa (de acuerdo a la técnica de muestreo aceptada) debe de estar en buenas condiciones de almacenamiento.

1. Se colocaron suficientes micropozos en el marco porta micropozos para los estándares y para las muestras a analizar. Se marco la posición de los estándares y de las muestras.
2. Se agregaron 50 μ l de las soluciones estándares (0 ppt, 50 ppt, 100 ppt, 300 ppt, 900 ppt, 1800 ppt) y de las muestras a analizar a los micropozos correspondientes. Se utilizaron nuevas puntas de pipeta para cada muestra y para cada estándar.
3. Se agregaron 50 μ l del conjugado Ocratoxina A-enzima (tapón rojo) a los micropozos correspondientes.
4. Se agregaron 50 μ l de anticuerpo anti-ocratoxina A (tapón negro) a cada micropozo. Se mezcló el contenido de la microplaca suavemente y se incubó durante 10 min a temperatura ambiente (20-25 °C).
5. Se vaciaron los micropozos y se golpearon energéticamente (3 veces consecutivamente) el marco portamicropozos sobre un papel absorbente limpio para asegurar la eliminación completo de restos líquidos. Se lavaron los micropozos (250 μ l de micropozo) con agua destilada utilizando una pipeta multicanal o una botella de lavado y se vaciaron nuevamente los micropozos de la forma ya indicada. Se repitió este paso dos veces más.
6. Se agregaron 2 gotas o 100 μ l de substrato/cromógeno (gotero blanco) a cada micropozo. Se mezcló el contenido de la microplaca suavemente y se incubaron durante 5 minutos (+/- 0,5) en la obscuridad a temperatura ambiente (20 – 25 °C).
7. Se agregaron dos gotas o 100 μ l de la solución stop (gotero amarillo o anaranjado) a cada micropozo. Se mezcló el contenido de la microplaca suavemente y se midió la absorbancia a 450 nm con el lector Biotek EL301 en el transcurso de los siguientes 10 min. El calibrado del valor cero se realiza contra aire.

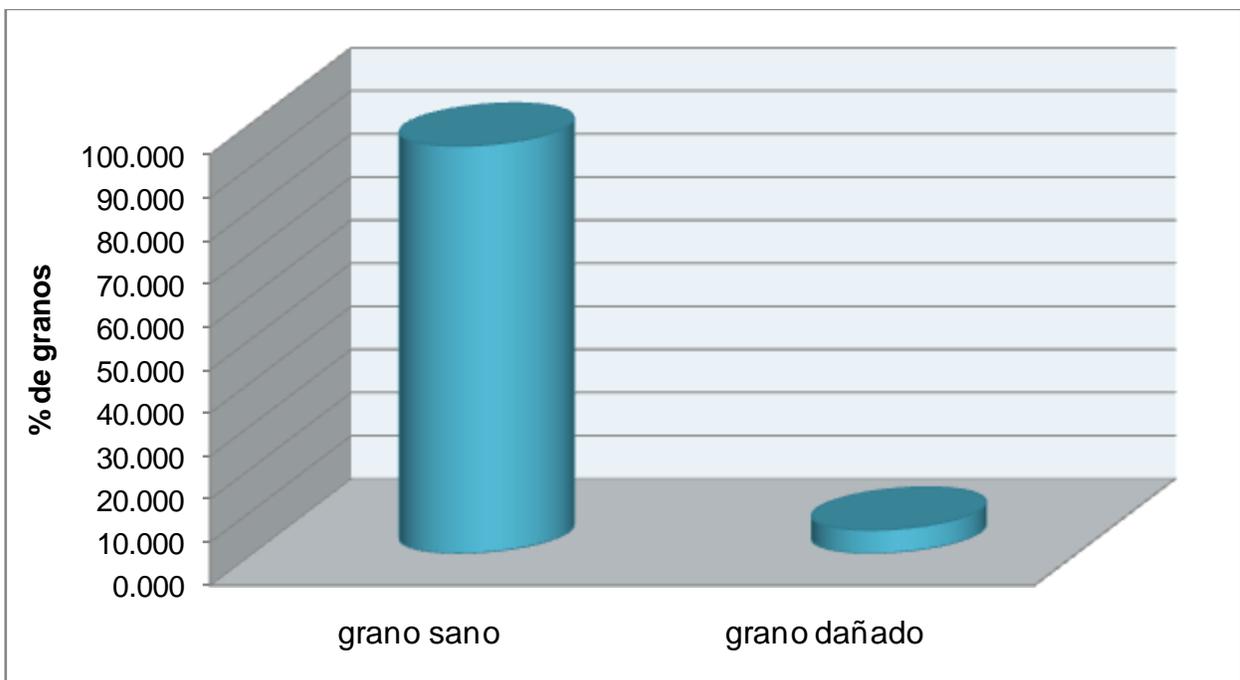
9. Resultados

En la tabla 7 se presenta los datos generales de las muestras recibidas. Se recibieron en total 73 muestras, las cuales presentaron diferencias en el porcentaje de grano sano, el cual varió de 0 a 95% en el caso de café en cereza. La grafica 1 nos muestra a mayor detalle el % de granos sanos y dañados.

Tabla 7. Porcentaje de granos sanos y granos dañados.

Tipo de grano	No. De muestra	% grano sano	% grano dañado
Cereza	73	94.55	5.45

Gráfica 1. Porcentaje de granos sanos y granos dañados.



9.1 Análisis microbiológico del café

Durante el aislamiento de los hongos se observaron 9 hongos como más frecuentes en las muestras recibidas, de los cuales se aislaron 7 hongos para su conservación (tabla 8), con porcentajes promedios de infección de 0.01 con el hongo 7 a 2.99 % con el hongo 10 (tabla 9). Esto se observa mejor en la grafica 2.

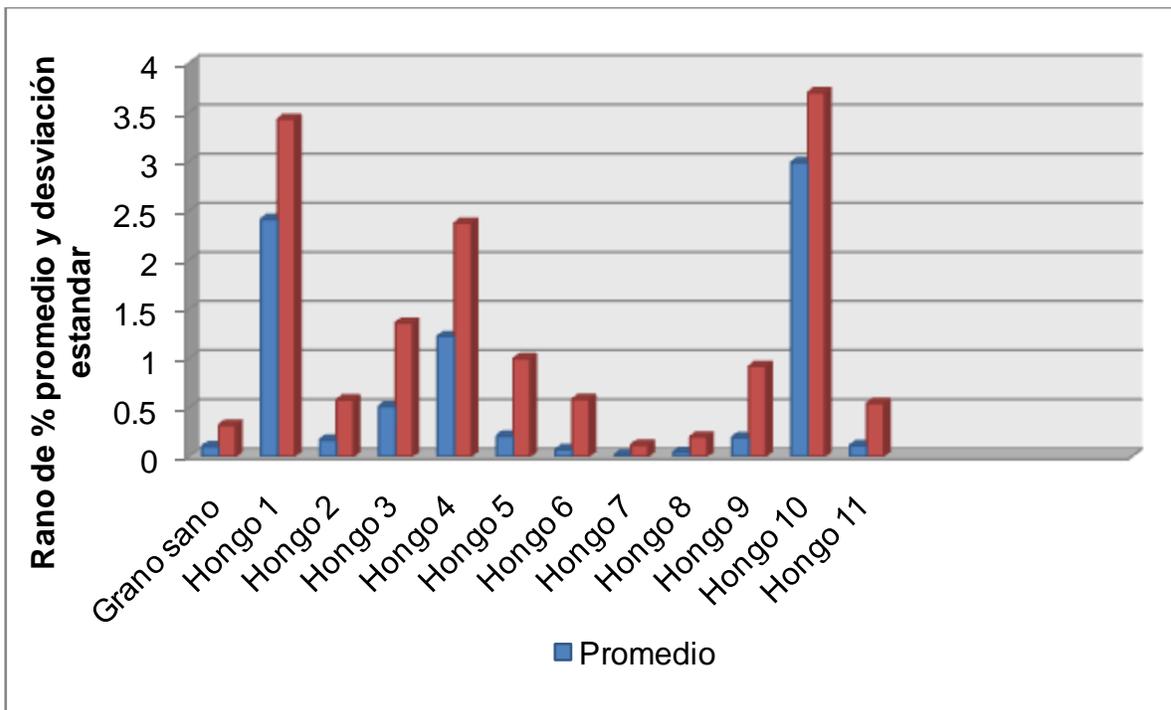
Tabla 8. Descripción de colonias de hongos encontrados en los granos de café en las muestras analizadas.

No. de colonias	Descripción del hongo	Hongo
1	Micelio aéreo veloso de tonalidad blanco. (Henry et al, 2005)	<i>Cladosporium spp</i>
2	Micelio en tonos de negro; conidióforos usualmente lisos e incoloros o bien pigmentados debajo de la vesícula. (Blochwitz, 1988)	<i>Aspergillus niger</i>
3	Micelio algodonoso ligeramente fasciculado de color verde azulado gris. (McCulloch y Thom. 1928)	<i>Penicillium spp</i>
4	Micelio aéreo denso algodonoso, al principio blanco, después gris oscuro de crecimiento rápido. (Revista Iberoamericana de Micología, 2002)	<i>Rhizopus spp</i>
5	Micelio aéreo abundante, algodonoso, de color blanquecino y salmón; pigmentación variable, con predominio del color salmón por el anverso de la placa. (López, 2003)	<i>Fusarium spp</i>
6	Bordes eucatoriales bajos y redondeados, surco amplio y no profundo: colonias con una fuerte pigmentación de color rojo o anaranjado. (Thom y Church, 1988)	<i>Aspergillus ruber.</i>
7	Esporas de color amarillo, torna de color ocre a pardo; conidióforos rugosos y a menudo pigmentados. (E. Moreno M., 1988)	<i>Aspergillus ochraceus</i>
8	Micelio de color canela, algunas veces de color beige o café. (Thom, 1988)	<i>Aspergillus spp</i>
9	Presento una coloración gris-beige, con bordes en tonalidad negra. (E. Márquez et al, 2011)	<i>Aspergillus versicolor</i>

Tabla 9. Porcentaje promedio y desviación estándar de grano sano y granos contaminados por hongos.

Variable	Promedio	Desv. Est.
Grano sano	0.1	0.32
Hongo 1	2.41	3.43
Hongo 2	0.17	0.57
Hongo 3	0.51	1.36
Hongo 4	1.22	2.37
Hongo 5	0.21	0.99
Hongo 6	0.07	0.58
Hongo 7	0.01	0.12
Hongo 8	0.04	0.20
Hongo 9	0.19	0.92
Hongo 10	2.99	3.70
Hongo 11	0.11	0.54

Grafica 2. Porcentaje promedio y desviación estándar de grano sano y granos contaminados por hongos.



9.2 Evaluación de Ocratoxina A presente en los granos de café.

En la tabla 10 se presentan los niveles partes por trillón (ppt) de ocratoxina A determinados en las muestras.

Tabla 10. Niveles de ocratoxina A, determinado en granos de café.

variedad	OTA ppt
COCRG	1304.66
INIFAP 2000-1200	890.04
SELECCIÓN MAR-BOUR	865.72
INIFAP 2000-860	1092.155
INIFAP 2000-1275	1079.64
GUADALUPE	981.36
COLUMNARIS	1078.685
TH-217-1-22	1062.83
GARNICA IQUIMITE	846.55
COLOMBIA BROTE CAFÉ	946.66
INIFAP 2000-68	992.755
88 ORO AZTECA IV	756.515
COLOMBIA BROTE VERDE	837.34
CATIMOR 9026-35 TIMOR	1127.025
GUATUSCO 3	ND
BGC 9027	1437.765
ORO AZTECA	1033.17
KANA	767.845
GARNICA F5	965.455
BGC-9033	1736.875
BOURBON 91	579.88
MUNDO NOVO	729.92
SELECCIÓN ROSARIO A Y D	396.69
INIFAP 1018	329.59
CATUAP AMARILLO	17.29
BOURBON 91	251.12
BGC 9033	595.45
BGC 9027	500.85
VITRO PLANTA ARABE	268.89
BGC 9035	351.1

COLOMBIA BROTE CAFÉ	371.01
COLOMBIA BROTE VERDE	450.01
GARNICA F5	205.61
MOKKA	699.68
PACAMARA	498.86
INIFAP 2000-1128	853.61
VARIEGATA 41; INIFAP 2000-692	508.9
CATIMOR 9026-35 TIMOR	527.54
DILA ALCHE SARCHIMOR	260.38
PACHE	143.21
SL9	273.25
S12 KAFFA GARNICA	369.56
CLOCCIE 5.6	281.03
KANA	515.03
MUNDO NOVO 346	264.6
MUNDO NOVO	496.88
COLUMNARIS 39	352.49
SELECCIÓN ROSARIO A Y D	121.44
TÍPICA XANTHOCARPA	146.36
BLUE MOUNTAIN	269.97
GUADALUPE	206.42
S197	477.53
COCRG F/C	304.43
SELECCIÓN MAR-BOUR	437.74
BOURBON 227	238.33
BATIE	444.71
PLUMA HIDALGO 48	302.02
BOURBON 802	113.19
INIFAP 2000-T324	226.23
INIFAP 2000-1306	190.05
INIFAP 2000-860	206.42
INIFAP 2000-1150	412.62
INIFAP 2000-1275	297.23
INIFAP 2000-1200	398.94
TH219-1-71	665.76
INIFAP 200-68 AGARO	715.15
TH-217-1-22	611.03

BGC 9026	627.04
88 ORO AZTECA 4	557
PLUMA HIDALGO 178	516.94
INIFAP 2000-1019	542.87
ORO AZTECA	476.91
INIFAP 2000-164	362.49

ND. No Determinado

En la tabla 11 se presenta la agrupación de muestras de café según niveles de ocratoxina A observada en las mismas. Se puede ver que la mayoría de las muestras presentan valores por debajo de 1,000 ppt; nueve muestras presentan valores entre 1,000 a 2,000 ppt; ninguna muestra presento valores entre 2,000 a 5000 ppt; ni por arriba de 5,000 ppt, lo cual indica que no hubo presencia de ocratoxina A, sin embargo hay que continuar monitoreando los granos de café.

Tabla 11. Rangos de Ocratoxina A, determinado en grano de café.

Rangos de OTA (ppt)	No. de muestras
<1,000	63
1,000 a 2,000	9
2,000 a 3,000	0
3,000 a 4,000	0
4,000 a 5,000	0
>5,000	0

9.3 Evaluación de la infección por hongos microbiológicos y su capacidad de producción de Ocratoxina A (OTA), en granos de café.

Se recibieron 73 muestras de grano de café del Banco de Germoplasma del CERI, observándose (tabla 12), un bajo porcentaje de grano sano y la presencia de 9 hongos diferentes. En este caso se tuvo una mayor variabilidad de hongos cuya infección varió de 0.01% con el hongo 7 a 2.99% con el hongo 10.

Tabla 12. Porcentaje promedio y desviación estándar de grano sano, granos contaminados con hongos en muestras del Banco de germoplasma del CERI.

Variable	Promedio	Desv. Est.
Grano sano	0.1	0.32
Hongo 1	2.41	3.43
Hongo 2	0.17	0.57
Hongo 3	0.51	1.36
Hongo 4	1.22	2.37
Hongo 5	0.21	0.99
Hongo 6	0.07	0.58
Hongo 7	0.01	0.12
Hongo 8	0.04	0.20
Hongo 9	0.19	0.92
Hongo 10	2.99	3.70
Hongo 11	0.11	0.54

10. Discusión de resultados

El procesamiento de las muestras analizadas tuvo una alta influencia durante el desarrollo de los resultados, tomando en cuenta que durante la recepción de las muestras el porcentaje de grano sano en café cereza tuvo una variación de 0 al 95 % al obtener este valor podemos ver que hay un índice alto de grano sano, lo que indica que es viable aplicar las buenas prácticas agrícolas que garantizan a los productores del café un procesamiento adecuado durante la cosecha y almacenamiento del grano.

El aislamiento de los hongos tuvo un porcentaje de infección de 0.01 hasta 2.99 %, observándose once hongos como más frecuentes.

Por otro lado los hongos del género *Penicillium*, *Aspergillus* y *Fusarium* contaminantes en los granos de café, han sido detectados durante el procesamiento de las muestras y su desarrollo se vio influenciado por diferentes factores, como humedad, condiciones ambientales, composición de café, entre otras. La proliferación del género *Penicillium* y *Aspergillus* no se vieron ampliamente desarrolladas debido a que no se crecen en condiciones de humedad excesiva, ya que su desarrollo se da mejor en el almacenamiento que durante la cosecha del grano. No obstante la identificación de los hongos se realizó mediante claves de Barnett & Hunter donde se hicieron montajes colocando azul de algodón, para poder ser observadas en el microscopio.

Un parámetro que favorece la contaminación por micotoxinas es la actividad de agua (a_w), que se define como la relación que existe entre la presión de vapor de un alimento dado en relación con la presión de vapor del agua pura a la misma temperatura. Para la producción de Ocratoxinas, la a_w óptima es de 0,87-0,90, dependiendo de la temperatura, según Tozlovanu y Leskiewicz (1928-1942) si hay una humedad excesiva ($a_w \geq 0,95$), prosperan hongos hidrofílicos de rápido crecimiento, así como las levaduras, que compiten por el sustrato y reprimen el crecimiento de los hongos productores de Ocratoxina A.

Durante la cuantificación de Ocratoxina A, se observó que 63 muestras estuvieron en un rango menores a 1000 ppt y nueve muestras presentaron valores entre 1000 a 2000 ppt, lo que indica que no hubo contaminación de patógenos durante la cosecha y almacenamiento, considerando que las micotoxinas son un grupo muy amplio de metabolitos secundarios, que se caracterizan por presentar una elevada toxicidad en los alimentos con un efecto carcinogénico, teratogénico y mutagénico. La cuantificación de OTA presente en los 73 granos de café se verificaron y se encontraron en los rangos menores que permite la Norma Europea que es de 5000 ppt para su exportación y consumo.

11. Conclusiones y recomendaciones

Con base a los resultados obtenidos del análisis de los granos de café provenientes del banco de germoplasma del CERI colectadas en Tuxtla Chico ubicado en la llanura costera, podemos concluir que de las 73 muestras recibidas la mayoría de los granos tuvieron un porcentaje alto de granos sanos, esto implica que el almacenaje y transporte fueron los adecuados siguiendo las buenas prácticas agrícolas.

De las 73 muestras analizadas, se reduce la presencia de hongos productores de micotoxinas, no presentaron concentraciones de OTA superiores al límite máximo permitido para café normado por la Unión Europea, que es de 5 µg/kg (5000 ppt). Con esta investigación se demuestra el excelente manejo pos-cosecha, almacenamiento y exportación del café, de los agricultores de estado de Chiapas, lo cual asegura la disminución de los riesgos de contaminación por micotoxinas.

Se espera en el futuro realizar análisis de micotoxinas en el café tostado y molido de venta en el mercado nacional, para confirmar si el proceso de tostado disminuye o elimina la presencia de micotoxinas en el café, también se espera que la cuantificación de Ocratoxina A se realice en aislamientos de hongos procedentes de los granos para identificar si las micotoxinas son provenientes del grano o del micelio del hongo..

11.1 Recomendaciones

Es importante tratar de prever la incidencia de hongos y reducción de micotoxinas mediante las siguientes practicas:

a) Mantener la fuerza de los cafetos mediante la aplicación con regularidad de buenas prácticas agrícolas (BPA) en el momento apropiado, tales como eliminar la maleza, mejorar la textura del suelo, podarlos, aplicar fertilizantes, combatir las plagas y enfermedades, e irrigación.

b) No se use riego por aspersión durante el periodo de floración. Esto podría aumentar las tasas de dispersión normal de esporas e incrementar las posibilidades de infección de los granos con productores de OTA.

c) Usar trampas (como las trampas de alcohol) para combatir el *Hypothenemus hampei* antes de la cosecha, y promover el uso del programa de manejo integrado de plagas (MIP).

12. Referencias bibliográficas y visuales

- Statistic Canada #32-229-XPB.** Food Consumption in Canada, Part 1. Minister of Industry, Ottawa, junio 1999 y Agricultural Outlook, junio-julio 1999/ago-262, Economic Research Service, US Department of Commerce, USA.
- Museo Nacional de Culturas Populares.** La vida es un sorbo. México, mayo 1996 a febrero 1997.
- Chiapas, 2007-2012.** Programa Institucional de la Comisión para el Desarrollo y Fomento del Café de Chiapas 2007-2012
- Franz Augstburger, 2000.** Agricultura Orgánica en el trópico y subtrópico. Producción Orgánica de Café, Parte 2. Alemania. Editorial kleinhaderner.
- Alvarado, M., & Gilberto, R. (2007).** *Cultivo y beneficiado del Café.* San Jose, Costa Rica.: Editorial Universidad Estatal a Distancia
- Wrigley G. 1988.** Café. Londres, Longman.
- Clifford M.N. y Willson K.C. 1985.** (Editores) - café; la botánica, la bioquímica y la producción de frijoles y bebidas. Londres, Croom Helm.
- SAGARPA. 2010.** Servicio de información agroalimentaria y pesca. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. México. (Programa informático)
- Pérez, J.R. y S. Díaz. 2000.** El café, bebida que conquistó al mundo. Universidad Autónoma Chapingo. México. 151 pp.
- ICO. 2009.** Reporte anual sobre la producción de café en México. International Coffee Organization. Inglaterra. 1 pp.
- AMECAFE. 2010.** Padrón nacional cafetalero. Asociación Mexicana de la Cadena Productiva del Café, A.C. México. (Cartografía digital).
- José Daniel Cortijo, 2014.** Café valiente, Mundo café. Revista Hostel vending. Revista Operador vending. Pp. 9-11
- Aristizabal, A., Duque, O. 2006.** Determinación de economías de escala en el proceso de beneficiado del café en Colombia. Cenicafé. 57 (1): 17-30.
- OMS, 2002.** Estrategia Mundial de la OMS para la inocuidad de los Alimentos: alimentos más seguros para una mejor salud. Programa 2002 de Inocuidad de los Alimentos. Organización Mundial de la Salud (OMS), Ginebra, Suiza.

- Mally, A., Zepnik, H., Wanek, P., Eder, E., Dingley, K., Ihmels, H., Volkel, W., Dekent, W. 2004.** Ochratoxin A: lack of formation of covalente DNA adducts. *Chemical Research Toxicology* 17 (2): 234-42
- Delgado L., 2011.** Monitoreo de Micotoxinas en alimentos, Ministerio de Salud. Chile. Pp. 4-5
- Pacin A., 1990.** Micotoxicosis por Ocratoxina A. *Toxicología*. Pp. 1-2
- Reglamento Sanitario de los Alimentos,** Decreto Supremo N°977/96. Ministerio de Salud, Chile.
- Codex standar 193-1995,** Codex General Standard For Contaminants And Toxins
- Reglamento (CE) 188/2006 de la Comisión de 19 de diciembre de 2006,** por el que fija el contenido máximo de determinados contaminantes en los productos alimenticios.
- Krogh, P.,** *Ochratoxins in foods. Mycotoxins in Foods*, Ed. Krogh, P. Academic press, London, 1987.
- Coie, R. j. and Cox, R. H.,** *Handbook oftoxic fungal metabolites*, Ed. Academic Press Inc., 1981.
- Jeunek, C. F.; POHLAND,A. E. and Wooo, G. E.,** "Worldwide occurrence of mycotoxins in food and feeds, an update", *j. Assoc. Off. Ana/. Chem.*, 72, 223-230, 1989.
- Bullerman, lo B.,** "Effects of potassium sorbate on growth and Ochratoxin production by *Aspergillus ochraceus* and *Penicillium* species", *j. Food Protect.*, 48, 162-165, 1985.
- Howell, M. V.,** MMycotoxin monitoring in feed industryM, *Proceedings of a 4th. meeting of Mycotoxins in anima/ disease*, April 1981, Weybridge, Ed. pepin, G. A.; Patterson, D.S.P. and Gray, D. E.; Ministry of Agricultural, Fisheries and Food, 44-45, 1982.
- Page, R. K.; SnwART, G.; WYATT, R.; RUOi, P.; FIETa-IER, D. J. and BROWN, J.,** "Influence of low levels of Ochratoxin A on egg production, egg shell stains, and serum uric-acid levels in leghorn type hens", *Avian. Ois.*, 24, 777-780, 1980.
- Vanyi, A.; RATA, A. and IAsrnTY, R.,** -rhe effect of mycotoxins (T-2, Ochratoxin A) and sodium chloride deficiency on the egg production chickens", *MTA-mem KUTATAS/BESZAMOLUK*, 7, 17-19, 1980.

Pfohl-Leszkowicz, A., Manderville, R.A. 2007. Ochratoxin A: An overview on toxicity and carcinogenicity in animals and humans. *Mol Nut Food Res.* 5:61-99

INEGI, 2002. Anuario estadístico.

Avances técnicos, Cenicafé (2003). Prevenga la Ochratoxina A y mantenga la inocuidad y la calidad del café. Programa de investigación científica. Pág. 2

Romani, S., G. Sacchetti, C. I. Chavez, G. Guetano, M. Dalla, 2000. Screening on the occurrence of ochatoxin A. in Coffea beans of different origins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48:3616-3619

E. Escamilla P., O. Ruiz R., G. Díaz P., C. Landeros S., D.E. Platas R., A. Zamarripa C., V.A. González H. 2005. El agroecosistema café orgánico en México. *Manejo Integrado de Plagas y Agroecología.* Pág. 5-16

Quevedo JM. *Agronomía* 3 (8-9): 3-36, 1912.

Lillehoj EB. En: *Mycotoxins and Animal Foods.* Smith JE, Henderson RS, eds. CRC Press, Boca Ratón, 1991, cap. 1.

Kale S, Bennett JW. En: *Handbook of Applied Mycology*, vol. 5. Bhatnagar D.

Swanson BG. *Acta Horticultura* 207: 49-61, 1987

Amezqueta, S., Schorr-Galindo, S., Murillo-Arbizu, M., González-Peñas,E., López de Cerain, A., & Guiraud, J. P. (2012). OTA-producing fungi in foodstuffs: A review. *Food Control*, 26(2), 259-268.

Drinnan, J; Menzel, C. 1995. Temperature affects vegetative growth and flowering of coffee (*Coffea arabica* L.). *Journal of Horticultural Science* 70 (1):25-34.

Ueno Y. 1985. The toxicology of mycotoxins. *Critical reviews in toxicology*, 14: 99-132

Barnett HL, Hunter, B.B. *Illustrated genera of imperfect fungi.* New York, Burgess Publishing Company, Third Edition, 1987.

Tozlovanu M, Pfohl-Leszkowicz A. Ochratoxin A in roasted coffee from french supermarkets and transfer in coffee beverages: comparison of analysis methods. *Toxins* 2010; 2: 1928-1942.

- Resumen Historico y Caracteristicas del Cafe.** (13 de Junio de 2012). Recuperado el 8 de agosto de 2014, de Cafes de México: <http://www.cafesdemexico.com/index.php/es/el-cafe.html>
- Goycoloolea, E.** (27 de Junio de 2012). Inforural.com. Recuperado el 8 de Junio de 2014, de Red de consumidores de Cafe: <http://www.inforural.com.mx/spip.php?article98153>
- InfoAgro.com.** (s.f.). Recuperado el 8 de Junio de 2014, de Toda la agricultura en Internet: <http://www.infoagro.com/herbaceos/industriales/cafe.htm>
- Codex Alimentarius. (1995).** CODEX ALIMENTARIUS. Recuperado el 05 de agosto de 2014, de <http://www.codexalimentarius.org/normas-oficiales/lista-de-las-normas/es/>
- Café y sus características, 2012.** Café y sus características. Recuperado el 17 de agosto de 2014, de: <http://www.monografias.com/trabajos81/cafe-y-sus-caracteristicas/cafe-y-sus-caracteristicas2.shtml>
- Arias N, 2012.** *Clima y Suelo para el café* (6 de Octubre de 2012). Recuperado el 8 de Junio de 2014, de El cafe: <http://cafecooludec.blogspot.mx/2012/10/clima-y-suelo-para-el-cafe.html>
- ICO. 2010.** Botanical aspects of coffee. International Coffee Organization. Sitio web: http://www.ico.org/botanical.asp?section=About_Coffee. (12 de Agosto 2014).
- FAO. 2006.** Un café más sano. Departamento de Agricultura y Protección al consumidor. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. [WWW.fao.org/ag/esp/revista/0607sp1.htm](http://www.fao.org/ag/esp/revista/0607sp1.htm) (consultado 5 de agosto de 2014)
- Organización Panamericana de la Salud, 2006.** Productos metabólicos de microorganismos en los alimentos, intoxicación por micotoxinas toxinas de hongos. <http://publicaciones.ops.org.ar/publicaciones/publicaciones%20virtuales/libroetas/modulo5/modulo5h.html> (consultado 12 de Diciembre de 2014)

13. Anexos

Figura 12. Muestras del Banco de Germoplasma del CERI



Figura 13. Pesos de los granos de café.



Figura 14. Molienda de los granos



Figura 15. Muestras molidas de café para extracción de Ocratoxina A.



Figura 16. Muestras con metanol al 70%, se agregaron 12.5 ml de metanol y se agito manualmente durante 3 min



Figura 17. Filtración de las muestras con papel Whatman no. 1 para cuantificación de OTA.



Figura 18. Colocación de las muestras en los micropozos para cuantificación de Ocratoxina A.



Figura 19. Reactivos del kit para la cuantificación de Ocratoxina A.



Figura 20. Se colocaron los diferentes reactivos del kit RIDASCREEN FAST Ochratoxin A en los micropozos, con una pipeta multicanal.



Figura 21. Lectura de la absorbancia (450 nm), se usó un espectrofotómetro de micropozos marca BIOTEK modelo EL301.

