

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR  
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA



DETERMINACION DE OCRATOXINA A (OTA) EN CAFE TOSTADO Y  
MOLIDO POR EL METODO DE ENSAYO INMUNOABSORBENTE LIGADO A  
ENZIMAS (ELISA) EN BENEFICIOS EXPORTADORES DE CAFE DE EL  
SALVADOR

TRABAJO DE GRADUACION PRESENTADO POR

BORIS JOSUE VILLALTA TRIGUEROS  
CARLOS FABRICIO MENDOZA ASCENCIO

PARA OPTAR AL GRADO DE

LICENCIADO EN QUIMICA Y FARMACIA

ABRIL 2019

SAN SALVADOR, EL SALVADOR, CENTRO AMERICA.

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR**

**RECTOR**

MAESTRO ROGER ARMANDO ARIAS ALVARADO

**SECRETARIO GENERAL**

MAESTRO CRISTOBAL HERNAN RIOS BENITEZ

**FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA**

**DECANO**

LIC. SALVADOR CASTILLO AREVALO

**SECRETARIO**

MAE. ROBERTO EDUARDO GARCIA ERAZO

**DIRECCION DE PROCESOS DE GRADUACION**

**DIRECTORA GENERAL**

MSc. Cecilia Haydeé Gallardo de Velásquez.

**TRIBUNAL CALIFICADOR**

**ASESORA DE AREA EN: APROVECHAMIENTO DE RECURSOS  
NATURALES**

MSQs. Sonia Maricela Lemus

**ASESORA DE AREA EN: INDUSTRIA DE ALIMENTOS Y TOXICOLOGIA.**

MAE. Nancy Zuleyma González Sosa

**DOCENTE ASESOR**

Lic. Juan Agustín Cuadra Soto

## **AGRADECIMIENTOS**

Expresamos nuestros más sinceros agradecimientos a nuestros docentes del tribunal evaluador: MSc. Cecilia Haydee Gallardo de Velásquez, MAE. Nancy Zuleyma González Sosa y MSc. Sonia Maricela Lemus, quienes han guiado el presente trabajo de investigación, que gracias a sus consejos y correcciones hoy logramos culminar este trabajo.

Este trabajo de investigación fue realizado bajo la supervisión del Lic. Juan Agustín Cuadra, a quien expresamos nuestro más profundo agradecimiento, por su asesoría, paciencia, tiempo y dedicación en cada momento de la realización de este estudio.

Agradecemos a NCB CLUSA, por todo el apoyo brindado durante esta investigación, al facilitarnos el contacto con los beneficios participantes, el apoyo económico e intelectual de sus trabajadores.

Agradecemos al Consejo Salvadoreño de Café por el apoyo que nos brindaron, por el uso de sus instalaciones, así también al facilitarnos el contacto con los beneficios participantes.

Agradecemos a Agrobiotek por las capacitaciones brindadas sobre el análisis ELISA realizado en esta investigación.

Boris Villalta y Fabricio Mendoza.

## DEDICATORIA

Dedico este logro a Dios, gracias señor por ayudarme a terminar este reto que parecía inalcanzable, pero tú lo hiciste posible con tu poderosa mano. Tú pusiste los medios y los recursos para poder sostenerme, me guiaste a través del camino y pusiste en mi sabiduría y ciencia. Sin ti Dios nada de esto hubiera sido posible. Mi triunfo es para Gloria tuya Señor.

Le dedico este logro a María de Mendoza y Juan Carlos Mendoza. Mamá gracias por todo lo que has hecho, por tu ejemplo y por levantar mi ánimo cada vez que ya no podía, gracias por darme lo mejor del mundo, tu amor. Papá gracias por no rendirte nunca, gracias por tus consejos y tu fuerza interminable, eres admirable papá. Este triunfo es por ustedes.

Dedico este logro a Melissa de Mendoza y Santiago Mendoza. Amor gracias por tu apoyo incondicional, por animarme siempre y recordarme que tenía que esforzarme, gracias por estar a mi lado cuando ya no podía y orar junto a mí para poder obtener este triunfo, es nuestro triunfo amor, te amo Mely. Hijo gracias por inspirarme confianza con tu sonrisa, por tu mirada diciéndome ánimos que juntos podemos, gracias Santy.

Carlos Fabricio Mendoza.

## **DEDICATORIA**

En primer lugar agradezco a Dios, porque en toda mi vida siempre me ha bendecido, por darme sabiduría y todos los recursos para poder culminar esta meta con la que siempre había soñado lograr. A Él le debo todo.

Le dedico este triunfo a mi madre Yanira Estela Trigueros, me has apoyado en cada momento de mi vida, me has brindado todo, tu esfuerzo es una inspiración para mí y esa fue mi motivación en cada año para poder salir adelante. Este triunfo también es tuyo mamá, Te amo.

A mi hermano mayor Vincent Villalta por tu apoyo económico y emocional, eres un ejemplo a seguir para mí; y a mi hermano menor Manuel Villalta por tus consejos. Gracias, hermanos.

A mi prometida Alexandra Elizabeth Torres, por estar conmigo en estos años, por tu amor, por escucharme y siempre ayudarme a tomar la mejor decisión, me ayudas a ser un mejor hombre y este logro es también para ti mi amor. Te amo.

Boris Josué Villalta Trigueros.



3.2.4. Beneficiado seco	34
3.2.4.1. Limpieza	35
3.2.4.2. Secado	35
3.2.4.3. Descascarillado	36
3.2.5. Almacenamiento	36
3.2.6. Tostado del café	37
3.2.7. Molienda del café tostado	38
3.3. Café en El Salvador	39
3.3.1. Distribución del cultivo del cultivo del café en El Salvador	39
3.3.2. Beneficios con mayor exportación y producción de café en El Salvador	39
3.3.3. Variedades cultivadas en El Salvador	40
3.3.4. Estándares de calidad mínimos para el café en El Salvador	40
3.3.5. Exportación de café en El Salvador	41
3.4. Problemas en el cultivo del café	41
3.4.1. Plagas del café	41
3.4.2. Enfermedades del café	42
3.4.3. Hongos del café	42
3.4.4. Micotoxinas	42
3.5. Cambio climático, impacto sobre el cultivo del café	42
3.6. Ocratoxinas	44
3.6.1. Generalidades de las ocratoxinas	44
3.7. Ocratoxina A (OTA)	44
3.7.1. Definición	45
3.7.2. Propiedades físicas y químicas	45
3.7.3. Toxicocinética	46
3.7.4. Toxicodinamia	47

3.7.5. Efectos de la OTA en la salud	48
3.7.6. Factores determinantes para la incidencia de OTA en café	49
3.7.7. Reglamentación internacional sobre OTA	50
3.7.8. Métodos de detección de OTA	50
3.7.8.1. Ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA)	50

#### Capitulo IV

4.0 Diseño Metodológico	54
4.1. Tipo de estudio	54
4.2. Investigación bibliográfica	55
4.3. Investigación de campo	55
4.3.1. Universo	55
4.3.2. Muestra	55
4.4. Parte experimental	56
4.4.1. Muestreo	56
4.4.2. Tratamiento de la muestra	56
4.4.2.1. Despergaminado	56
4.4.2.2. Tostado y molido	57
4.4.3. Determinación de humedad por balanza analizadora de humedad	57
4.4.3.1. Fundamento	57
4.4.3.2. Procedimiento	57
4.4.4. Extracción de Ocratoxina A de la muestra, para su posterior análisis por el método ELISA	59
4.4.4.1. Procedimiento	59
4.4.5. Determinación de OTA	60
4.4.5.1. Fundamento	60

4.4.5.2. Procedimiento	61
4.5. Diseño estadístico	63
Capítulo V	
5.0. Resultados y discusión de resultados	65
5.1. Información obtenida de los beneficios mediante la aplicación de la encuesta	65
5.2. Selección de los dos beneficios con mayor probabilidad de contaminación con OTA	80
5.3. Recolección de las muestras de café en los beneficios seleccionados	80
5.4. Análisis de humedad en los granos de café tostado	81
5.4.1. Resultados de la determinación de humedad	81
5.4.2. Análisis estadístico de análisis de varianza de un factor (ANOVA)	84
5.5. Determinación de Ocratoxina A (OTA)	85
Capítulo VI	
6.0 Conclusiones	90
Capítulo VII	
7.0 Recomendaciones	92
Bibliografía	
Glosario	
Anexos	

## INDICE DE FIGURAS

FIGURA N°	Pág. N°
1. Partes que conforman el fruto de café	25
2. Estados de café	29
3. Proceso de beneficiado de café	30
4. Estructura química de la Ocratoxina A	44
5. Algunos hongos productores de Ocratoxinas	45
6. Tipo de beneficiado utilizado por los beneficios encuestados.	66
7. Control de la temperatura en la fermentación.	67
8. Material de construcción de las pilas de fermentación.	68
9. Duración del proceso de fermentación del café en los beneficios.	69
10. Frecuencia del lavado de las pilas de fermentación.	69
11. Frecuencia del lavado del café.	70
12. Fuente del agua utilizada en el beneficiado.	71
13. Tipo de secado que se le realiza al café lavado.	71
14. Medición de la humedad del café.	73
15. Acciones frente al café fermentado.	73
16. Acciones correctivas en el caso de recibir mucho grano brocado.	74
17. Control de la temperatura en la bodega.	74
18. Registros que evidencia el control de temperatura	75
19. Humedad de almacenamiento del café.	77
20. Registro de humedad durante el almacenamiento del café.	77
21. Tiempo en el que permanece almacenado el café pergamino en bodega.	77

22. Registros del tiempo de almacenamiento del café en bodega.	77
23. Realización de controles de temperatura durante el almacén del café.	78
24. Registros de controles de temperatura.	79
25. Controles de humedad relativa en la bodega.	79
26. Curva de calibración para OTA.	85

## INDICE DE TABLAS

TABLA N°	Pág N°
1. Resumen de los componentes químicos (%b.s.) principales en el grano de café verde y en el tostado para las variedades arábica y robusta.	27
2. Criterio de evaluación de la encuesta.	67
3. Resultados obtenidos de la encuesta aplicada.	81
4. Resultados de la determinación de humedad del Beneficio A por estrato.	82
5. Resultados de la determinación de humedad del Beneficio D por estrato	83
6. Resumen de los resultados obtenidos de la determinación de humedad de los granos de café del Beneficio A por estrato.	84
7. Resumen de los resultados obtenidos de la determinación de humedad de los granos de café del Beneficio D por estrato.	84
8. Datos obtenidos al aplicar ANOVA a los resultados de humedad.	85
9. Resultados de la determinación de Ocratoxina A en café tostado y molido del Beneficio A por estrato.	87
10. Resultados de la determinación de Ocratoxina A en café tostado y molido del Beneficio D por estrato.	88

## **INDICE DE ANEXOS**

### ANEXO N°

1. Beneficios exportadores de café.
2. Formato de la encuesta aplicada a los beneficios.
3. Preparación de reactivos, equipo y materiales
4. Proceso de extracción de OTA.
5. Procedimiento para la determinación de OTA.
6. Formato de la evaluación de la encuesta.
7. Resultados de las encuestas aplicadas a los beneficios.
8. Ejemplo de cálculo de promedio y desviación estándar de las muestras de humedad en Excel.
9. Normativa Salvadoreña Obligatoria (NSO) 67.31.02:04.
10. Reglamentación de la Comisión Europea (CE) sobre OTA en café tostado y molido.

## **ABREVIATURAS**

**ELISA:** ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (enzyme-linked immunosorbent assay).

**FAO** : Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (Food and Agriculture Organization).

**IARC** : Agencia Internacional de Investigación sobre el Cáncer (International Agency for Research on Cancer).

**OTA** : Ocratoxina A.

**UE** : Unión Europea.

**PBS** : Buffer fosfato.

## RESUMEN

La Ocratoxina A (OTA) es un metabolito secundario producido por los mohos del género *Aspergillus* y *Penicillium* los cuales se encuentran presente entre una gran variedad de alimentos como: cereales, uvas, café, cacao etc. Las condiciones más favorables para la producción de esta toxina son a un pH de 5.5 y en presencia de hierro, cobre y zinc. La OTA es nefrotóxica, inmunosupresora, genotóxica, carcinógena, teratogénica y neurotóxica. En esta investigación se realizó la determinación de ocratoxina A en café tostado y molido en dos de los mayores exportadores de café de El Salvador, por el método de ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas. Se aplicó una encuesta a 5 beneficios, con la que se recopiló información importante sobre los procesos realizados durante el beneficiado, enfocándose en factores que condicionan la probabilidad de la presencia de ocratoxina A, en el café como, la temperatura, contenido de agua, fuente de agua y almacenamiento. En base a los resultados obtenidos de la encuesta, se seleccionaron dos beneficios, los cuales presentaban mayor probabilidad de contaminación, se recolectaron muestras de café para su posterior análisis. Durante 4 meses se realizaron análisis de humedad y la determinación de Ocratoxina A en las muestras, los datos de humedad obtenidos cumplen con la Normativa Salvadoreña Obligatoria (NSO), la cual establece un límite máximo permitido de 3 %. Los datos obtenidos de la determinación de Ocratoxina A fueron menor al límite de detección del equipo, siendo este de 1 ppb, por lo cumplen con la normativa establecida por la Unión Europea (UE) que establece un límite máximo permitido de 5 ppb para el café tostado y molido. Los resultados obtenidos de humedad y ocratoxina A en las muestras indican que las condiciones de procesamiento de beneficiado, aunque son mejorables, no influyen en la calidad toxicológica del producto. Se recomienda implementar un sistema de Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control (APPCC o HACCP, por sus siglas en inglés) durante el proceso de beneficiado.

CAPITULO I  
INTRODUCCION

## 1.0. INTRODUCCION

En El Salvador, el café es una bebida energética altamente consumida por los habitantes del país, proporciona una fuente de empleo para los salvadoreños y además es uno de los productos que mayor demanda tiene el país para la exportación.

Las etapas que comprende el procesamiento del café, desde la producción hasta la transformación del grano en bebida, conllevan riesgos que determinan la calidad del producto final. Son diversos los factores, tanto externos como internos, que condicionan la calidad del café, como insectos, plagas, enfermedades y microorganismos, además existen ciertos géneros de mohos capaces de producir toxinas que contaminan el cultivo del café, como las aflatoxinas y ocratoxinas. De los tipos de Ocratoxinas que existen, la Ocratoxina A es la que representa un peligro para la salud de los seres vivos. Es producida por los mohos de los géneros *Aspergillus* y *Penicillium*. Esta toxina ha sido clasificada como posible carcinogénico para humanos (grupo 2B) según la Agencia Internacional de Investigación para el Cáncer (IARC) y se encuentra relacionada con la nefropatía endémica de los Balcanes (NEB); además de producir estos daños al organismo, es hepatotóxica y teratogénica. Existen reglamentos internacionales los cuales contienen los niveles permitidos para la presencia de esta en el café tostado y molido, la Unión Europea establece un máximo de 5µg/kg. Por ello, el café producido en El Salvador y que será exportado debe de cumplir con este límite.

En esta investigación se realizó la determinación de Ocratoxina A en café tostado y molido mediante un método ELISA, así como la determinación de humedad; las muestras fueron recolectadas en dos de los cinco beneficios con mayor exportación de café en El Salvador, los cuales se seleccionaron en base a una

encuesta que tenía el objetivo de conocer que beneficios tenían mayor probabilidad de contaminación con Ocratoxina A, los criterios para la selección de los beneficios fueron las condiciones en las cuales se realiza el procesamiento del café, humedad y temperatura, así también el tipo de beneficiado que se realiza.

Las muestras de café seleccionadas se trasladaron al Laboratorio de Análisis Bromatológico de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador, donde, se les determinó el porcentaje de humedad total, posteriormente se realizó una extracción de la toxina, y la determinación de Ocratoxina A mediante un método ELISA. La investigación comprende desde el mes de Enero de 2017 hasta el mes de Abril de 2019.

## CAPITULO II

### OBJETIVOS

## **2.0. OBJETIVOS**

### 2.1. Objetivo general

2.1.1. Determinar Ocratoxina A (OTA) en café tostado y molido por el método de ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) en beneficios exportadores de café de El Salvador.

### 2.2. Objetivos específicos

2.2.1. Recopilar información en los beneficios exportadores de café en El Salvador aplicando una encuesta

2.2.2. Seleccionar los beneficios productores de café con mayor probabilidad de contaminación por OTA.

2.2.3. Recolectar muestras representativas del café tostado y molido de los beneficios seleccionados.

2.2.4. Medir la humedad en las muestras de café recolectadas utilizando balanza de humedad.

2.2.5. Identificar OTA en las muestras de café recolectadas.

2.2.6. Cuantificar OTA en las muestras de café recolectadas por el método de ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA).

CAPITULO III  
MARCO TEORICO

### 3.0. MARCO TEORICO.

#### 3.1. El Café

##### 3.1.1. Definición y origen del café.

El café es definido como la semilla seca de la planta del café sin importar que haya sido tostada o molida. El árbol del que proviene el grano, llamado cafeto es originario de África. El consumo de café se extendió por Europa a mediados del siglo XVIII, así mismo durante este siglo se introdujo en América. <sup>(39)</sup>

##### 3.1.2. Botánica del café.

La planta de café es una dicotiledónea, perteneciente a la familia de las *Rubiaceae*, esta familia contiene alrededor de 500 géneros, siendo *Coffea* el miembro más importante, pueden alcanzar hasta 10 m de altura de forma silvestre y en los cultivos controlados hasta 3 m; esto facilitando su cosecha. La mayoría de estas especies crecen en los estratos bajos de los bosques tropicales. Las ramas son alrededor de 15 cm de longitud, de color verde oscuro. Produce sus primeras flores entre los 3 y 4 años de edad, son de color blanco cremoso y de aroma dulce; luego de que las flores se marchitan, los ovarios se convierten en drupas ovaladas, estos se convierten posteriormente en el grano de café. Una flor forma un grano de café, que es la razón por lo que la planta florea en diferentes etapas durante el año. <sup>(39)</sup>

##### 3.1.3. Especies del café.

Las dos especies más importantes desde el punto de vista comercial son: *Coffea arabica* Linn, conocida como *Arabica*, y *Coffea canephora* Pierre ex Froehner,

conocida como Robusta. La de mayor producción a nivel mundial es la especie *Coffea arábica* con un 80-90% aproximadamente. <sup>(39)</sup>

### **3.1.3.1. Diferencias entre las dos especies de mayor importancia comercial.**

El café robusta es mucho más resistente a las enfermedades que el arábica, se cultiva en altitudes relativamente bajas y tolera las altas temperaturas y lluvias muy intensas.

El grano de la arábica es verde y de forma oval, en cambio el de la robusta es más redondo y puede ser de color marrón en lugar de verde. La especie arábica en general produce buenas infusiones con acidez, más sabor y aroma. <sup>(11, 39)</sup>

### **3.1.4. Fruto.**

Muchas veces llamado cereza y definido como el fruto fresco que consta de una serie de capas que envuelven dos granos de café. Las capas externas se denominan como:

- Cáscara o pericarpio: envoltura externa del fruto del café
- Pulpa o exocarpio: carne o tejido de la fruta que se encuentra por debajo de la cáscara.
- Mucílago o mesocarpio: sustancia viscosa y pegajosa que se encuentra adherida al endocarpio
- Pergamino o endocarpio: tejido duro y compacto que recubre a la semilla o grano del café individualmente
- Cutícula: membrana delgada de color blanquecino que se encuentra adherida a la semilla o grano del café. También conocida como película plateada.

- Grano de café: semilla(s) contenida en la fruta del café.

El fruto del café tiene como base el color verde olivo, este puede variar de acuerdo a las condiciones del terreno, la cosecha y de las condiciones atmosféricas. La coloración del fruto varía de verde oscuro a morado desde que brota en la planta, se corta y se madura. El color del grano del café oro, es decir el que ya fue procesado, varía de acuerdo a la región y altura donde se produce

(39).

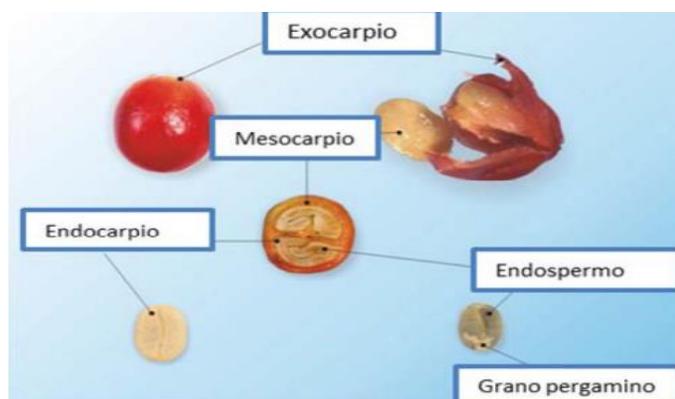


Figura N° 1. Partes que conforman el fruto de café. (39)

### 3.1.5. Composición química del café y aspectos nutricionales.

Un grano de café contiene normalmente un 34% de celulosa, un 30% de azúcares, un 11% de proteínas, de un 6 a un 13% de agua, y entre un 2 y un 15% de materia grasa. Otros componentes destacables son minerales, como el potasio, calcio, magnesio y fósforo, ácidos orgánicos (cafeilquínicos o clorogénicos) y alcaloides, como la cafeína (1-2.5%) y la trigonelina. (36)

Entre los principales componentes químicos del grano de café están las melanoidinas que son definidas como macromoléculas de color café que contienen nitrógeno, y representan hasta un 25% de materia seca. Diferentes

estudios sugieren que estas son las responsables de las fuertes propiedades antioxidantes, antibacterianas y quelantes mostradas por las bebidas de café. <sup>(36)</sup>

La cafeína (1,3,7-metilxantina), una base xántica que tiene efecto estimulante sobre el sistema nervioso central, que se encuentra naturalmente en el café. Un mecanismo de acción de las bases xánticas es llevado a cabo a través de la inhibición de fosfodiesterasas, aumentando con esto los niveles de AMPc, responsable de muchos o de todos los efectos, sobre el sistema nervioso, músculo esquelético y cardíaco, diuresis, etc. La cafeína componente amargo es responsable de la actividad diurética y efecto estimulante en el café. La trigonelina durante la torrefacción se transforma parcialmente en niacina, haciendo al café una fuente de vitamina B3. <sup>(36)</sup>

Los principales constituyentes solubles confieren al café un ligero sabor ácido; también contribuyen al amargor y sabor característico de este. El sabor ácido es reconocido como un atributo de la calidad del café.

La amargura puede ser considerada como un defecto. En el café obtenido por el beneficiado húmedo el sabor ácido es significativamente mayor que en el café proveniente del beneficiado seco. Esta diferencia es probable por el aumento del cuerpo durante el beneficiado seco, porque el cuerpo enmascara el sabor ácido del café. Un pH entre 4.9 y 5.2 es el rango considerado para una "buena taza de café". En el café verde los ácidos de mayor proporción son ácidos clorogénico y quínico y los ácidos málico y cítrico en menor cantidad. <sup>(36)</sup>

Tabla N°1. Resumen de los componentes químicos (%b.s.) principales en el grano de café verde y en el tostado para las variedades arábica y robusta. <sup>(39)</sup>

Componentes	Arábica		Robusta	
	Café verde	Café tostado	Café verde	Café tostado
Minerales	3.0-4.2	3.5-4.5	4.0-4.5	4.6-5.0
Cafeína	0.9-1.2	1.0	1.6-2.4	2-0
Trigonelina	1.0-1.2	0.5-1.0	0.6-7.5	0.3-0.6
Lípidos	12.0-18.0	14.5-20	9.0-13.0	11.0-16.0
Acido clorogénico	5.5-8.0	1.2-2.3	7.0-10.0	3.9-4.6
Ácidos alifáticos	1.5-2.0	1.0-1.5	1.5-2.0	1.0-1.5
Oligosacáridos	6.0-8.0	0-3.5	5.0-7.0	0-3.5
Polisacáridos	50.5-55.0	24.0-39.0	37.4-47.0	-
Aminoácidos	2.0	0	2.0	0
Proteínas	11.0-13.0	13.0-15.0	11.0-13.0	13.0-15.0

### 3.1.6. Beneficios del café

Los ácidos clorogénicos son considerados como antioxidantes, es decir, atrapan radicales libres, así mismo la cafeína cumple con esta función y otros compuestos producidos durante el tostado, como las melanoidinas, que compensan la disminución de los ácidos clorogénicos que se producen durante este proceso. La cafeína inhibe la lipoperoxidación inducida por radicales hidroxilos (OH),

peróxidos (ROO) y oxígeno, por lo tanto es un antioxidante tan potente como el glutatión y superior al ácido ascórbico. <sup>(39)</sup>

Se ha demostrado que la cafeína reduce en un 15% la sensibilidad a la insulina, esto se ve reflejado en los efectos secundarios que tiene el consumo de insulina, pues los pacientes tienen a ganar peso.

La enfermedad de Parkinson, que alrededor del 3% de la población mayor de 65 años la padece. En estudios realizados se sugiere un efecto protector ejercido por el consumo de café, aunque el mecanismo de protección aún no es conocido, en bibliografía se encuentra que al consumir 300 mg/día de café se logró reducir de 10.4 a 1.9 el número de sujetos enfermos de Parkinson por cada 10,000 sujetos estudiados. <sup>(39)</sup>

La ingesta de café con cafeína ayuda a mejorar el rendimiento deportivo, esto es debido a que la cafeína ayuda a movilizar los depósitos de grasa y por lo tanto a conservar los depósitos de glucógeno, retrasando con ello la aparición de fatiga.

<sup>(11, 33)</sup>

## **3.2. Etapas (tecnología del café).**

### **3.2.1. Recolección o cosecha.**

Consiste en la recolección selectiva de frutos de café en los árboles; por lo general se cosecha anualmente cuando maduran las cerezas, es decir, cuando adquieren un color rojo brillante, tienen lustre y están firmes al tacto. Este proceso es realizado por cortadores que cuidadosamente recolectan los frutos maduros en los árboles y posteriormente se someten a una selección, para separar granos verdes, pintones, secos, brocados y materias extrañas. <sup>(12, 39)</sup>

Se pueden mencionar 4 sistemas de recolección:

- Cosecha selectiva en varias etapas (manual), en la que se recogen solo las cerezas maduras.
- Cosecha selectiva en varias etapas en la que se arrancan los racimos cuanto contienen principalmente cerezas maduras.
- Cosecha única en la que los trabajadores cosechan todo a su paso por el cafetal.
- Cosecha mecánica con maquinaria, que desprende el fruto mediante vibración.

El mejor sistema de recolección lo constituye la recolección selectiva de cerezas maduras, ya que los granos que aún no se encuentran maduros se dejan en la planta para madurar, logrando así una mayor calidad en la cosecha <sup>(39)</sup>.



Figura N° 2. Diferentes Estados maduración del café. <sup>(13)</sup>

### 3.2.2. Definición de beneficiado.

Representa la primera parte de la cadena agroindustrial, cuyo proceso separa del fruto las coberturas que envuelven al grano y efectúa un secado de este, con el fin de preservarlo para su posterior exportación o venta local para su torrefacción y molido, o efectuar otros procesos que permitan ofrecer los consumidores distintas presentaciones de café (liofilizado, descafeinado, granulado, en bebida gaseosa y otros), es decir, la transformación del fruto maduro de la planta de café

conocido como “cereza”. Existen dos tipos de beneficiado del café: beneficiado húmedo y beneficiado seco. <sup>(13)</sup>



Figura N° 3. Proceso de beneficiado de café. <sup>(26)</sup>

### **3.2.3. Beneficiado Húmedo.**

Es llamado húmedo porque es necesario el uso de agua; principalmente para la eliminación del mucílago (lavado) y clasificación de los granos. La pulpa y/o mucílago es eliminado por medios mecánicos, y los granos se fermentan en depósitos con un gran volumen de agua. Al despulpar un quintal de fruto maduro se obtienen aproximadamente 60 libras de café pergamino despulpado y 40 libras de pulpa; siendo el café pergamino o café verde el principal producto del beneficiado húmedo.

Esta fase del proceso es de vital importancia para la calidad uniforme y apta para la exportación de café. Se recomienda seguir las siguientes instrucciones:

- Preferiblemente recibir únicamente el café que se encuentre en óptimas condiciones.
- No mezclar café verde con el maduro, si es necesario, procéselo en forma separada asegurando así una excelente calidad.
- Evitar mezclar café maduro con café seco o sobre maduro, cuidándose de obtener altos porcentajes de café pelado y mantener así la calidad del grano y los rendimientos.
- No mezclar café maduro con hojas, palos, tierra, piedras o cualquier clase de impurezas, ya que esto conlleva a pérdidas en el rendimiento y deterioro del equipo, lo que afecta la calidad del café.

Las actividades que se desarrollan en este proceso son: a) Recibo del café maduro, b) clasificación del café maduro, c) despulpe del café maduro (separación de la cáscara), d) clasificación del café despulpado, e) separación del mucílago por fermentación (hidrólisis) o remoción mecánica (Fricción) y eliminación por lavado (agitación y desprendimiento en agua), y f) clasificación del café lavado. <sup>(13)</sup>

### 3.2.3.1. Despulpado

Es la fase mecánica del proceso donde el fruto maduro es sometido a la eliminación de la pulpa (epicarpio).

El despulpado se efectúa a través de máquinas despulpadoras que aprovechan la cualidad lubricante del mucílago del fruto, para que por presión se separen los granos y la pulpa. <sup>(3)</sup>

Para la remoción de la cáscara del fruto del café se utilizan despulpadores con capacidad de procesamiento diferentes, así: 5-10 qq/hora (artesanales); de 35-40 qq/hora y de 60-100 qq/hora (servicio pesado).

Tipos de despulpadores: a) Cilindro Horizontal (Pechero de hierro), b) Cilindro Horizontal pechero de hule.

Una vez que el café ha sido despulpado, el pergamino obtenido se clasifica y para ello se utilizan equipos mecánicos tales como las zarandas oscilantes.

El grano de café despulpado está cubierto de una capa mucilaginosa (mesocarpio) que es 15.5 a 22% del peso del fruto maduro con relación al contenido de humedad. El mucílago es una estructura rica en azúcares y pectinas que cubre el endosperma de la semilla. <sup>(13)</sup>

En el proceso de beneficiado por vía húmeda, la etapa que sigue al despulpado es la remoción del mucílago. El método usado en El Salvador es la fermentación natural y recientemente algunos beneficios (especialmente los ecológicos) utilizan desmucilaginosadores mecánicos de flujo ascendente. <sup>(13)</sup>

### 3.2.3.2. Fermentación

En la fermentación del café ocurren varios procesos, básicamente las levaduras y las bacterias del mucílago a través de sus enzimas naturales oxidan parcialmente los azúcares y producen energía (ATP), etanol, ácido láctico, ácido acético y dióxido de carbono. También se degradan los lípidos del mucílago de café y cambian el color, el olor, la densidad, la acidez, el pH, los sólidos solubles, la temperatura y la composición química y microbiana de este sustrato. <sup>(32)</sup>

En la fermentación interactúa el sustrato y microorganismos los cuales se describen a continuación:

- El sustrato de la fermentación: la materia prima del proceso está compuesta por los granos de café despulpados que contienen el mucílago que se fermenta.
- Microbiología de la fermentación: en el café despulpado se encuentran primordialmente levaduras y bacterias lácticas, pero también otras bacterias y algunos hongos. Las principales levaduras fermentadoras del mucílago son *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida krusei*, *Candida lipolytica*, *Candida parasilopsis* y *Candida pintolopesii*, que producen etanol y CO<sub>2</sub>, y las no fermentadoras como *Cryptococcus terreus*, *Rhodotorula rubra* y *Rhodotorula glutinis*. Las bacterias lácticas del mucílago son *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus plantarum* y *Streptococcus faecalis*, entre otras las cuales producen ácido láctico, alcohol, ácido acético, ácido fórmico y dióxido de carbono. Así mismo se pueden encontrar bacterias anaerobias como *Enterobacter spp.*, *Escherichia coli*, *Klebsiella ozaenae*, *Proteus sp.*, etc. Además hongos de los géneros *Trichoderma*, *Alternaria* y en ocasiones *Penicillium* y *Aspergillus*. <sup>(31, 32)</sup>

### **3.2.3.3. Lavado.**

Cuando los granos de café pergamino han alcanzado el punto de fermento (el número de horas para lograr este estado es variable y depende de las condiciones climáticas donde están localizados los beneficios, el café, infraestructura, entre otros), entonces están listos para someterse al proceso de lavado con agua limpia.

### **3.2.3.4. Secado.**

El café ya lavado, se somete al secamiento. En nuestro país el secado se hace principalmente en patios de secado contruidos con ladrillos de barro y en otros lugares están hechos con ladrillo de cemento o cemento (principalmente en beneficios localizados en altura). La mayor parte de los beneficios que operan en el país tienen pre-secadoras y secadoras y dependiendo de los volúmenes de café y exigencias de los compradores, se hacen uso de ellas o también se hace una combinación de métodos (secamiento mecánico y natural). <sup>(13)</sup>

Para determinar el punto correcto de secamiento en El Salvador, los que predominan son:

- Métodos empíricos (a la vista, con el diente, con navaja, con martillo),
- Determinadores de humedad mecánicos, digitales.

### **3.2.4. Beneficio seco**

El beneficiado por vía seca (también llamado el método natural) es el más antiguo y el más sencillo y requiere poca maquinaria.

Este método consiste en secar la cereza entera. A continuación, se describen las tres etapas básicas de limpieza, secado y descascarillado. <sup>(18)</sup>

### **3.2.4.1. Limpieza**

Primero, las cerezas que se hayan recolectado se clasifican y limpian, para separar las cerezas que no están maduras de las que están demasiado maduras y de las que están dañadas, y para quitar la suciedad, la tierra, las ramas y las hojas. Eso puede hacerse aventando, por lo general a mano, usando una criba grande. Las cerezas que no se quieran o cualquier otra materia que no pueda aventarse, podrá recogerse de la parte de arriba de la criba. Las cerezas maduras pueden también separarse poniéndolas a flotar en canales de lavado cerca de las superficies de secado.

### **3.2.4.2. Secado**

Las cerezas de café se extienden al sol, o bien en patios grandes de cemento o ladrillo, o bien en esteras alzadas hasta la altura de la cintura sobre caballetes. A medida que las cerezas secan, se rastrillan o se les da vuelta a mano para que sequen por igual. Puede llevar hasta cuatro semanas secar las cerezas al nivel máximo de un contenido de humedad del 12,5%, dependiendo de las condiciones atmosféricas.

En los cafetales más grandes se hace a veces el secado a máquina para acelerar el proceso después de que se haya secado antes el café al sol durante unos cuantos días. La operación de secado es la etapa más importante del proceso, puesto que afecta a la calidad final del café pergamino. Un café que haya secado demasiado se volverá quebradizo y dará demasiados granos quebrados durante la criba (los granos quebrados se consideran defectuosos). Un café que no haya secado lo suficiente tendrá demasiada humedad y será proclive a un rápido deterioro ocasionado por hongos y bacterias. <sup>(18)</sup>

### **3.2.4.3. Descascarillado**

Las cerezas secas se almacenan a granel en silos especiales hasta que se envían al molino, donde se criban, se separan, se clasifican y se meten en sacos. La descascaradora quita de una vez todas las capas exteriores de la cereza seca. <sup>(18)</sup>

### **3.2.5. Almacenamiento**

El almacenamiento es una de etapas de mayor prioridad para evitar el deterioro y la pérdida de la calidad del café. En esta práctica es importante considerar los siguientes factores: humedad relativa del ambiente, diseño y ubicación del almacén, duración del almacenamiento y evitar que el café se humedezca de nuevo. La humedad es definida como la medida del contenido de agua que tienen los alimentos. El contenido de humedad durante el almacenamiento debe de ser de 10-12%; el deterioro se minimiza cuando la temperatura se mantiene por debajo de 26°C y la humedad relativa (HR) de la atmósfera de almacenamiento oscila entre 50 y 70%. <sup>(6, 13, 30)</sup>

Durante el almacenamiento para evitar el crecimiento de hongos en el café es mejor hacerlo en bolsas de poliestireno que son menos permeables y la reabsorción de agua ocurre en menor medida que en los sacos de yute. Es importante que los recipientes que son utilizados para transportar el producto estén limpios y no contengan materias que puedan estar contaminadas con hongos <sup>(28, 39)</sup>.

Es importante considerar que el café pergamino se deteriora más lento que el café oro. Puede almacenarse a granel en silos, esto se realiza cuando se trata de un almacenamiento temporal en las fincas productoras de café recién

procesado; así mismo se puede almacenar en cajas o en sacos, cuando el café espera su transporte a las centrales de beneficio seco o se queda guardado esperando su preparación para el mercado. <sup>(13)</sup>

El café seco, se conserva muy bien durante meses a temperaturas máximas de 20°C y humedades relativas alrededor de 65%. La humedad del café almacenado en estas condiciones se mantiene entre el 10% y 12%. <sup>(13)</sup>

### **3.2.6. Tostado del café**

El café limpio luego pasa a ser objeto de uno de los procesos más importantes y delicados; la torrefacción o tostado. En este proceso el café en grano desarrolla el sabor, aroma y demás características propias de este, presentes en el producto final.

El grano del café ingresa a un cilindro rotativo perforado, en donde circulan gases calientes, como producto de la combustión del diésel. El aire alcanza temperaturas que oscilan entre 245 y 250 °C. El tiempo de permanencia del grano del café en el tostador es entre 7 y 12 minutos. <sup>(12)</sup>

Durante el recorrido cuando se alcanza una temperatura entre 100 y 105°C el aire caliente provoca que el café pierda progresivamente la humedad natural (cerca del 10%). Aquí solamente ocurren cambios químicos menores y casi ninguna propiedad del café se desarrolla. <sup>(12)</sup>

Al alcanzar una temperatura de 180°C en el grano se produce una reacción llamada pirolisis, obteniendo azúcares y carbohidratos, dióxido de carbono, ácidos, etc. que se liberan rápidamente en este proceso. Este fenómeno se produce en 10 segundos y desarrolla el sabor del café. <sup>(12)</sup>

Luego que los granos de café alcancen una temperatura cercana a los 205 °C ya no absorben calor, ahora el calor se libera del grano como resultado de las reacciones de pirolisis. <sup>(13)</sup>

La intensidad del tostado es una característica importante que se toma en cuenta en el proceso y se evalúa con la observación de la coloración del grano. Un café pálido tiene un tostado débil, pero un café oscuro tiene un tostado fuerte. Así mismo, ocurre una variación en el peso, el cual se debe a la evaporación del agua y de otras sustancias que contiene el grano. Al finalizar el proceso las reacciones físico-químicas se detienen rápidamente por el enfriamiento brusco del café tostado con aire y con agua. La pérdida de peso que se genera en el tostador está entre 16 y 20%. Al final del proceso, cae por gravedad y se lleva hacia una pequeña tolva. <sup>(12)</sup>

### **3.2.7. Molienda del café tostado.**

Este proceso nos permite realizar de manera más eficiente la extracción de los sólidos solubles en agua, existentes en el café tostado (aromas y sabores); si se realiza la extracción del café tostado entero se obtiene un rendimiento bajo y un sabor pobre. Pero con el café tostado y molido la extracción es más fácil y se obtiene un mayor rendimiento. El café tostado se traslada hacia los molinos. Aquí el grano tostado se tritura por acción de unos rodillos hasta tener el tamaño deseado. <sup>(12)</sup>

## **3.3. Café en El Salvador**

### **3.3.1. Distribución del cultivo del café en El Salvador.**

En El Salvador la distribución de caficultores y la superficie cafetalera se

encuentran de la siguiente manera: en la Región Occidental se encuentra el 45.02% del total de caficultores del país y ocupan una superficie cafetalera del 50.28% representando la mayor parte. En la región Central el 32.34% de los productores y un área cafetalera del 29.98% y en la Región Oriental el 22.56% de productores y un área del 19.67%. <sup>(20)</sup>

El 90% de las fincas cafetaleras del país se encuentran entre los rangos de 0.1 a 25 manzanas y ocupan un área de 68,871 manzanas, equivalentes al 32% del área total cultivada de café en el país y el restante 10% de las fincas, que superan las 25 manzanas, ocupan un área cafetalera de 148,757 manzanas. <sup>(13)</sup>

En el país una gran cantidad del área cafetalera se encuentra en zonas de laderas, en las que los árboles de sombra de diferentes especies abundan y que la presencia de estos ayuda a la captación de agua. <sup>(13)</sup>

### **3.3.2. Beneficios con mayor exportación y producción de café en El Salvador.**

Según los datos proporcionados por el Consejo Salvadoreño del Café los beneficios de mayor exportación en El Salvador son: (Ver Anexo N° 1)

- BENEFICIO A
- BENEFICIO B
- BENEFICIO C
- BENEFICIO D
- BENEFICIO E

### **3.3.3. Variedades cultivadas en El Salvador.**

En El Salvador se utiliza mayormente las variedades Bourbon y Pacas contando

con un 97% y la edad de las plantas es entre 31 y 38 años. Las otras variedades que se cultivan son: Pacamara, Catisis, Arabigo, Catuai, Caturra; cuyas edades se encuentran entre los 24 a 42 años. <sup>(13)</sup>

### **3.3.4. Estándares de calidad mínimos para el café en El Salvador.** <sup>(5)</sup>

Los estándares de calidad mínimos requeridos para el café según el *Consejo Salvadoreño de Café* (s.f.) son:

- Olor limpio o libre de olores extraños
- Color del grano verde o verde azulado homogéneo.
- Que al menos el 98% del grano quede retenido en la zaranda número 16 y el restante quede retenido en la zaranda número 15.
- Para el caso de grano tipo caracol (Peaberry) la granulometría deberá cumplir con las condiciones que al menos el 97% del grano quede retenido en la zaranda número 10; medidos en zarandas o tamices con orificios de forma oblonga
- La humedad del grano debe estar comprendida en un rango entre el 11.0% y el 12.5%.
- Cero defectos primarios y hasta un máximo de 2 imperfecciones completadas secundarias o categoría dos, clasificados y contados según la tabla o método de clasificación de la Asociación de Cafés Especiales de Estados Unidos de América (SCAA) efectiva a partir del 2000.
- Taza sana y limpia (sin sabores defectuosos) con características sobresalientes y atributos distintivos en aroma, cuerpo, acidez y sabor. No debe contener sabor astringente como el relacionado con la presencia de granos inmaduros ni sabor añejo o a cosecha vieja.

### **3.3.5. Exportación de café en El Salvador**

La mayor comercialización de la producción del café en el país se encuentra en el exterior, siendo sus principales clientes Estados Unidos, Taiwán, Alemania y Japón. La exportación del café para El Salvador representa una gran importancia económica al ser uno de los principales productos de exportación, en el periodo comprendido desde Octubre de 2011 a Abril de 2012 se registró un ingreso de 236.69 millones a partir de exportaciones de café; siendo el precio promedio del quintal de \$236.38. <sup>(13)</sup>

### **3.4. Problemas en el cultivo del café.**

En el cultivo de café se pueden encontrar diferentes plagas, microorganismos, toxinas y enfermedades que afectan la calidad del producto.

#### **3.4.1. Plagas del café.**

Entre las plagas que atacan a las raíces tenemos: palomillas, escamas y nematodos. Las plagas e insectos más importantes que atacan a las plantas del café son la escama verde, la escama coma, la escama globosa, la escama algodonosa, chinche harinosa y los nematodos. Las plagas de las hojas de la planta del café como el minador, que es la larva de una mariposa, son más habituales en épocas de sequía, en cambio durante las épocas de lluvia son más frecuentes las de la raíz. Desde el punto de vista económica una de las de mayor impacto es *Hypothenemus hampei* (Ferrar) (*Coleoptera: Scolytidae*) llamada también broca del café. Este es un insecto pequeño, daña en fruto del café perforando la cereza y luego se reproduce internamente en el endospermo; causando pérdida total del grano y en la mayoría de los casos, la caída prematura de los frutos. <sup>(35, 39)</sup>

### **3.4.2. Enfermedades del café.**

Unas de las enfermedades más graves para el cafeto son la roya (*Hemileia vastatrix*) y la antracnosis. La roya del cafeto, es provocada por el hongo *Hemileia vastatrix*, en su madurez presenta manchas con un polvillo de color naranja en las hojas del cafeto. La roya ataca al sistema foliar y entre las variedades susceptibles del cafeto a esta enfermedad se encuentra el Bourbon. El efecto cuando es drástica de la roya provoca defoliación e indirectamente bloquea el llenado y maduración de los frutos. Un ataque severo de roya, no solamente afecta la cosecha del año sino que también la posterior. <sup>(39)</sup>

### **3.4.3. Hongos del café.**

En el cafeto la microbiota es diversa, el género que más predomina es el *Aspergillus*. Algunos de estos mohos son capaces de producir toxinas durante el almacenamiento del grano de café. <sup>(39)</sup>

### **3.4.4. Micotoxinas.**

Son metabolitos secundarios producidos por los hongos y mohos. Estas representan un peligro para el producto y salud de los consumidores, entre estas se pueden mencionar las aflatoxinas y ocratoxinas. <sup>(39)</sup>

## **3.5. Cambio climático, impacto sobre el cultivo del café.**

El cultivo del café se realiza en zonas tropicales que son las ideales para el crecimiento de este, el calentamiento global afecta más en los trópicos en comparación con las regiones templadas. <sup>(29)</sup>

Es importante decir que el café robusta es más resistente a las enfermedades

que el café arábica es mucho más tolerante a las condiciones de temperatura altas, como consecuencia el café robusta será más resistente al cambio climático. La productividad del género arábica es altamente afectada por el cambio climático ya que para el desarrollo de la fruta se incrementa por encima de 23 °C, lo que reduce la calidad de la bebida; esta pérdida de la calidad podría incluir una mayor probabilidad de presencia de micotoxinas <sup>(4, 26; 27)</sup>. Además, la exposición continua a 30°C provoca estrés, provocando crecimiento bajo y anormal, incluyendo el amarillamiento de las hojas y tumores de tallo <sup>(29)</sup>

La plaga broca es una amenaza significativa para el arábica, este insecto probablemente lleve consigo hongos toxigénicos que serán capaces de crecer como resultado del daño causado al café por este insecto.

Con el aumento de la temperatura provocado por el cambio climático el crecimiento de hongos que se desarrollan a mayores temperaturas incrementa, así también los niveles de micotoxinas. <sup>(19, 26)</sup>

Los cultivos de café se harán imposibles en algunas regiones por la temperatura, existirán regiones intermedias donde la cosecha sea posible, pero se encontrará sometido a un mayor estrés por condiciones climáticas subóptimas, suelo pobre, insectos y microorganismos de plagas y enfermedades; las micotoxinas se convertirán en un problema muy grave ya que el cultivo estará más susceptible a la presencia de hongos toxigénicos. Probablemente, las micotoxinas más peligrosas prevalecerán a altas temperaturas y, por ejemplo, la Aflatoxinas tenderá a reemplazar a la OTA como micotoxina mayor, ya que las temperaturas serán más adecuadas para los *Aspergillus* termotolerantes que producen Aflatoxinas. El café se podrá cultivar en nuevas tierras y esto permitirá niveles bajos de micotoxinas debido al fenómeno Parásitos perdidos; en el cual los cultivos contienen menos plagas y enfermedades. Un factor grave y contrario a

esto puede ser que no exista competencia natural de sustrato para los hongos toxigénicos y por lo tanto mayor probabilidad de desarrollo de estos. (26, 27, 28, 29)

### 3.6. Ocratoxinas

#### 3.6.1. Generalidades de las ocratoxinas.

Las Ocratoxinas son consideradas como metabolitos secundarios producidos por ciertas especies de hongos. Existen tres ocratoxinas: Ocratoxina A, Ocratoxina B y Ocratoxina C. Bajo condiciones normales tanto la Ocratoxina A como la Ocratoxina B son formadas. Una gran diferencia entre estas es que, la Ocratoxina B es menos tóxica que la Ocratoxina A y además no interfiere con la síntesis de proteínas en las células hepáticas. Ambas toxinas son compuestos fenilalanina-dihidrocumarina que están acoplados a un enlace amida que es muy estable con respecto tanto a la temperatura como a la hidrólisis.

#### 3.7. Ocratoxina A (OTA).

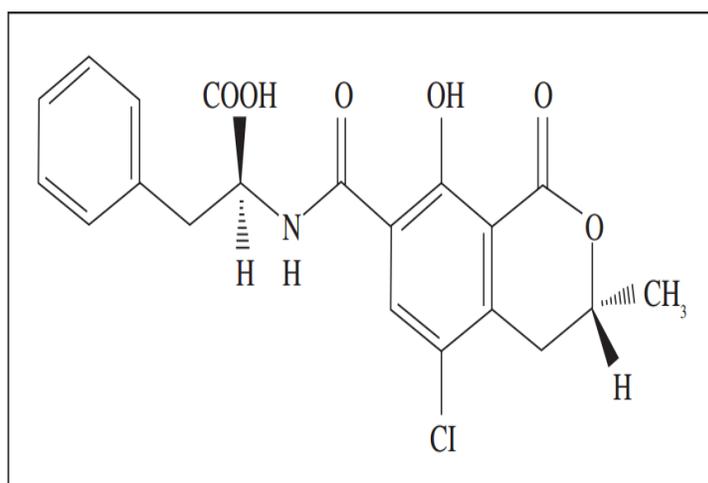


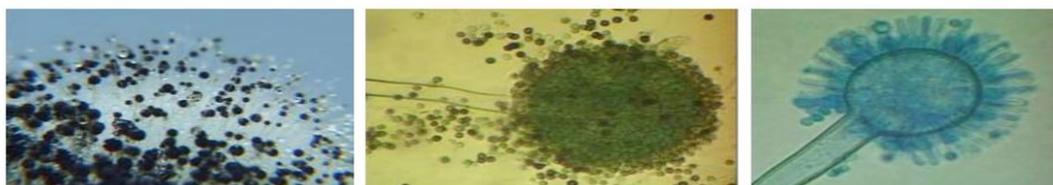
Figura N° 4. Estructura química de la ocratoxina A

### 3.7.1. Definición.

La OTA es un metabolito secundario producido por las especies de hongos *Aspergillus* y *Penicillium* los cuales se encuentran presente entre una gran variedad de alimentos como: cereales, uvas, café, cacao etc.

La OTA fue aislada por primera vez de *Aspergillus ochraceus* de donde proviene su nombre. <sup>(17)</sup>

Debido a la incidencia en productos alimenticios y al número de cepas capaces de producir OTA, las especies productoras de OTA más importantes son: *Penicillium verrucosum*, *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus niger* y *Aspergillus carbonarius*. La presencia de OTA es producida predominantemente por *Aspegillus westerderdijkieae* y *Asperigillus ochraceus*. <sup>(1,2,14)</sup>



*Aspergillus niger*

*Aspergillus carbonarius*

*Aspergillus ochraceus*

Figura N° 5. Algunos hongos productores de ocratoxinas <sup>(13)</sup>.

La síntesis de OTA está condicionada a diferentes factores tales como: temperatura, actividad del agua y el medio de desarrollo del hongo, principalmente sus micronutrientes, pH y la presencia de agentes competitivos. Las condiciones más favorables para la producción de esta toxina son a un pH de 5.5 y en la presencia de hierro, cobre y zinc. <sup>(7)</sup>

### 3.7.2. Propiedades físicas y químicas. <sup>(16, 17)</sup>

- Descripción: cristales; intensamente fluorescentes bajo la luz ultravioleta,

emite una fluorescencia verde y azul en soluciones ácidas y básicas respectivamente.

- Punto de fusión: 169 °C.
- Rotación óptica:  $[\alpha]_D^{21} -46.8^\circ$  ( $c=2.65$  mmol/L [1.07 g/L] en cloroformo).
- Datos espectroscópicos: se han reportado datos de ultravioleta, infrarrojo, resonancia magnética nuclear protón y masa espectral.
- Solubilidad: el ácido libre es moderadamente soluble en solventes orgánicos como cloroformo, etanol, metanol, xileno, etc.

### 3.7.3. Toxicocinética.

La cantidad de toxina absorbida es dependiente de la especie; en los cerdos es aproximadamente del 60%, mientras que en los roedores es mucho menor. La biodisponibilidad oral de la OTA es más alta en humanos, aproximadamente el 93%. Las formas no iónicas y monoaniónicas de OTA se absorben desde el estómago y el yeyuno sin mecanismos de transporte específicos conocidos. <sup>(38)</sup>

La albúmina es la proteína plasmática más abundante en el sistema circulatorio. La albúmina se une a la OTA con una afinidad inusualmente alta; por lo tanto, el 99.8% de la OTA está en forma unida a la albúmina en el sistema circulatorio humano. El sitio de unión principal de la OTA es casi idéntico al de la warfarina (que también presenta un esqueleto de cumarina). <sup>(38)</sup>

La distribución tisular de la OTA los objetivos principales son los riñones y el hígado, el músculo esquelético, el tejido adiposo y el cerebro también contienen cantidades menores de toxina. Dado que, en circunstancias fisiológicas, la OTA está presente como una molécula cargada, atraviesa la placenta muy probablemente por mecanismos de transporte activo. Desafortunadamente, los niveles de OTA son más altos en la placenta y también son dos veces más altos en la sangre del feto que en la madre. <sup>(38)</sup>

En el intestino, parte de la OTA se hidroliza a Ocratoxina  $\alpha$  (OT $\alpha$ ) por la acción de enzimas proteolíticas y por las enzimas de la microflora bacteriana, otra posibilidad de la hidrólisis de la OTA es abrir el anillo de la lactona en condiciones alcalinas que dan como resultado la formación de un compuesto altamente tóxico llamado OTA de apertura de la lactona (OP-OA). La 4-hidroxiocratoxina A (4-OH-OTA) es un producto de la oxidación microsomal de la toxina con baja toxicidad, mientras que otro producto menos tóxico es la 10-hidroxiocratoxina A (10-OH-OTA). <sup>(15, 38)</sup>

Debido a la fuerte unión de la albúmina a la OTA, su eliminación por filtración glomerular es despreciable. La excreción de OTA se realiza principalmente a través de la secreción tubular. La reabsorción tubular de la toxina podría considerarse parcialmente responsable de la acumulación intracelular de OTA. Desafortunadamente, los estudios in vivo verifican que la toxina se puede reabsorber desde prácticamente cualquier parte de la nefrona tanto por transporte activo como por difusión pasiva en una forma dependiente del pH. <sup>(38)</sup>

La excreción biliar de OTA y sus metabolitos es la ruta principal en su excreción fecal; sin embargo, también está presente la secreción en el intestino delgado. Además de la fuerte propiedad de unión a la albúmina, la circulación entero-hepática podría mejorar la eliminación lenta de la OTA del cuerpo. <sup>(38)</sup>

#### **3.7.4. Toxicodinamia.** <sup>(34)</sup>

Son tres los principales mecanismos de acción mediante los cuales la OTA provoca su toxicidad:

- 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 provoca efectos similares a los producidos

en una lesión celular, obteniendo como productos finales radicales hidroxilados por peroxidación lipídica.

- Alteración de las síntesis de proteínas: este mecanismo se produce a nivel post-transcripcional por inhibición competitiva de la PheARNt sintetasa.
- 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 endoplásmico del hepatocito.

### **3.7.5. Efectos de la OTA en la salud.**

La OTA es nefrotóxica, inmunosupresora, genotóxica, carcinógena, teratogénica y neurotóxica. La Agencia Internacional de Investigación contra el Cáncer (IARC) ha clasificado a la OTA como posible carcinógeno humano, en la categoría 2B. La exposición a alimentos contaminados con OTA se ha relacionado con evidencias epidemiológicas de cáncer testicular debido a la formación de aductos en el ADN inducidos por la acción de este genotóxico.

La OTA está relacionada con el desarrollo de tumores en el tracto urinario como principal factor determinante y con la “Nefropatía endémica de los Balcanes” presentando gran incidencia en las regiones del sudeste de Europa, y caracterizada por ser una grave afección histopatológica que cursa con una nefropatía túbulo-intersticial progresiva, que deriva en atrofia tubular y fibrosis periglomerular. <sup>(38)</sup>

### **3.7.6. Factores determinantes para la incidencia de OTA en café.**

El café se encuentra susceptible a la contaminación con microorganismos

durante todas sus etapas de procesamiento. Así mismo se encuentra expuesto al ataque de insectos y aves, así como a factores macro y micro que hacen más favorable el desarrollo de hongos ocratoxigénicos.

En el café verde la incidencia y niveles de micotoxinas son muy bajos debido a la presencia de cafeína en este, que causa inhibición del crecimiento de hongos. Sin embargo *Aspergillus ochraceus* y *Aspergillus flavus* producen Aflatoxinas y OTA en medio de cultivo que se les adiciono 0.1-1% de cafeína. <sup>(30)</sup>

Para la producción de OTA, *A. Ochraceus* la produce óptimamente en el rango 20-35 °C de temperatura y con una actividad del agua de 0.95-0.99. *A. ochraceus* necesita un mínimo de 0.80 de actividad de agua. *A. niger* a una temperatura de 35 °C y *A. carbonarius* a una temperatura entre 15-30 °C y como mínimo un 0.86 de actividad del agua.

El cultivo del café se da en zonas tropicales y este es altamente higroscópico cuando está dañado. Estas zonas son de alta humedad y por esto los granos maduros, fermentados, dañados o que caen sobre el suelo deben de ser desechados y eliminados fuera del campo de cultivo con el fin de evitar hongos y metabolitos (micotoxinas) en el cultivo ya que estos están más susceptibles a su contaminación.

El café no puede ser almacenado como un producto fresco, y debe de ser rápidamente secado con un equipo y condiciones adecuadas a fin de evitar el desarrollo de hongos productores de OTA. Una vez el café se encuentre seco, se fermenta y se descasca. En estos procesos es de vital importancia que se realicen en un ambiente controlado para evitar la humedad o contaminación cruzada. Así mismo el transporte y almacenamiento en condiciones ambientales y en envases adecuados. <sup>(1)</sup>

### **3.7.7. Reglamentación internacional sobre OTA.**

La Comisión Europea (CE) establece los niveles permitidos de OTA en el café molido y tostado siendo este el de 5ug/kg. Así mismo la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (conocida mundialmente como FAO) cuenta con una normativa para los niveles permisibles de OTA en el café molido y tostado de 5ug/kg. La República de El Salvador no cuenta con normativas legales sobre la OTA en productos alimenticios. <sup>(7, 9, 24, 25)</sup>

### **3.7.8. Métodos de detección de OTA.**

Para la determinación de la OTA, el método más utilizado en la mayoría de los estudios es HPLC con detector de fluorescencia, sin embargo, existen otros métodos como cromatografía en capa fina, cromatografía de gases, espectrofotometría de masas y el ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA). <sup>(22)</sup>

#### **3.7.8.1. Ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA).**

ELISA se fundamenta en una reacción antígeno-anticuerpo. Los anticuerpos son elaborados por las células plasmáticas en respuesta al estímulo producido por una molécula extraña al organismo llamada antígeno, estos poseen sitios de unión específico a los cuales se une el anticuerpo adecuado; los anticuerpos monoclonales son anticuerpos de especificidad única sintetizada por un único clon de células plasmáticas. <sup>(37)</sup>

Las técnicas ELISA proveen una atractiva y prometedora alternativa al HPLC para la detección de OTA en alimentos por su alta especificidad, sensibilidad, simplicidad y potencial para automatización y posibilidad de su uso bajo

condiciones de campo. <sup>(21)</sup>

Dos son los tipos de anticuerpo utilizados para la determinación de OTA, monoclonales y policlonales. El desarrollo de anticuerpos policlonales (PAb) y monoclonales (MAb) contra el conjugado OTA-proteína convierten a los inmunoensayos en una básica y útil herramienta para la determinación de OTA. Dos sistemas de ELISA se han usado para el análisis de micotoxinas y ambos son ensayos competitivos heterogéneos. Un sistema es ELISA directo, se utiliza un conjugado enzima-micotoxina y el otro sistema es ELISA indirecto, dado que se utiliza un conjugado proteína-micotoxina y un anticuerpo secundario con el cual una enzima ha sido conjugada. Generalmente la peroxidasa de "horseradish" es la enzima más comúnmente utilizada para conjugación, otras enzimas que también se utilizan son la fosfatasa alcalina y la  $\beta$ -galactosidasa. En el ensayo competitivo directo, los anticuerpos se inmovilizan en una fase sólida, esferas o tubos de poliestireno, esferas de nylon o tarjetas material plástico, o bien placas para microtitulación. La muestra en solución o el estándar de toxina es generalmente incubada simultáneamente con el conjugado enzimático. Después de los lavados apropiados, la cantidad de enzima conjugada que reacciona con el anticuerpo se determina por incubación con un sustrato en solución que contiene peróxido de hidrógeno que actúa como un oxidante cromógeno. El color resultante se mide ya sea visualmente o por medio de un espectrofotómetro. En este ensayo, las toxinas presentes en el extracto de la muestra y los conjugados enzimáticos de las toxinas compiten por los mismos sitios de enlace presentes en el anticuerpo inmovilizado en la superficie sólida. Debido a que las concentraciones de conjugado enzimático y de anticuerpo son constantes, la intensidad del color es un función inversamente proporcional a la concentración de toxina. <sup>(21)</sup>

Este ensayo usa anticuerpos de captura contra anticuerpos anti-ocratoxina A; a

ellos se les agrega muestra o estándar más conjugado ocratoxina A-enzima y anticuerpos anti-ocratoxina A produciendo que la ocratoxina A libre y el conjugado ocratoxina A-enzima compiten para unirse a sitios específicos del anticuerpo anti-ocratoxina A (inmunoensayo enzimático competitivo). Al mismo tiempo, los anticuerpos anti-ocratoxina A se unen a los anticuerpos de captura inmovilizados sobre la placa. El conjugado ocratoxina A-enzima que no se unió es removido posteriormente por un proceso de lavado. El substrato/cromógeno es agregado e incubado. El conjugado ocratoxina A-enzima a través de los anticuerpos, convierte al cromógeno en una sustancia azul. La adición de la solución stop provoca un cambio de color de azul a amarillo. La medición se realiza fotométricamente a 650 nm; la absorción es inversamente proporcional a la concentración de ocratoxina A en la muestra. (23, 37)

CAPITULO IV  
DISEÑO METODOLOGICO

## 4.0. DISEÑO METODOLÓGICO

### 4.1. Tipo de estudio

- **Campo:** se realizaron visitas a los beneficios, con el propósito de recopilar información respecto a los procesos que se llevan a cabo en el beneficiado (proceso húmedo) y a factores que inciden en la probabilidad de crecimiento de hongos ocratoxigénicos como la temperatura y la humedad que conllevan a la producción de OTA, esta información se obtuvo a través de una encuesta; a fin de seleccionar los dos beneficios de mayor riesgo de contaminación.
- **Transversal:** se realizó en los meses comprendidos de junio de 2017 a junio de 2018.
- **Experimental:** se efectuaron los análisis de determinación de humedad y el ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas de las muestras de café tostado y molido en los laboratorios de Análisis Bromatológico del Departamento de Análisis Químico e Instrumental y en el Laboratorio de Microbiología del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD) de la Universidad de El Salvador.
- **Exploratorio:** este estudio se realiza por primera vez en El Salvador y es una problemática que está presente por efecto del cambio climático; además que la exportación de café en El Salvador es una fuente de ingreso económico y productora de empleo; este también es un producto de consumo masivo en el país.

## **4.2. Investigación bibliográfica**

La cual se realizó en las siguientes bibliotecas:

- Dr. Benjamín Orozco de la Facultad de Química y Farmacia
- Central de la Universidad de El Salvador
- Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal (CENTA)
- Consejo Superior de Café
- Internet.

## **4.3. Investigación de campo.**

Se aplicó una encuesta a los encargados de los 5 beneficios de mayor exportación de café de El Salvador (ver anexo N°1), evaluándose factores que pueden incidir en la presencia de OTA; en base a la encuesta se decidió cuáles fueron los 2 beneficios exportadores de café que presentaron mayor riesgo de contaminación con OTA. (Ver anexo N° 2). Formato de la encuesta aplicada a los beneficios.

### **4.3.1. Universo**

Cinco beneficios A, B, C, D y E de mayor exportación de café tostado y molido de El Salvador. Ver anexo N° 1. Exportaciones de los beneficios de El Salvador.

### **4.3.2. Muestra**

Se recolectó el café pergamino de los beneficios A y D, dos de los de mayor exportación de El Salvador, los cuales, en base a una encuesta (ver anexo N° 2), mostraron mayor riesgo de contaminación con OTA. Se tomaron 14 muestras de

1 Kg de café pergamino de manera aleatoria por cada beneficio a estudiar, el muestreo fue en estratos distribuidos en los almacenes; se recolectaron en bolsas cerradas herméticamente y rotuladas con sus correspondientes códigos; del Kg recolectado se utilizaron 25 g para su análisis de ocratoxina A. Posteriormente se trasladaron al laboratorio de Análisis Bromatológico del Departamento de Análisis Químico e Instrumental de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador. Se realizaron un total de 28 análisis por duplicado para el análisis de Ocratoxina A, haciendo un total de 56 muestras. El análisis de humedad se realizó solo una vez por cada muestra, un total de análisis de humedad del grano de café de 28.

#### **4.4. Parte experimental.**

##### **4.4.1. Muestreo**

Se recolecto 14 muestras de café pergamino de 1 Kg distribuidas en tres estratos de manera aleatoria en los dos beneficios seleccionados. Se recolecto en café pergamino debido a que los beneficios solo almacenan el café de esta forma, solo lo despergaminan y lo tuestan cuando se recibe un pedido, ya que las condiciones varían dependiendo de los requerimientos que los clientes solicitan.

##### **4.4.2. Tratamiento de la muestra**

###### **4.4.2.1. Despergaminado.**

Las muestras recolectadas como café pergamino se llevaron a las instalaciones de Consejo Salvadoreño de Café (CSC) para realizarles el proceso de despergaminación y así obtener el grano de café.

#### **4.4.2.2. Tostado y molido**

Los granos de café se tostaron en las instalaciones del CSC a una temperatura de 160°C por 1 minuto, punto de giro, luego 8 minutos a 170°C obteniendo el punto organoléptico, el café tostado se trasladó laboratorio de Análisis Bromatológico del Departamento de Análisis Químico e Instrumental de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador donde se le realizó el molido.

#### **4.4.3. Determinación de humedad por balanza analizadora de humedad.**

##### **4.4.3.1. Fundamento.** <sup>(8)</sup>

La balanza COBOS PRECISION IB-110 funciona sobre la base del principio termogravimétrico: Al comienzo de la medida, el analizador de humedad determina el peso de la muestra, a continuación, la muestra se calienta rápidamente por medio de la unidad halógena desecadora y la humedad se evapora. Durante la operación de desecación, el equipo determina continuamente el peso de la muestra y presenta el resultado. Cuando la desecación termina, el resultado se muestra cómo % de contenido de humedad, % sólido, peso o % de tolerancia de humedad. El método tiene las siguientes ventajas: reducción considerable de los tiempos de procesamiento de muestras y obtención de resultados, manipulación sencilla, instrumento compacto y excelente comportamiento de arranque en frío/caliente.

##### **4.4.3.2. Procedimiento.**

1. Encender el interruptor.
2. Presionar la tecla T/T.ENT y utilizar las teclas ▼▲ para seleccionar la

temperatura a 105 °C y presionar nuevamente la tecla T/T.ENT.

3. Utilizar las teclas ▼ ▲ para seleccionar el tiempo de 5 minutos y presionar nuevamente la tecla T/T.ENT.
4. Antes de colocar la muestra colocar una hoja de aluminio en el plato de la balanza cerrar la tapa de la lámpara, calentar durante un tiempo de 5 para eliminar cualquier contenido de humedad de la caja de aluminio.
5. Presionar la tecla TARA.RESET en pantalla aparecerá el indicador BUSY después de unos segundos se mostrará en pantalla 0.00g.
6. Abrir la tapa de la lámpara y colocar 5.0 g de muestra repartiendo el producto en el contenedor lo máximo posible.
7. Pulsar la tecla START STOP una vez la lámpara de infrarrojos se encenderá y el peso de la muestra aparecerá en gramos, luego se mostrará el contenido de humedad en % (cada 30 segundos la balanza tara, pesa y realiza ajustes).
8. Al finalizar el tiempo de secado la balanza terminará automáticamente la tara y el valor del contenido final de humedad aparecerá en pantalla, sonará una alarma durante 15 segundos y el valor final aparecerá en pantalla, se mostrará el indicador de paro de secado.
9. Asegurarse de usar pinzas para sacar el plato de la balanza para evitar quemaduras, dejar enfriar y limpiarlo con papel toalla ligeramente humedecido en alcohol.

10. Presionar la tecla TARA.RESET para la próxima medición.

11. Documentar el resultado del porcentaje de humedad obtenido.

#### **4.4.4. Extracción de Ocratoxina A de la muestra, para su posterior análisis por el método ELISA.**

Preparación de reactivos, materiales y equipos. Ver anexo N° 3.

##### **4.4.4.1. Procedimiento.** (Ver anexo N° 4)

1. Mezclar 10.0 g del café molido finamente con 50.0 ml de  $\text{CH}_3\text{OH}/\text{NaHCO}_3$  1% (p/v) (7:3)
2. Mezcle a alta velocidad durante 3 minutos. (Se pueden utilizar cantidades mayores o menores de muestra, pero manteniendo la proporción de muestra y solución extractora).
3. Dejar reposar por 3 minutos (para que la muestra mezclada se asiente).
4. Filtrar el líquido sobrenadante a través de un Whatman #4 o papel filtro similar.
5. Tomar 5.0 ml del filtrado (equivalente a 1.0 g de la muestra original) y diluir con 45.0 ml de solución salina buffer fosfato con Tween 20 (PBS/Tween 20) (0.01% v/v) para obtener un volumen final de 50 ml.
6. Con una jeringa de vidrio de 50 ml y un adaptador de columna, pase 50.0 mL de la muestra por la columna. La velocidad de flujo no debe exceder

1.5-2.0 mL / minuto. Alternativamente, permitir que pase toda la muestra por gravedad. No permitir que la columna se seque.

7. Lavar la columna con 20.0 mL de PBS/Tween 20 (0.01% v/v). La velocidad de flujo no debe exceder de los 4 a 5 mL/min. No permitir que la columna se seque.
8. Lavar adicionalmente la columna con 10.0 ml de PBS pasados a una velocidad de 4,0 a 5,0 mL/min o por gravedad. Asegúrese de que todo el líquido se elimine de la columna usando presión positiva desde una jeringa o bomba.
9. Eluir la OTA unida con 2.0 mL de metanol y 2.0 mL de agua destilada. La muestra extraída ahora está lista para el análisis de OTA.

#### **4.4.5. Determinación de OTA.**

##### **4.4.5.1. Fundamento.** <sup>(23)</sup>

En el ensayo competitivo directo, los anticuerpos se inmovilizan en una fase sólida. La muestra en solución o el estándar de toxina es generalmente incubada simultáneamente con el conjugado enzimático. Después de los lavados apropiados, la cantidad de enzima conjugada que reacciona con el anticuerpo se determina por incubación con un sustrato en solución que contiene peróxido de hidrógeno que actúa como un oxidante cromógeno. El color resultante se mide ya sea visualmente o por medio de un espectrofotómetro. En este ensayo, las toxinas presentes en el extracto de la muestra y los conjugados enzimáticos de las toxinas compiten por los mismos sitios de enlace presentes en el anticuerpo inmovilizado en la superficie sólida. Debido a que las concentraciones de

conjugado enzimático y de anticuerpo son constantes, la intensidad del color es una función inversamente proporcional a la concentración de toxina.

#### **4.4.5.2. Procedimiento.** (Ver anexo N° 5)

1. Agregar 100.00  $\mu\text{L}$  de conjugado (solución que contiene un complejo de enzima unido a OTA, el cual va a competir con la OTA de las muestras y los estándares de OTA) a cada pocillo de fondo rojo (pocillos de mezcla).
2. Agregar 100.00  $\mu\text{L}$  de control y 100  $\mu\text{L}$  de muestra a cada pocillo de mezcla.
3. Mezclar el contenido de los pocillos cinco veces, presionando el émbolo hacia arriba y hacia abajo.
4. Transferir 100.00  $\mu\text{L}$  de los pocillos de mezcla hacia los correspondientes pocillos con anticuerpo (pocillos transparentes). Nota: durante este paso, existe una competencia entre el conjugado y la OTA de las muestras por unirse a los anticuerpos que se encuentran en los pocillos transparentes, tener el cuidado de no tocar el fondo de los pocillos con las puntas.
5. Deslizar los pocillos de anticuerpo hacia adelante y hacia atrás durante un tiempo de 10 a 20 segundos para mezclar su contenido.
6. Incubar a temperatura ambiente durante 10 minutos (protegiéndolos de la luz).
7. Vaciar el contenido de los pocillos de anticuerpo.

8. Lavar los pocillos de anticuerpo con agua destilada o desionizada (repetir el lavado 5 veces).
9. Colocar los pocillos al revés sobre papel toalla hasta que toda el agua haya sido eliminada.
10. Agregar 100.00  $\mu\text{L}$  de sustrato (solución que contiene el agente cromógeno que va a reaccionar con el complejo formado de antígeno-anticuerpo y lo coloreara conforme a la cantidad de OTA unida proveniente de las muestras, es una coloración inversamente proporcional) a cada uno de los pocillos de anticuerpos.
11. Deslizar los pocillos de anticuerpo hacia adelante y hacia atrás durante un tiempo de 10 a 20 segundos para mezclar su contenido.
12. Incubar a temperatura ambiente durante 10 minutos.
13. Añadir 100.00  $\mu\text{L}$  de red stop (solución que va a ralentizar la reacción ocasionado al agregar el sustrato y la estabilizara para poder ser leída en el detector de pocillos) a cada uno de los pocillos de anticuerpos. NOTA: al agregar red stop, colocar la punta en un ángulo de  $45^\circ$  para asegurar que no tenga efecto de estratificación.
14. Deslizar los pocillos de anticuerpo hacia adelante y hacia atrás durante un tiempo de 10 a 20 segundos para mezclar su contenido.
15. Leer los resultados en el detector con un filtro de 650 nm.

#### 4.5. Diseño estadístico.

A los datos obtenidos de las muestras de café molido y tostado, se le realizó análisis de varianza unifactorial (ANOVA). Los pasos realizados para ejecutar el análisis fueron los siguientes:

- Tabulación de datos en una plantilla de Excel para poder ejecutar el análisis de varianza unifactorial (ANOVA).
- Establecer el nivel de confianza con el que se quiere ejecutar el análisis estadístico, bibliográficamente para las investigaciones se recomienda establecer un 95 % como nivel de confianza.
- Plantear la hipótesis alterna y la hipótesis nula. La hipótesis alterna está orientada en determinar si existe diferencia significativa de los resultados entre los dos beneficios que tenían mayor probabilidad de contaminación con Ocratoxina A y verificar cuantitativamente el riesgo en cada uno. La hipótesis nula es lo opuesto de la hipótesis alterna, ya que demostrara que no existe diferencia significativa en los resultados de cada determinación (humedad y OTA) entre los dos beneficios.
- La matriz realizada en Excel de los resultados de cada determinación, tendrá que ser analizada mediante el uso de la herramienta análisis de datos que se encuentra en la pestaña datos, donde se seleccionara la especificación análisis de varianza de un factor, especificando el nivel de confianza que tenemos determinado.

Nota: se aplicó un valor de confianza de 95% (alfa: 0.05).

## CAPITULO V

### RESULTADOS Y DISCUSION DE RESULTADOS

## 5.0. RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

### 5.1. Información obtenida de los beneficios mediante la aplicación de encuesta.

Se realizó la visita a cinco beneficios de mayor exportación en El Salvador, en las que se les aplicó una encuesta, la cual contenía preguntas relacionadas a los procesos utilizados en el beneficiado del café y generalidades de cada uno de ellos. Según detalle a continuación. (Ver anexo N°2)

- Los beneficios procesan café de mediana altura y estricta altura.
- Los tipos de certificaciones que tienen son:
  1. Rainfores Alliance: este café procede de plantaciones que respetan el medio natural en cultivos que no destruyen el entorno.
  2. Orgánico: garantiza que el café se ha producido sin pesticidas, herbicidas, abonos u otros productos químicos.

El criterio de evaluación de la encuesta se centró en factores que pueden incidir en el crecimiento de hongos y en la producción de Ocratoxina A, considerando que los factores de temperatura y humedad son de mayor importancia, por lo que se les asignó una puntuación de 3 a 5. Otorgando un valor de 5 cuando el beneficio encuestado tenía una mayor probabilidad de contaminación con hongos y Ocratoxina A, como ejemplo, cuando el beneficio no tenía controles de temperatura en sus almacenes y 3 cuando si los tenía. También se evaluaron otros factores que podían incidir en la presencia de hongos ocratoxigenicos, asignando un valor de 1 a 3, siendo 3 la puntuación asignada cuando el beneficio tenía mayor probabilidad de contaminación. Ver tabla N° 2. (Ver anexo N° 6).

Tabla N° 2. Criterio de evaluación de la encuesta.

NIVEL DE RIESGO	FACTORES	PUNTUACIÓN
1	Humedad o temperatura	3-5
2	Otros factores	1-3

**NOTA: en caso de que la respuesta tenga más de una opción, se tomara la media de su puntuación.**

Resultados obtenidos de la encuesta aplicada a los beneficios seleccionados. (Ver anexo N° 7).

A continuación se detallan las respuestas a las preguntas de la encuesta, utilizando para ello un gráfico que será de utilidad en el análisis.

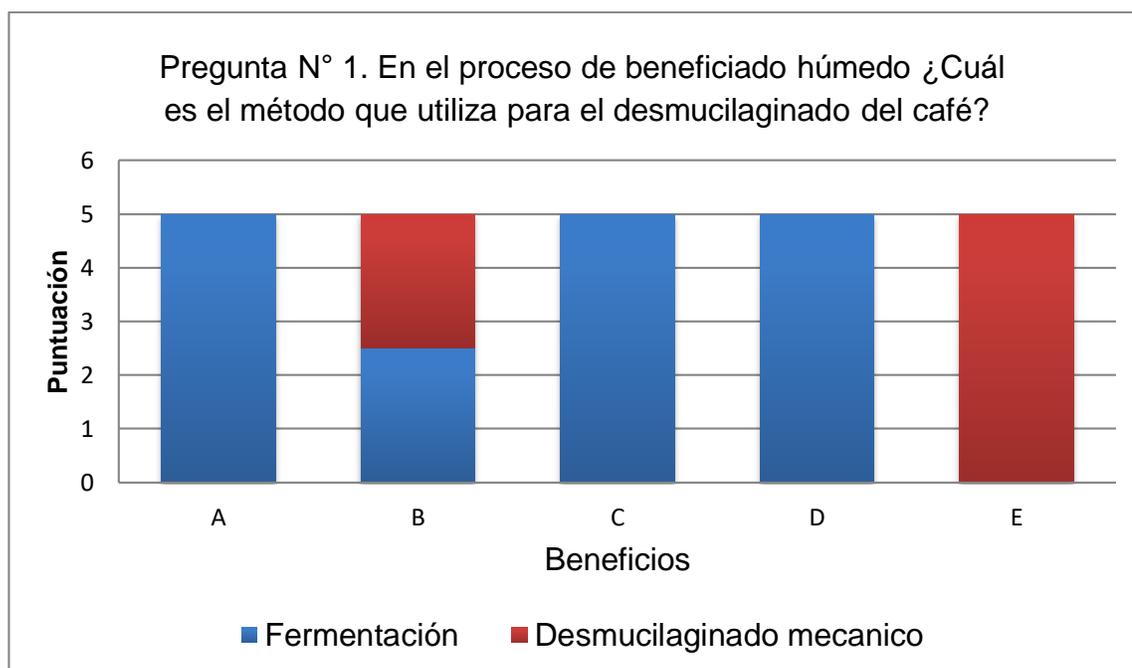


Figura N° 6. Tipo de beneficiado utilizado por los beneficios encuestados.

En los beneficios encuestados el proceso más utilizado en el beneficiado húmedo, es la fermentación, el beneficio B utiliza los dos métodos, fermentación

y desmucilaginado mecánico dependiendo de la demanda que se tenga de producto o dependiendo de la preferencia del comprador. En el desmucilaginado mecánico no se involucra el contacto con el agua. El beneficio E solamente utiliza desmucilaginado mecánico, el cual consiste en eliminar el mucílago por medios físicos o mecánicos y su posterior lavado.

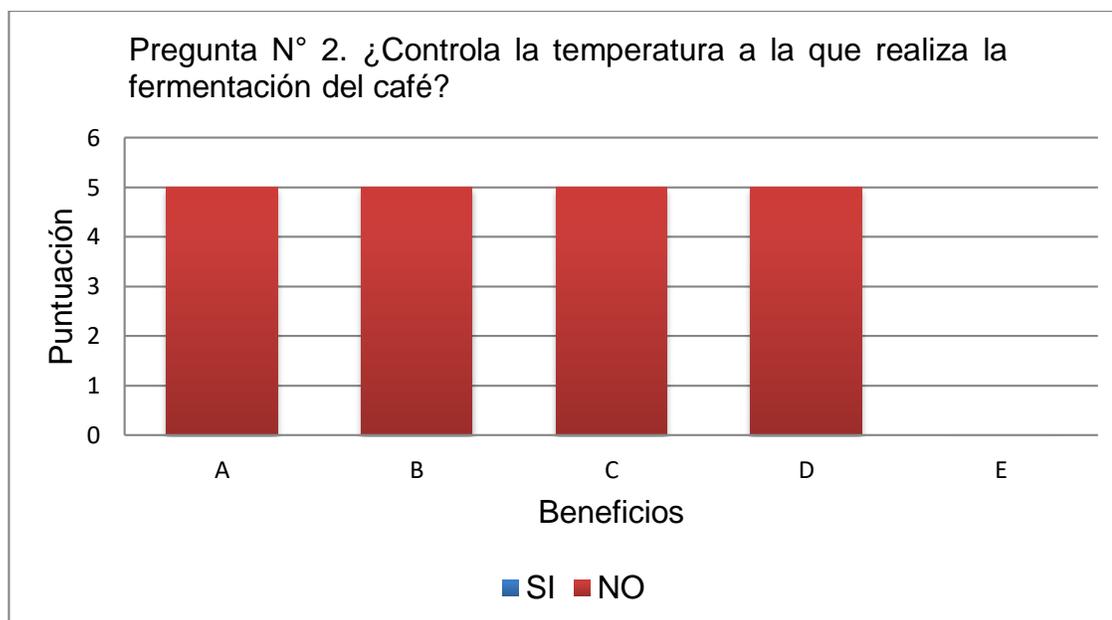


Figura N° 7. Control de la temperatura en la fermentación.

Tal como se presenta en la figura N° 7 podemos observar que ninguno de los 5 beneficios que utilizan el proceso de fermentación en el desmucilaginado del café controla la temperatura durante esta etapa, se realiza a temperatura ambiente, en El Salvador esta es fluctuante debido al efecto del cambio climático que oscila dentro del rango de temperatura óptimo para la producción de OTA por el hongo de 15-30 °C y con una temperatura promedio a más de 1,200 metros de altura sobre el nivel del mar (altura a la cual se produce el café de altura) se encuentra en rango de 21-19 °C.

El beneficio E no se muestra en la gráfica debido a que ellos utilizan el desmucilaginado mecánico; la pregunta no aplica por no utilizar la fermentación

para el desmucilaginado del café.

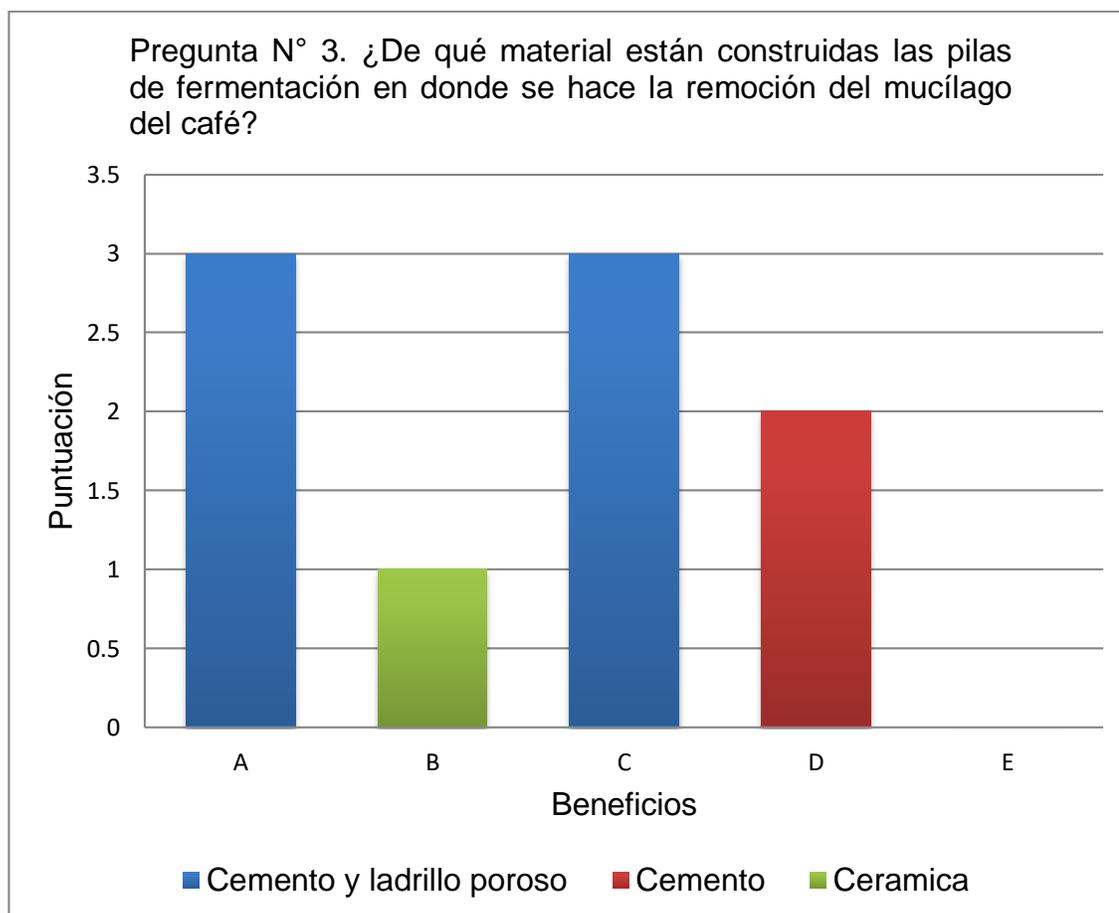


Figura N° 8. Material de construcción de las pilas de fermentación.

Las pilas de fermentación del beneficio A y beneficio C están construidas con cemento y ladrillo poroso, esto representa un mayor riesgo de contaminación con hongos y con OTA ya que este tipo de material puede tener una mayor reabsorción de humedad, factor importante para el crecimiento de hongos productores de OTA. Las pilas del beneficio B son de un material de cerámica.

El beneficio E no se muestra en la gráfica debido a que no utilizan el proceso de fermentación.

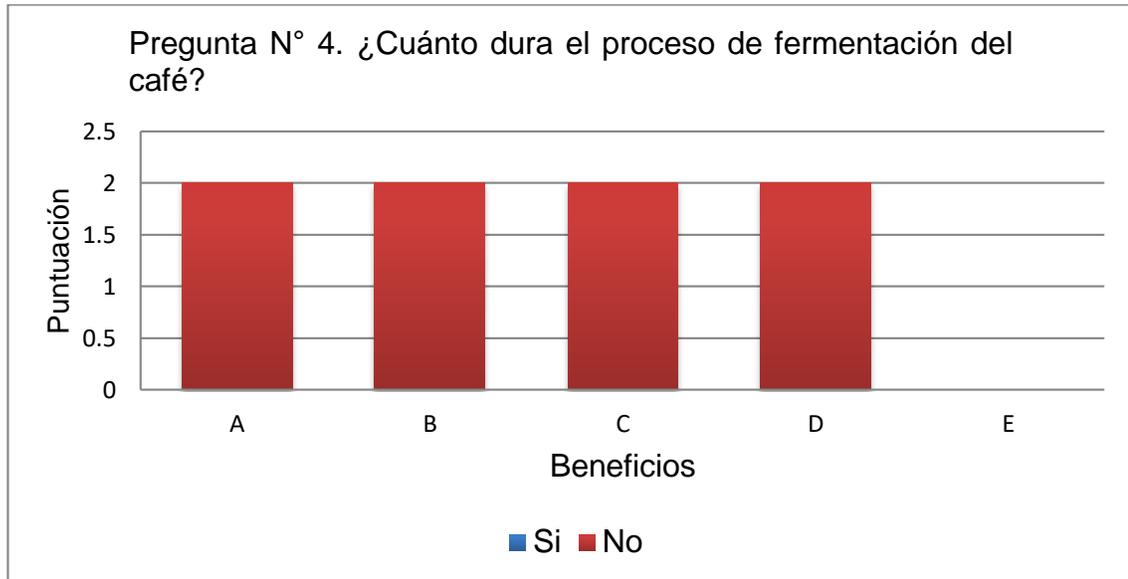


Figura N° 9. Duración del proceso de fermentación del café en los beneficios.

El proceso de fermentación en los beneficios encuestados es en un tiempo entre 8 – 12 horas, dependiendo de las condiciones climatológicas y la cantidad de café a fermentar. El beneficio E no se muestra en la gráfica debido a que ellos no utilizan el proceso de fermentación.

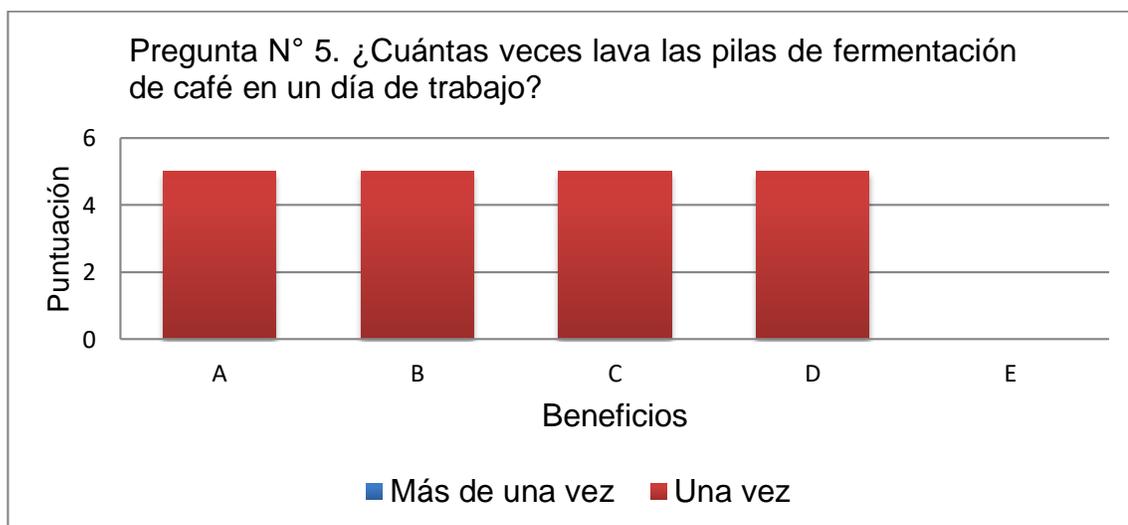


Figura N° 10. Frecuencia del lavado de las pilas de fermentación.

Los beneficios encuestados lavan una vez las pilas de fermentación posterior a su uso. El beneficio E no se muestra en la gráfica debido a que ellos no utilizan el proceso de fermentación.



Figura N° 11. Frecuencia del lavado del café.

Los beneficios lavan una vez el café luego de su fermentación. El beneficio E no se muestra en la gráfica debido a que ellos no utilizan el proceso de fermentación, utilizan el proceso de desmucilaginado mecánico.

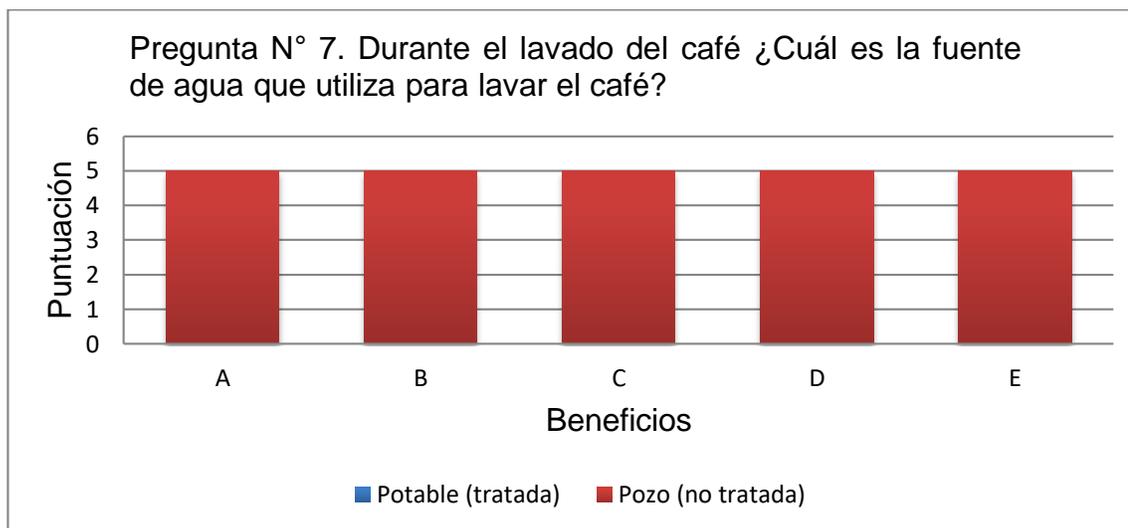


Figura N° 12. Fuente del agua utilizada en el beneficiado.

Todos los beneficiarios utilizan agua de pozo para el lavado del café, que es una agua sin tratamiento químico, y a la cual no se le realiza control de calidad, aumentando la probabilidad de contaminación del café. En los alrededores de los beneficiarios se observaron fosas sépticas, posibles fuentes de contaminación del agua de pozos.

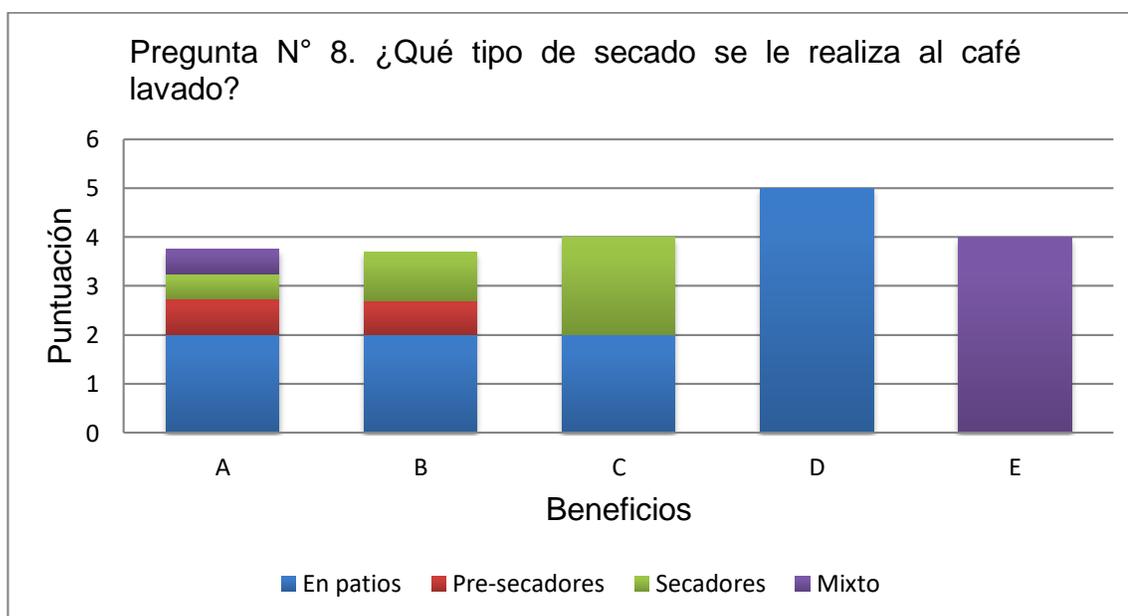


Figura N° 13. Tipo de secado que se le realiza al café lavado.

Los beneficios A, B, C y E presentan alternativas de secado dependiendo de las condiciones climáticas. Todos los beneficios utilizan el secado en patios, ya que el secado mixto utilizado por el beneficio A y E, incluye la utilización de secado en patios más otra alternativa como secadores o pre-secadores, esto dependiendo de las condiciones climáticas y de la demanda de producto. El secado en patios es el que mayor riesgo de contaminación con hongos y Ocratoxina A, debido a la falta de control de parámetros como temperatura y humedad del ambiente, el contacto con el suelo y el efecto del cambio climático.

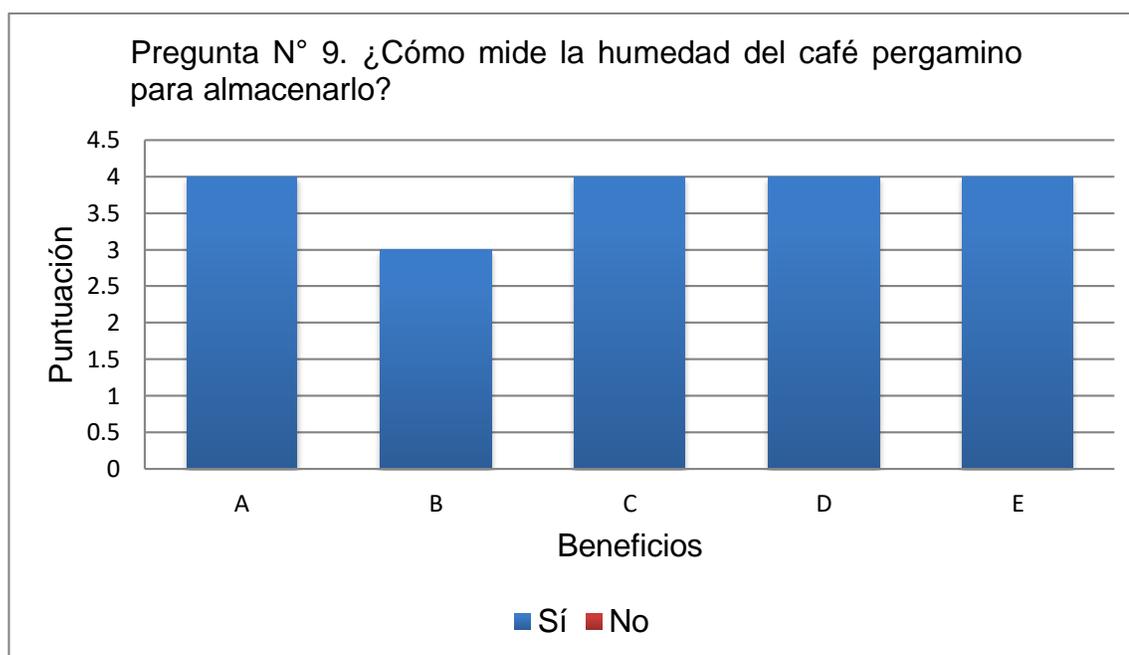


Figura N° 14. Medición de la humedad del café.

Los cinco beneficios miden la humedad del grano de café para su posterior almacenamiento, los cinco beneficios utilizan un equipo en el que se selecciona el tipo de grano que se va analizar, se introducen alrededor de 25.0 g de café y el equipo les proporciona el dato de la cantidad de humedad que contienen verificando que no sobrepase el 12% de humedad, límite máximo permitido para el café pergamino, sin embargo solo el B lleva registros de estas mediciones.

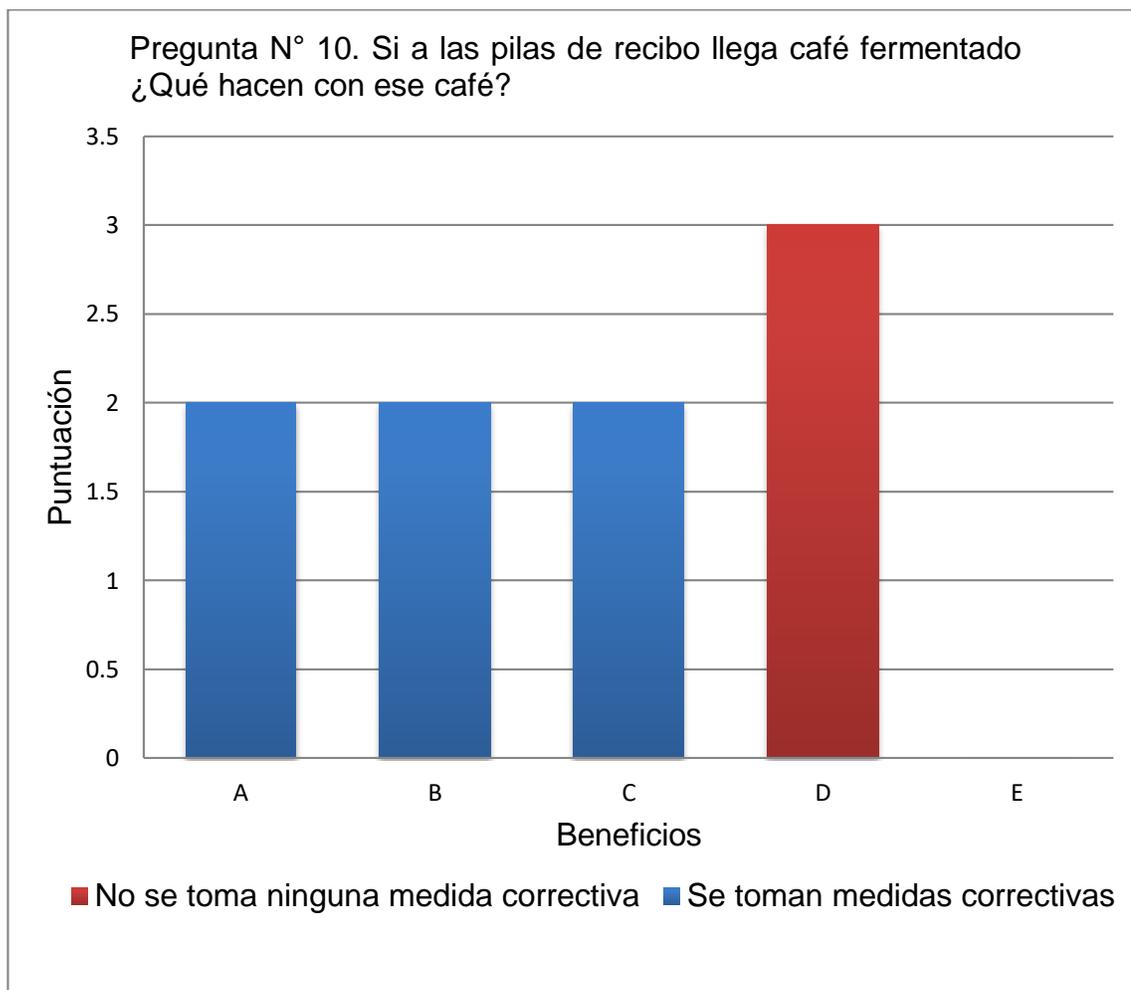


Figura N° 15. Acciones frente al café fermentado.

Tres beneficios tienen medidas correctivas en la cual si llegaba café fermentado a las pilas de recibo, se procedía a cambiar el beneficiado húmedo por el beneficiado seco donde se transporta el café a los patios de secado para continuar con su respectivo proceso, solo el beneficio D no contaba con ninguna acción correctiva. El beneficio E no se muestra en la gráfica debido a que ellos no utilizan el proceso de fermentación.

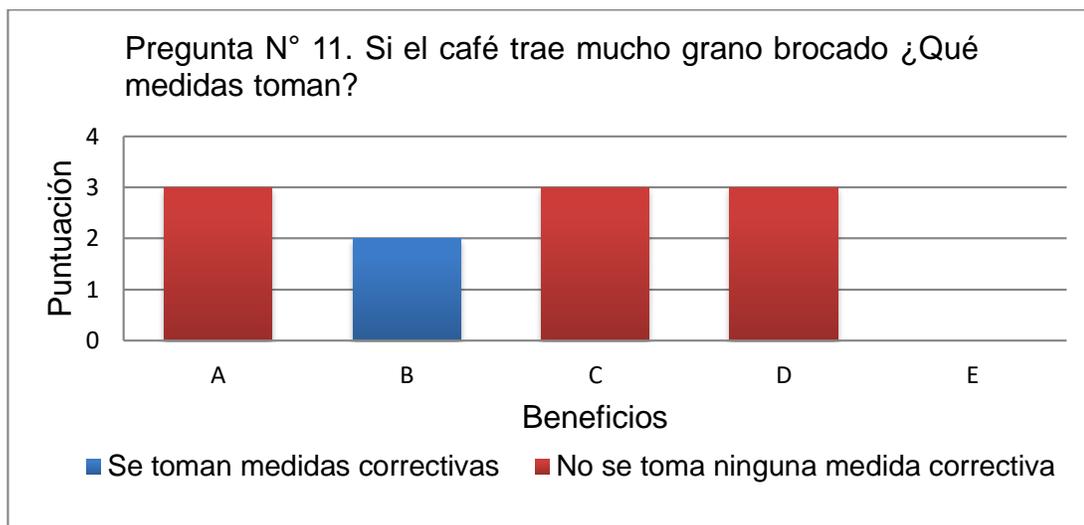


Figura N° 16. Acciones correctivas en el caso de recibir mucho grano brocado.

El beneficio A, C y D utilizan como medida correctiva pilas de flotación en las cuales el café que esta brocado va a flotar y así pueden realizar una separación del grano dañado. El beneficio B no tenía ninguna acción correctiva frente a este problema, por lo cual no se realiza una separación del grano de café brocado en caso de que este llegara a las pilas de recibo. El beneficio E no se muestra en la gráfica debido a que ellos no utilizan el proceso de fermentación.

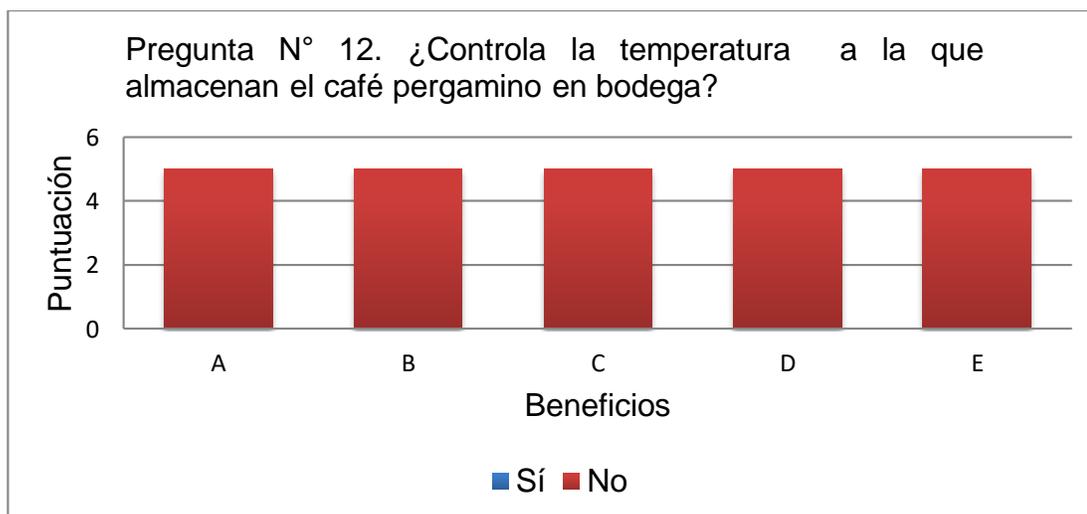


Figura N° 17. Control de la temperatura en la bodega.

El almacenamiento del café se realiza en café pergamino debido a que esta capa proporciona un menor deterioro del grano de café. Ningún beneficio tenía las estructuras y equipos indicados para el control de temperatura en las bodegas donde almacenan el café, parámetro importante para el crecimiento de hongos y producción de Ocratoxina A.

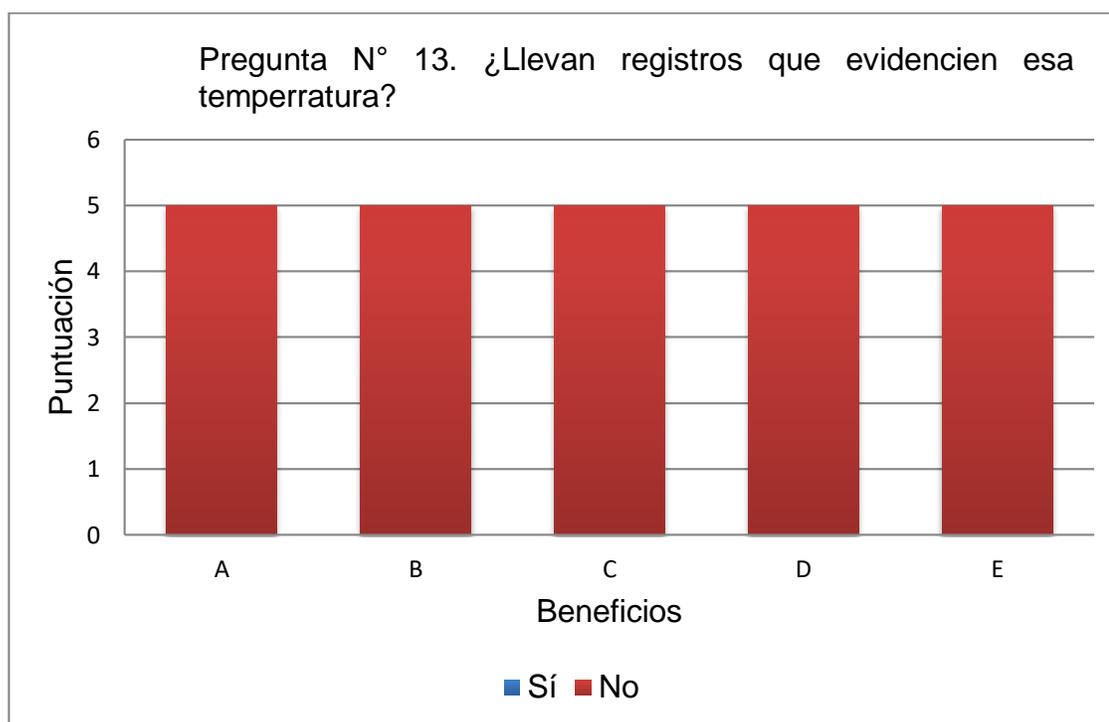


Figura N° 18. Registros que evidencia el control de temperatura.

Ninguno de los cinco beneficios tiene registros de temperatura, ya que no la controlan en el almacenamiento del café pergamino.

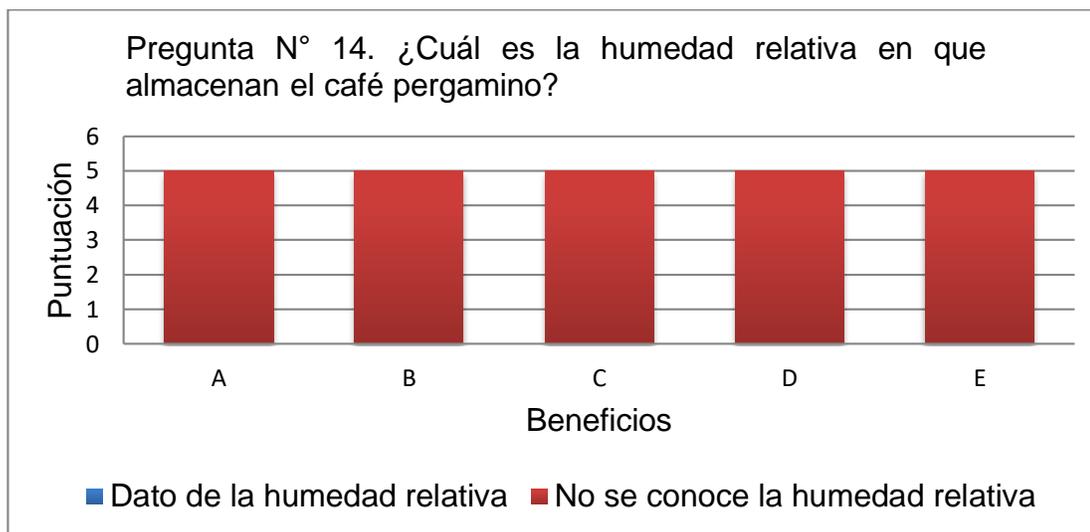


Figura N° 19. Humedad de almacenamiento del café.

Ningún beneficio tenía las estructuras y equipos indicados para el control de humedad relativa en las bodegas donde almacenan el café, se almacena a humedad ambiente. Parámetro que es importante para el crecimiento de hongos y producción de Ocratoxina A.

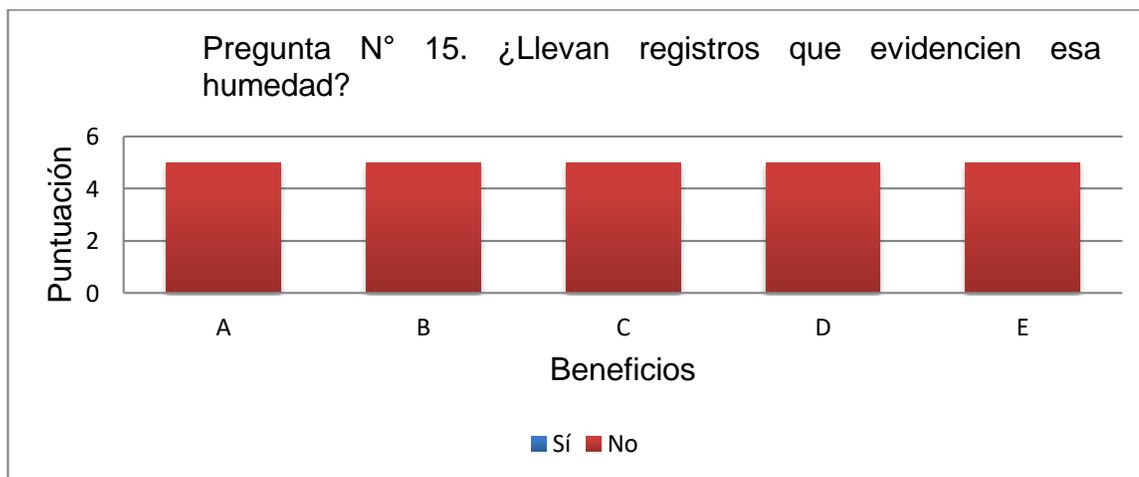


Figura N° 20. Registro de humedad durante el almacenamiento del café.

Los cinco beneficios carecen de registros, ya que no controlan la humedad de almacenamiento del café pergamino.

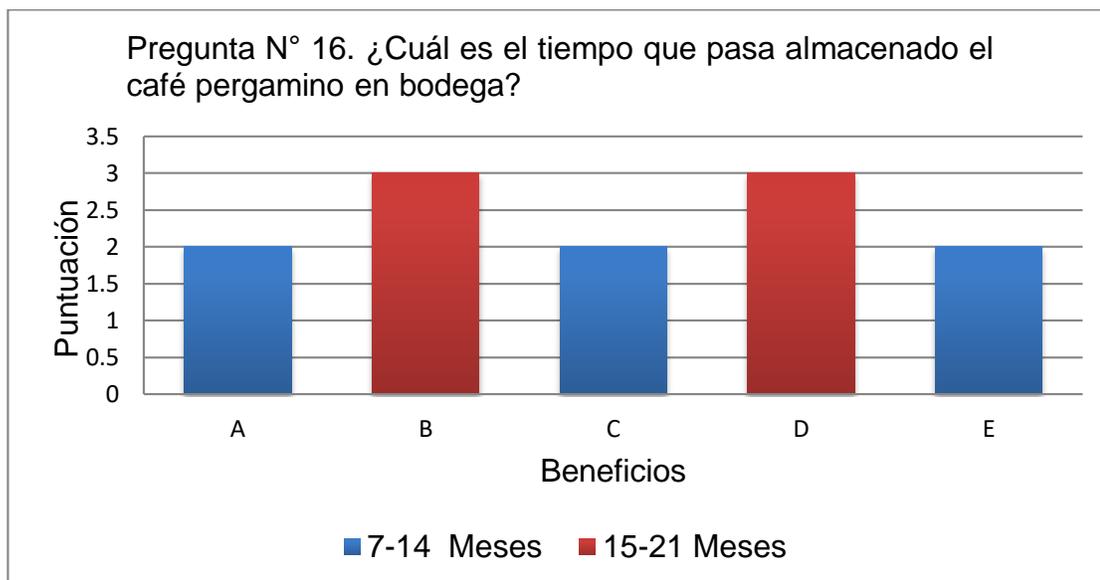


Figura N° 21. Tiempo en el que permanece almacenado el café pergamino en bodega.

Los beneficios B y D almacenan el café en un tiempo desde quince a veintiún meses. Esto representa un mayor riesgo de contaminación con hongos y Ocratoxina A porque los beneficios no tienen controles de temperatura y humedad relativa en el almacén.

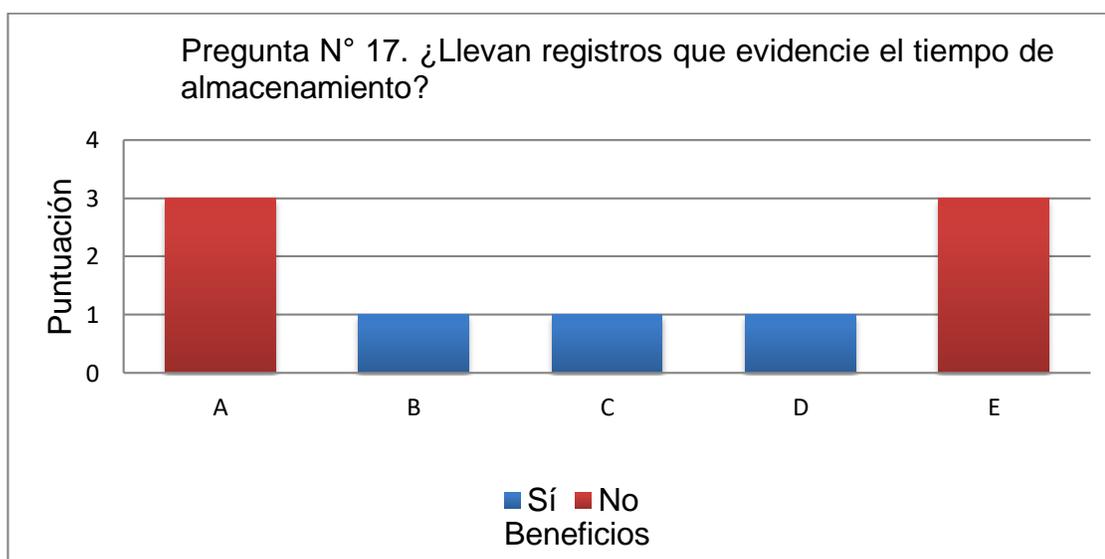


Figura N° 22. Registros del tiempo de almacenamiento del café en bodega.

Los beneficios A y E no tenían registros que evidenciaban el tiempo de almacenamiento de café, los otros beneficios tenían viñetas en las que mostraban fechas de ingreso, fechas de fermentación y fechas de secado.

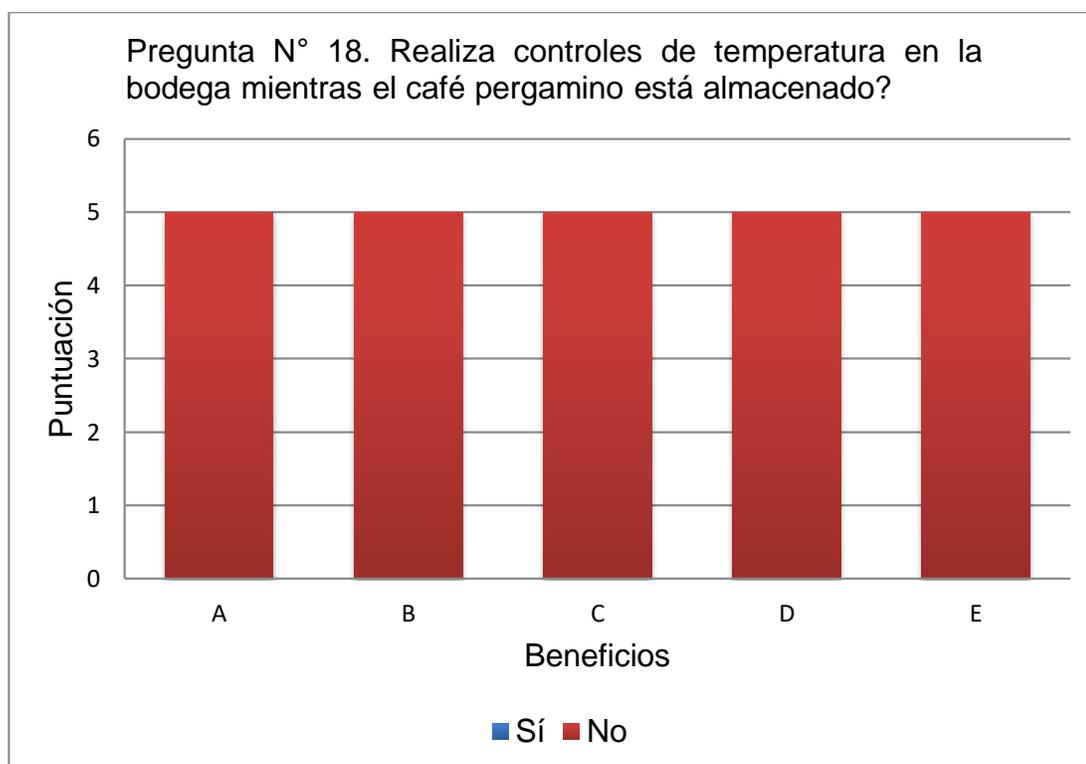


Figura N° 23. Realización de controles de temperatura durante el almacén del café.

De los cinco beneficios, ninguno realiza controles de temperatura durante el almacenamiento, lo cual representa una mayor probabilidad de contaminación con hongos y Ocratoxina A al no conocer la temperatura proliferación en la que permanece el café.

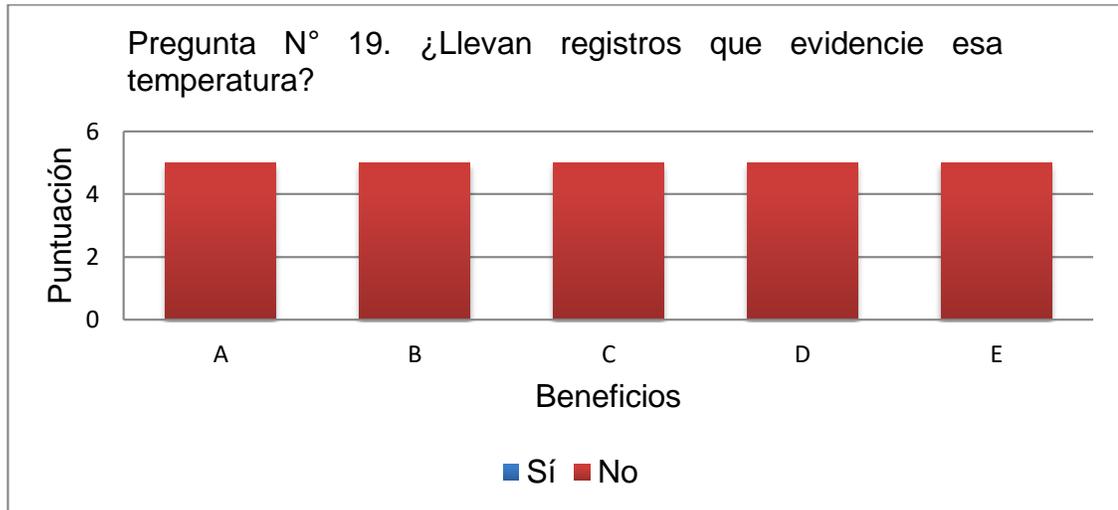


Figura N° 24. Registros de controles de temperatura.

Ningún beneficio lleva registros de temperatura debido a que no realizan controles de temperatura durante el almacenamiento del café pergamino en bodega.

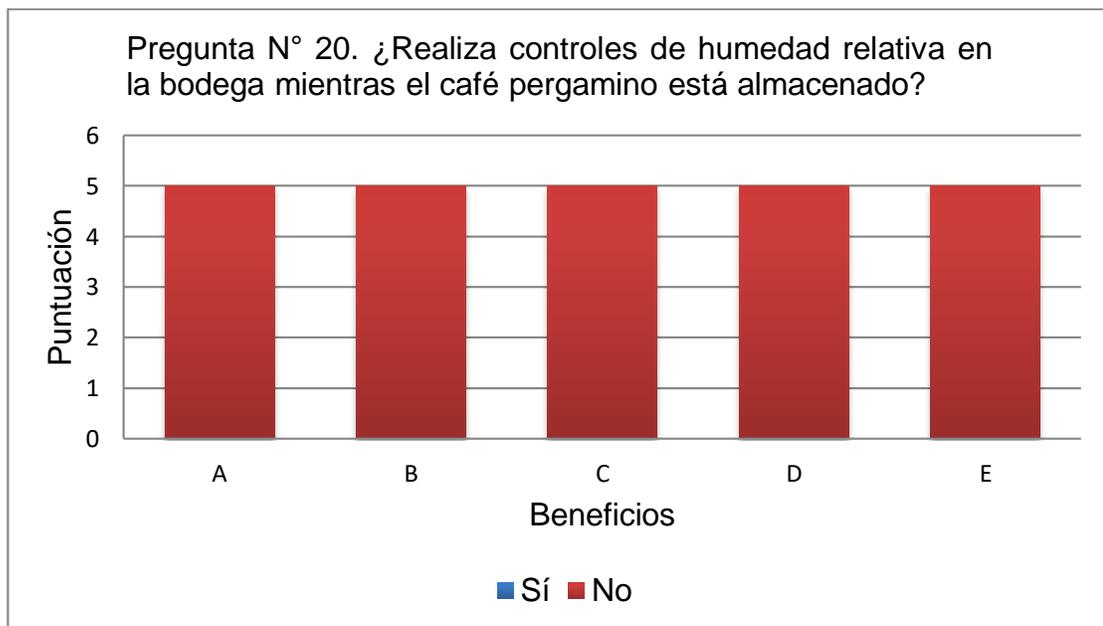


Figura N° 25. Controles de humedad relativa en la bodega.

Ningún beneficio realiza controles de humedad relativa en la bodega durante el almacenamiento del café pergamino

## 5.2. Selección de los dos beneficios con mayor probabilidad de contaminación con OTA.

En la encuesta se tomó como prioridad las preguntas que brindaban información sobre la temperatura y humedad relativa, siendo estos parámetros los de mayor importancia en la proliferación de hongos ocratoxicogénicos y como consecuencia la producción de OTA.

En la tabla N° 3 se observan los puntajes finales obtenidos de la encuesta aplicada a los cinco beneficios, se seleccionaron los beneficios A y D, tomando como criterio los elementos que condicionan la probabilidad de contaminación con OTA como la temperatura y la humedad.

Tabla N° 3. Resultados obtenidos de la encuesta aplicada.

BENEFICIO	PUNTAJE TOTAL
A	82.75
B	77.7
C	81
D	84
E	49

## 5.3. Recolección de las muestras de café en los beneficios seleccionados.

Los beneficios almacenan el café pergamino en sacos apilados sobre una tarima

de madera. Se recolectaron 14 muestras aleatoriamente de 1 Kg de café distribuidas en tres estratos de los beneficios A y D, las cuales fueron codificadas según beneficios por cada estrato en los beneficios seleccionados..

#### 5.4. Análisis de humedad en los granos de café tostado.

##### 5.4.1. Resultados de la determinación de humedad.

Tabla N° 4. Resultados de la determinación de humedad del Beneficio A por estrato

BENEFICIO A		
ESTRATO	MUESTRAS	HUMEDAD (%)
ESTRATO ALTO	EAM1	0.6
	EAM2	0.7
	EAM1-3	0.7
	EAM2-4	1.0
ESTRATO MEDIO	EMM1	0.6
	EMM2	1.3
	EMM3	0.9
	EMM1-4	1.0
	EMM2-5	0.7
ESTRATO BAJO	EBM1	0.8
	EBM2	0.9
	EBM3	1.1
	EBM1-4	0.6
	EBM2-5	0.9

Codificación de las muestras:

- EAM = Estrato Alto Muestra, seguido de su número correlativo.
- EMM = Estrato Medio Muestra, seguido de su número correlativo.
- EBM = Estrato Bajo Muestra, seguido de su número correlativo.

Tabla N° 5. Resultados de la determinación de humedad del Beneficio D por estrato

BENEFICIO D		
ESTRATO	MUESTRAS	HUMEDAD (%)
ESTRATO ALTO	EAM1	0.5
	EAM2	0.8
	EAM3	0.5
	EAM1-4	0.6
ESTRATO MEDIO	EMM1	0.9
	EMM2	0.5
	EMM3	0.6
	EMM1-4	0.7
	EMM2-5	0.5
ESTRATO BAJO	EBM1	0.9
	EBM2	0.7
	EBM3	0.8
	EBM1-4	0.7
	EBM2-5	0.6

Codificación de las muestras:

- EAM = Estrato Alto Muestra, seguido de su número correlativo.
- EMM = Estrato Medio Muestra, seguido de su número correlativo.
- EBM = Estrato Bajo Muestra, seguido de su número correlativo.

El cálculo de promedio y desviación estándar de las muestras de humedad por estrato de cada beneficio se realizó en el programa Excel. (Ver anexo N° 8)

Tabla N° 6. Resumen de los resultados obtenidos de la determinación de humedad de los granos de café del Beneficio A por estrato.

<b>Beneficio A</b>	
<b>Estrato</b>	<b>HUMEDAD (%) CAFÉ TOSTADO*</b>
<b>Estrato alto</b>	0.75 ± 0.1732
<b>Estrato medio</b>	0.9±0.2739
<b>Estrato bajo</b>	0.86±0.1817

\*Promedio ± Desviación estándar.

Según el resultado de humedad del grano de café del beneficio A, el mayor porcentaje de humedad es del estrato medio y el de menor porcentaje fue el del estrato alto (ver tabla N° 6), al estar en una posición más alta del almacén el calor que le transmitía el techo de aluminio era mayor.

Tabla N° 7. Resumen de los resultados obtenidos de la determinación de humedad de los granos de café del Beneficio D por estrato.

<b>Beneficio D</b>	
<b>Estrato</b>	<b>Humedad (%) café tostado</b>
<b>Estrato alto</b>	0.6 ± 0.1414
<b>Estrato medio</b>	0.64±0.1673
<b>Estrato bajo</b>	0.74±0.1140

\*Promedio ± Desviación estándar.

El café analizado del estrato bajo del beneficio B es el que mayor porcentaje de humedad contenía debido al estar en la posición más baja y en contacto con el

suelo (ver tabla N° 7) y el de menor porcentaje fue el del estrato alto, al estar en una posición más alta del almacén el calor que le transmitía el techo de aluminio era mayor.

El proceso de determinación de humedad se realizó de acuerdo a lo descrito en el numeral 4.4.3.2.

#### **5.4.2. Análisis estadístico de análisis de varianza de un factor (ANOVA), del parámetro humedad en los granos de café.**

**Hipótesis nula:** el promedio del porcentaje de humedad en los dos beneficios es igual con 95% de confiabilidad.

**Hipótesis alterna:** en al menos uno de los beneficios el promedio del porcentaje de humedad es distinto, con 95% de confiabilidad.

Nivel de confianza: 95%

Alfa: 0.05 (5%).

Tabla N° 8. Datos obtenidos al aplicar ANOVA a los resultados de humedad.

Orígenes de las variaciones	Suma de los cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
<b>Entre los grupos</b>	0.22321428	1	0.2232	6.86	0.015	7.721254
<b>Dentro de los grupos</b>	0.84642857	26	0.0325			
<b>Total</b>	1.06964285	27				

En la tabla N° 8 se observan los resultados del ANOVA aplicado a los datos de

humedad. El valor de  $P$  obtenido, es menor a 0.05, por lo que se rechaza la hipótesis nula, aceptando la diferencia significativa de los resultados de humedad entre los dos beneficios.

Según los resultados de la determinación de humedad de los granos de café tostado (Tabla N° 4 y 5) existe diferencia entre las medias de los dos beneficios, de esta forma se rechaza la hipótesis nula, aceptándose la hipótesis alterna, sin embargo los datos que se obtuvieron cumplen con lo requerido por Norma Salvadoreña Obligatoria 67.31.01:03 que establece un límite de 3 %. Los datos obtenidos de humedad de las muestras colectadas en sacos ubicados en el estrato bajo sugieren que en esta ubicación del almacenaje es posible una mayor acumulación de humedad.

#### 5.5. Determinación de Ocratoxina A (OTA).

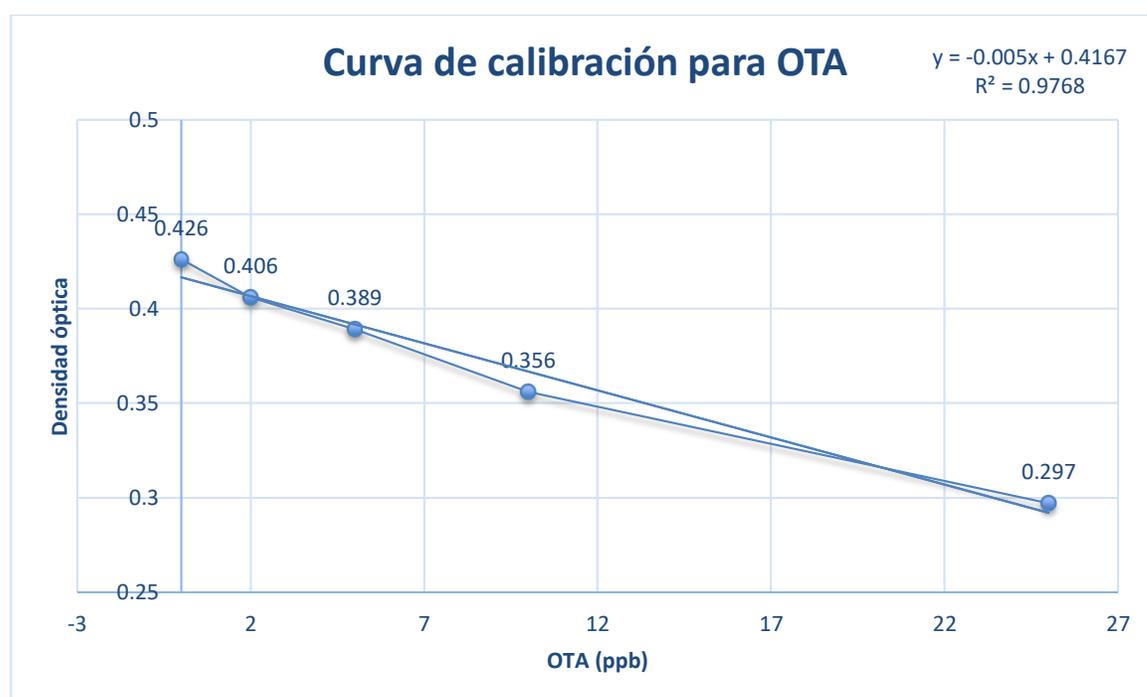


Figura N° 26. Curva de calibración para OTA.

Tabla N° 9. Resultados de la determinación de Ocratoxina A en café tostado molido del Beneficio A por estrato.

<b>Muestras del Beneficio A</b>			
ESTRATO	MUESTRAS	Ocratoxina A (ppb)	
		Primer análisis	Segunda análisis
ESTRATO ALTO	EAM1	< 1 ppb	< 1 ppb
	EAM2	< 1 ppb	< 1 ppb
	EAM3	< 1 ppb	< 1 ppb
	EAM4	< 1 ppb	< 1 ppb
ESTRATO MEDIO	EMM1	< 1 ppb	< 1 ppb
	EMM2	< 1 ppb	< 1 ppb
	EMM3	< 1 ppb	< 1 ppb
	EMM4	< 1 ppb	< 1 ppb
	EMM5	< 1 ppb	< 1 ppb
ESTRATO BAJO	EBM1	< 1 ppb	< 1 ppb
	EBM2	< 1 ppb	< 1 ppb
	EBM3	< 1 ppb	< 1 ppb
	EBM4	< 1 ppb	< 1 ppb
	EBM5	< 1 ppb	< 1 ppb

En los tres estratos las muestras de café tostado y molido, analizadas por ELISA provenientes del beneficio A, dieron como resultado menor al límite de detección del equipo siendo este de 1ppb.

Tabla N° 10. Resultados de la determinación de Ocratoxina A en café tostado y molido del Beneficio D por estrato.

<b>Muestras del Beneficio D</b>			
ESTRATO	MUESTRAS	Ocratoxina A (ppb)	
		Primer análisis.	Segundo análisis
ESTRATO ALTO	EAM1	< 1 ppb	< 1 ppb
	EAM2	< 1 ppb	< 1 ppb
	EAM3	< 1 ppb	< 1 ppb
	EAM4	< 1 ppb	< 1 ppb
ESTRATO MEDIO	EMM1	< 1 ppb	< 1 ppb
	EMM2	< 1 ppb	< 1 ppb
	EMM3	< 1 ppb	< 1 ppb
	EMM4	< 1 ppb	< 1 ppb
	EMM5	< 1 ppb	< 1 ppb
ESTRATO BAJO	EBM1	< 1 ppb	< 1 ppb
	EBM2	< 1 ppb	< 1 ppb
	EBM3	< 1 ppb	< 1 ppb
	EBM4	< 1 ppb	< 1 ppb
	EBM5	< 1 ppb	< 1 ppb

En los tres estratos las muestras de café tostado y molido, analizadas por ELISA provenientes del beneficio D, dieron como resultado menor al límite de detección del equipo siendo este de 1ppb.

Codificación de las muestras:

- EAM = Estrato Alto Muestra, seguido de su número correlativo.
- EMM = Estrato Medio Muestra, seguido de su número correlativo.
- EBM = Estrato Bajo Muestra, seguido de su número correlativo.

El proceso de determinación de extracción se realizó de acuerdo a lo descrito en el numeral 4.4.4.1. (Ver Anexo N° 4). El proceso de determinación de OTA se realizó de acuerdo a lo descrito en el numeral 4.4.5.2. (Ver Anexo N° 5).

CAPITULO VI  
CONCLUSIONES

## **6.0. CONCLUSIONES.**

1. La temperatura y la humedad relativa, factores críticos que no presentaron control durante el beneficiado, sugiriendo una probable contaminación por mohos toxigénicos.
2. Las muestras de café analizadas cumplen con el contenido de humedad requerido por la Norma Salvadoreña Obligatoria (NSO) 67.31.01:03, siendo este un factor importante en la calidad, así como para el crecimiento de hongos y producción de OTA.
3. El café producido en los beneficios A y D presentaron mayor probabilidad de contaminación con OTA, sin embargo, los resultados obtenidos en todas las muestras analizadas por duplicado son menor a 1 pbb cumpliendo con el límite de OTA permitido por la Unión Europea y la FAO de 5 ppb.
4. Los resultados del análisis de OTA de los beneficios A y D, indican que las condiciones actuales de procesamiento de beneficiado, aunque son mejorables, no están influyendo adversamente en la calidad toxicológica del producto.

CAPITULO VII  
RECOMENDACIONES

## **7.0.RECOMENDACIONES.**

1. Realizar la cuantificación de OTA, por un equipo de cromatografía líquida de alta eficacia, para verificar las trazas de OTA corroborando con esto si existe ausencia de esta toxina.
2. Implementar un sistema de Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control (APPCC o HACCP, por sus siglas en inglés) durante el proceso de beneficiado, para reducir el peligro de contaminación con OTA.
3. Establecer controles de temperatura y humedad relativa durante el proceso de almacenamiento del café, así como un registro que evidencie los controles.
4. Mejorar la calidad sanitaria del agua utilizada durante todo el proceso de beneficiado.

## BIBLIOGRAFIA

1. Amézqueta, S., González-Peñas, E., Dachoupakan, C., Murillo-Arzuhi, M., López de Cerain, A., & Guiraud, J. P. (2009). Ochratoxin A decontamination: a review. *Food Control*, 20, 326-333.
2. Amézqueta, 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.
3. Anacafe. (s.f.). Despulpado. Obtenido de [https://www.anacafe.org/glifos/index.php/BeneficiadoHumedo\\_Despulpado](https://www.anacafe.org/glifos/index.php/BeneficiadoHumedo_Despulpado).
4. Camargo, M. B. (2010). The impact of climatic variability and climate change on Arabic coffee crop in Brazil. *Bragnatia*, 69, 239-247.
5. Consejo Salvadoreño del Café. (s.f.). Control de Calidad. Obtenido de <http://www.csc.gob.sv/control-de-calidad/>.
6. Contreras Escobar, N. E., & Santos Mayorga, O. A. (2012). Determinación del análisis bromatológico y fitoquímico preliminar de los extractos acuosos y etanólicos de inflorescencia de *Calathea allouia* (Aubl.) Lindl. (CHUFLE), frutos de *Bromelia karatas* (PIÑUELA) y flor de Cucurbita pepo L. (Flor de Ayote). Tesis Lic. Química y Farmacia. San Salvador, Universidad de El Salvador, Facultad de Química y Farmacia, El Salvador.
7. E.C., European Commission. (2006). COMMISSION REGULATION (EC) No 1881/2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. Official Journal of the European Union.

8. Equipos.[https://www.equiposlaboratorio.com/sitio/contenidos\\_mo.phpit=6282](https://www.equiposlaboratorio.com/sitio/contenidos_mo.phpit=6282). Recuperado el 15 de enero de 2018.
9. FAO. (2004). Reglamentos a nivel mundial para las micotoxinas en alimentos y en las raciones en el año 2003.
10. FAO, F. b. (2009b). CÓDIGO DE PRÁCTICAS PARA PREVENIR Y REDUCIR LA CONTAMINACIÓN DE OCHRATOXINA A EN EL CAFÉ. Obtenido de [www.fao.org/input/download/standard/11250/CXP\\_069s.pdf](http://www.fao.org/input/download/standard/11250/CXP_069s.pdf).
11. Federación Española del café. (s.f.). Café, ciencia y salud. Boletín informativo sobre la investigación científica del café y la salud. Obtenido de <http://www.federacioncafe.com/Documentos/CafeYSalud/Otros/issue%202%20newslet.pdf>.
12. Galindo Veliz, X. R., & Muñoz Lozano, M. (2011). Producción e Industrialización de Café Soluble Caso: Solubles instantáneos. Universidad de Guayaquil, Facultad de Ciencias Economicas, 55-58.
13. Garza Hernández, J. A. (2012). Caracterización de la Cadena Agroproductiva del Café en El Salvador. Proyecto Plan de Agricultura Familiar - Cadenas Productivas MAG-IICA, 1-77.
14. Geremew, T., Abate, D., Landschoot, S., Haesaert, G., & Audenaert, K. (2016). Occurrence of toxigenic fungi and ochratoxin A in Ethiopian coffee for local consumption. *Food Control*, 69, 65-73.
15. Heussner, A.H.; Bingle, L.E. (2015). Comparative Ochratoxin toxicity: A review of the available data. *Toxins*, 7, 4253–4282.

16. IARC. (1983). IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Some Food Additives, Feed Additives and Naturally Occurring Substances, 31.
17. IARC. (1993). Ochratoxin A. 1-33.
18. ICO, Obtenido de [http://www.ico.org/ES/field\\_processingc.asp](http://www.ico.org/ES/field_processingc.asp).
19. Magan, N., Medina, A., & Aldred, D. (2011). Possible climate-changes effects on mycotoxin contamination of food crops pre- and postharvest. *Plant Pathology*, 60, 150-163.
20. MAG-DYGESTIC. (2009). IV Censo Agropecuario 2007-2008.
21. Medina B., J. C., & Castillo, E. (2015). FAO. Determinación de Micotoxinas por Medio de Ensayos Inmunoquímicos. Obtenido de <http://www.fao.org/docrep/field/003/ab482s/AB482S15.htm>.
22. Muzaffer T., Elif M., Ulk"u D., Tufan G. (2014). HPLC fluorescence determination of ochratoxin A utilizing a double internal standard and its application to poultry feed. *Turkish Journal of Chemistry*. 373.
23. Neogen Corporation. (2012). Handbook Mycotoxin. Third Edition. 1-24.
24. NSO, N. S. (2003). ESTANDARES DE CALIDAD PARA EL CAFE DE COMERCIALIZACION NACIONAL E INTERNACIONAL.
25. NSO, N. S. (2004). ESTANDARES DE CALIDAD. CAFÉ TOSTADO EN GRANO Y CAFÉ TOSTADO Y MOLIDO.

26. Paterson, R. R., & Lima, N. (2010a). How wil climate change affect mycotoxin in food?. *Food Research International*, 43, 1902-1914.
27. Paterson, R. R., & Lima, N. (2011). Further mycotoxin effects from climate change. *Food Research International*, 44, 2555-2566.
28. Paterson, R. R., & Lima, N. (2012 October 10-13thh). Climate change, fumonisins and animal feed. *NutriEconomics: Balancing global nutrition and productivity*, 241-247.
29. Paterson, R. R., & Lima, N. (2013). Biochemical mutagens affect the preservation of fungi and biodiversity estimations. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 97, 77-85.
30. Paterson, R. R., Lima, N., & Taniwaki, M. H. (2014). Coffee, mycotoxins and climate change. *Food Research International*, 61, 1-15.
31. Puerta Q., G. I. (2009). Efecto de enzimas pectolíticas en la remoción del mucílago de *Coffea arabica* L. segun el desarrollo del fruto. *Cenicafé*, 60(4).
32. Puerta Quintero, G. I. (2012). Factores, Procesos y Controles en la Fermentación del Café. *Ciencia y tecnología e innovación para la caficultura colombiana*, 2-4.
33. Ramírez Prada, D. (2010). Café, Cafeína vs. Salud. Revisión de los efectos de café en la salud. *Centro de estudios en salud*, 1(12), 156-167.
34. Ravelo Abreu, A., Rubio Armendáriz, C., Gutiérrez Fernández, A. J., &

Hardisson de la Torre, A. (2011). La ocratoxina A en alimentos de consumo humado: revisión. *Nutrición Hospitalaria*, 1215-1226.

35. Rodríguez-del-Bosque, L. A., & Arredondo-Bernal, H. C. (2007). *Teoría y Aplicación del Control Biológico*. México: Sociedad Mexicana de Control Biológico.
36. Rojo Jimenez, E., & Perez-Urria, E. (2014). Café I (*G. Coffea*). *REDUCA Biología*, 7(2), 113-132.
37. Ruíz, J., Romano, R., Barrionuevo, S., & Barbeito, M. (2011). Inmunoensayo Enzimático (ELISA) Competitivo para el Análisis Cuantitativo de Ocratoxina A en Vinos. *Biopharma Latinoamérica*, 2.
38. Tamás K., Miklós P. (2016). Ochratoxin A: Molecular Interactions, Mechanisms of Toxicity and Prevention at the Molecular Level. *Toxins*. Vol. 8.
39. Termis-Pérez, A. L., López-Malo, V. A., & Sosa-Morales, M. E. (2011). Producción de café (*Coffea arabica* L.): cultivo, beneficio, plagas y enfermedades. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*, 5(2), 54-74.

## GLOSARIO (24: 25)

1. **Café:** término general que se utiliza para los frutos y las semillas de las plantas del género COFFEA, de ordinario las especies cultivadas, así como los productos procedentes de estos frutos y semillas en diversas etapas del procesamiento y uso, con destino al consumo.
2. **Arábica:** café de la especie botánica Coffea arábica Linnaeus. Especie producida en El Salvador. Variedades de la Especie arábica: Bourbon, Pacas, Pacamara, Catimor, Catuai, Maragogipe, entre otras.
3. **Café en Uva:** el fruto maduro del café de color rojo después de ser cortado, a la cual no se le ha quitado la cáscara, ni procesado en ninguna forma.
4. **Café Verde o Inmaduro:** el fruto de café que no ha alcanzado a madurar y que tiene color verde y cuando se corta en dicho estado es procesado por medio del beneficiado seco.
5. **Café en Pergamino:** café lavado (procesado por vía húmeda) al cual no se le ha quitado la película marfil (endocarpio) que cubre el grano.
6. **Café en Cereza:** fruto del café que se ha dejado secar y al cual no se le ha separado la cáscara seca. Algunas veces se le llama “Café en cereza seca”.
7. **Café en Oro:** expresión equivalente a “Green Coffee”. Es el grano o semilla del café al cual se le han quitado las diversas capas que lo cubren. Se llama almendra, café verde, green coffee, café crudo. En este estado ya está listo para su torrefacción.

8. **Café Oro Fino:** granos de café, procesados por vía húmeda y seca, clasificados por su procedencia, en base a su peso, tamaño, apariencia y taza.
9. **Beneficiado de Café:** proceso que consiste en eliminar del fruto de café todas las partes que cubren el grano o semilla. Dicho proceso se puede realizar mediante vía húmeda o vía seca.
10. **Proceso en Húmedo o Vía Húmeda:** tratamiento de las cerezas de café que consiste en la eliminación mecánica del exocarpio en presencia de agua, eliminación de todo el mesocarpio por fermentación u otros medios y el lavado seguido por secado para producir café pergamino; este pergamino se elimina después para producir café oro. Método de Beneficiar café vía húmeda consiste de los siguientes Pasos: 1.- Despulpas las cerezas maduras o frutas del café, 2.- Someter a fermentación los granos cubiertos de pergamino, 3.- Lavar y Secar.
11. **Proceso en Seco o Vía Seca:** tratamiento que consiste en secar el fruto del café para obtener café en cereza seca, seguido de la eliminación mecánica de la cáscara (epicardio) para producir café oro.
12. **Café tostado y molido:** producto obtenido de la torrefacción del café en oro y su posterior molienda. El color es un factor de comercialización, el grado se puede clasificar en claro, medio y oscuro.
13. **Torrefacción:** operación que consiste en tostar el café por medio del calor.
14. **Café tostado en grano:** producto obtenido de la torrefacción del café.

15. **Acidez del Café:** característica deseable del café; se dice que un café tiene buena acidez cuando es placentero y fino al paladar, denotando un gusto atrayente y perdurable.

16. **Calidad de Café:** atributo o característica que distingue un café de otro.

17. **Granos Defectuoso:** granos que por su aspecto hacen contraste con el grano bueno.

## **ANEXOS**

## ANEXO N° 1

### BENEFICIOS EXPORTADORES DE CAFÉ (100,000 QQ – 300,00 QQ)

Tabla N° 1. Beneficios con mayor exportación de El Salvador en el periodo de 2011-2016. Adaptado de Consejo Salvadoreño del Café (2016)

Exportador	QQS.
<b><u>De 100,000 hasta 300,000 qq</u></b>	
<b><u>Cosecha 2015/2016</u></b>	
BENEFICIO A	126,531.24
<b><u>Cosecha 2014/2015</u></b>	
BENEFICIO A	148,314.00
BENEFICIO C	120,522.00
BENEFICIO B	104,124.41
<b><u>Cosecha 2013/2014</u></b>	
BENEFICIO A.	126,245.50
<b><u>Cosecha 2012/2013</u></b>	
BENEFICIO A	267,361.51
BENEFICIO C	195,041.64
BENEFICIO B	180,328.51
BENEFICIO D	161,688.01
BENEFICIO E	113,299.78
<b><u>Cosecha 2011/2012</u></b>	
BENEFICIO A	234,670.47
BENEFICIO D	183,367.50
BENEFICIO B	167,943.48
BENEFICIO C	147,267.00
BENEFICIO E	111,120.38

**ANEXO N° 2.**

**FORMATO DE LA ENCUESTA APLICADA A LOS BENEFICIOS.**

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR  
 FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA  
**ENCUESTA A BENEFICIOS DE CAFÉ**

**Objetivo de la encuesta:** Recopilar información sobre eventos y tecnología utilizada en el beneficiado de café que influya sobre la calidad microbiológica fúngica del café oro. Toda la información recibida será manejada confidencialmente, se trabajaran datos grupales y los resultados serán utilizados para la selección de fases de muestreo.

<b>Nombre del beneficio:</b>		<b>Fecha de encuesta:</b>	
<b>Ubicación del Beneficio:</b>	Cantón:	Municipio:	Departamento:
<b>Altura (en Metros):</b>			
<b>Cargo de la persona que responde la encuesta:</b>			
<b>Tipo de café que benefician:</b>			
Bajío	Mediana altura	Estricta altura	
<b>Certificado:</b>			
<b>Tipo de Sello:</b>			

N. o.	Pregunta	Respuesta			
1	En el proceso de beneficiado húmedo ¿Cuál es el método que utiliza para el desmucilaginado del café?	Fermentación	Desmucilaginado mecánico	Otra	
		Por favor explique:			
2	¿Controla la temperatura a la que realiza la fermentación del café?	Si			No
	Si su respuesta es sí ¿Cuál es la temperatura a la que realiza el proceso de fermentación?				
3	De que material están construidas las pilas de fermentación en donde se hace la remoción del mucilago del café				
4	¿Cuánto dura el proceso de fermentación del café?				
5	¿Cuántas veces lava las pilas de fermentación de café en un día de trabajo?				
6	¿Cuántas veces lava el café fermentado?				
7	Durante el lavado del café ¿Cuál es la fuente de agua que utiliza para lavar el café?				
8	¿Qué tipo de secado se le realiza al café lavado?	En patios	Secadores		
Mixto		Pre-secadores			
Otros					
Por favor explique.					

9	¿Cómo mide la humedad del café oro para almacenarlo?				
10	Si a las pilas de recibo llega café fermentado ¿Qué hacen con ese café?				
11	Si el café trae mucho grano brocado ¿Qué medidas toman?				
12	¿A qué temperatura almacenan el café oro en bodega?				
13	¿Llevan registros que evidencian esa temperatura?				
14	¿Cuál es la humedad relativa en que almacenan el café pergamino?				
15	¿Llevan registros que evidencien esa humedad?				
16	¿Cuál es el tiempo que pasa almacenado el café oro en bodega?				
17	¿Llevan registros que evidencie ese tiempo?				
18	¿Realiza controles de temperatura en la bodega mientras el café oro está almacenado?	Si		No	
19	¿Llevan registros que evidencie esa temperatura?				
20	¿Realiza controles de humedad relativa en la bodega mientras el café oro está almacenado?	Si		No	
	Si su respuesta es sí por favor conteste lo siguiente, si es no, por favor pasar a la batería de preguntas sobre el beneficiado del café cerezo seco.				
	¿Cuál es la humedad del grano de café oro para trillarlo?				
	¿Llevan registros que evidencie ese estado de humedad?				
	¿Qué pasa si la humedad del grano no es la adecuada?				

**ANEXO N° 3.**  
**PREPARACIÓN DE REACTIVOS, EQUIPO Y MATERIALES**

## Reactivos

- Solución de metanol con bicarbonato de sodio ( $\text{CH}_3\text{OH}/\text{NaHCO}_3$  1% (p/v)).
- Solución salina buffer fosfato con Tween 20 (PBS/Tween 20).
- Solución salina buffer fosfato (PBS).
- Metano ( $\text{CH}_3\text{OH}$ ).
- Agua destilada ( $\text{H}_2\text{O}$ ).

## Preparación de 100 mL de $\text{CH}_3\text{OH}/\text{NaHCO}_3$ 1% (7:3)

- Pesar 1g de  $\text{NaHCO}_3$  en balanza semianalítica.
- Disolver en aproximadamente 80 mL de agua destilada.
- Transferir a balón de 100.0 mL y aforar con agua destilada.
- Medir 30 mL de la solución preparada anteriormente.
- Colocar en balón de 100.0 mL.
- Aforar con metanol.

## Preparación de 100 mL de PBS

- Colocar en un beaker 150 mL de agua destilada y llevar a ebullición durante
- 5 minutos, al retirar fuente de calor tapar inmediatamente para proteger de la atmósfera (Esta agua se encuentra libre de  $\text{CO}_2$ ).
- Pesar en balanza analítica los siguientes reactivos
  - 0.02 g de KCl
  - 0.02 g de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$
  - 0.116 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$
  - 0.8 g NaCl
- Disolver en aproximadamente 80 mL de agua libre de  $\text{CO}_2$ .

- Utilizando un pH-metro y una solución de HCl 0.1 N (de ser necesaria) ajustar el pH a 7.4

#### **Preparación de 100 mL de PBS/Tween 0.01%**

- Medir en micropipeta 100  $\mu$ L de Tween 20.
- Colocar en balón de 10 mL.
- Aforar hasta la marca con agua destilada.
- Tomar de la solución anterior 1 mL.
- Colocar en balón de 100 mL.
- Aforar con PBS.

#### **Metanol**

- Usar reactivo grado ACS

#### **Equipo y materiales**

- Balanza semianalítica.
- Hot Plate.
- Agitador magnético.
- Jeringa de 50.0 mL
- Columna de inmunoafinidad para ocratoxina A.

#### ANEXO N° 4.

#### PROCESO DE EXTRACCIÓN DE OTA.

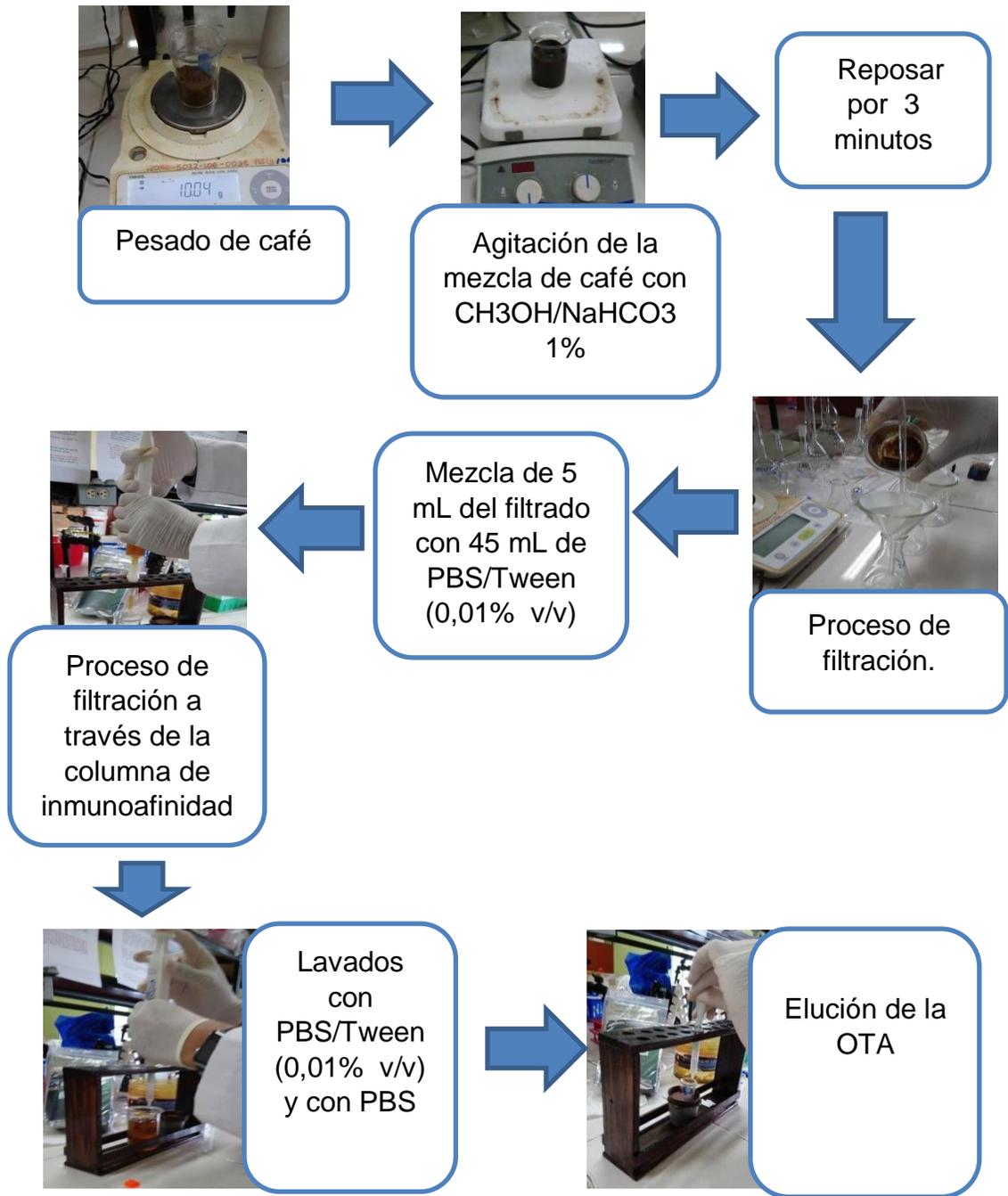


Figura N° 1. Esquema para la extracción de la muestra.

**ANEXO N° 5.**

**PROCEDIMIENTO PARA LA DETERMINACIÓN DE OTA.**

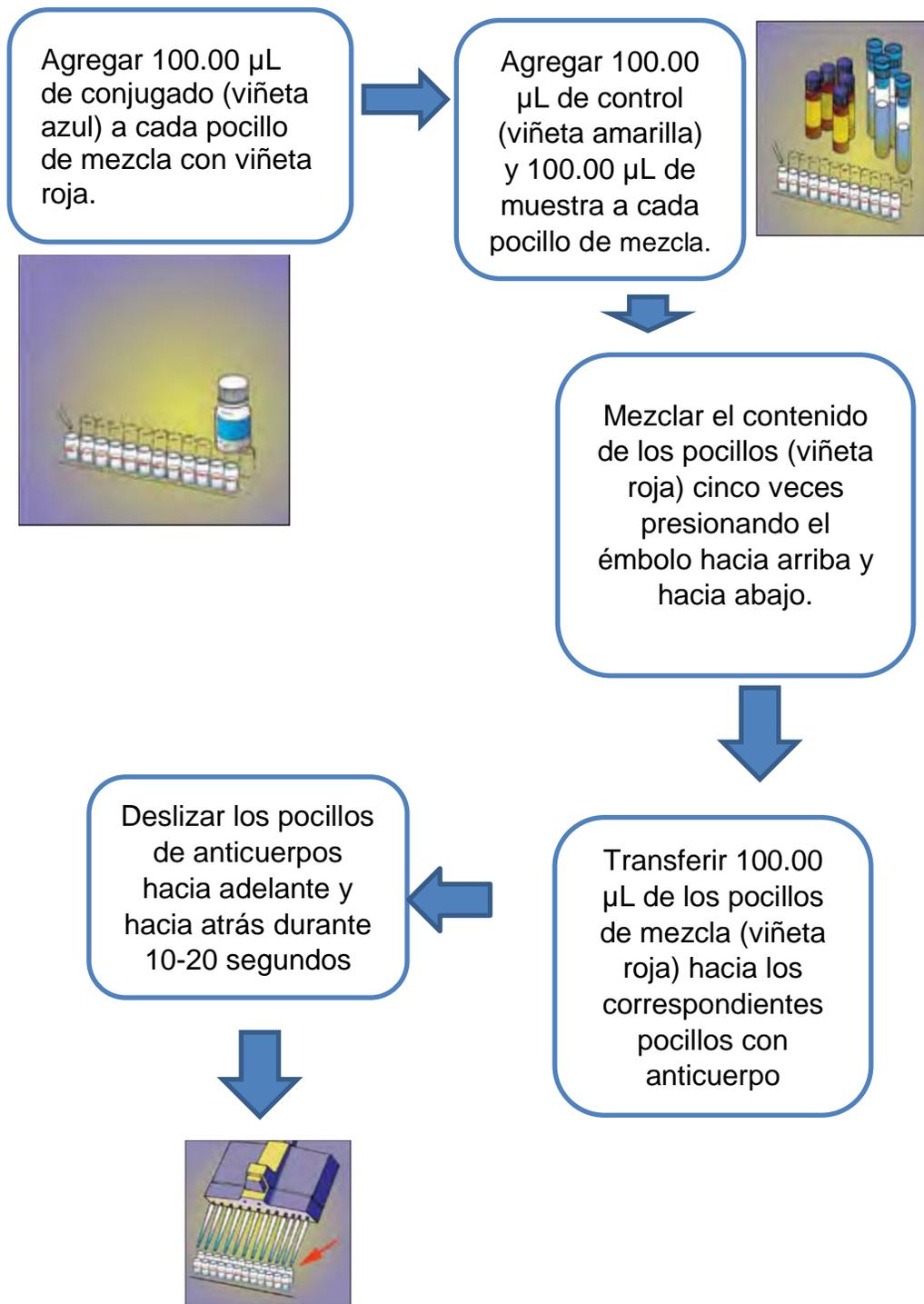


Figura N° 2. Esquema para la determinación de OTA en las muestras de café tostado y molido.

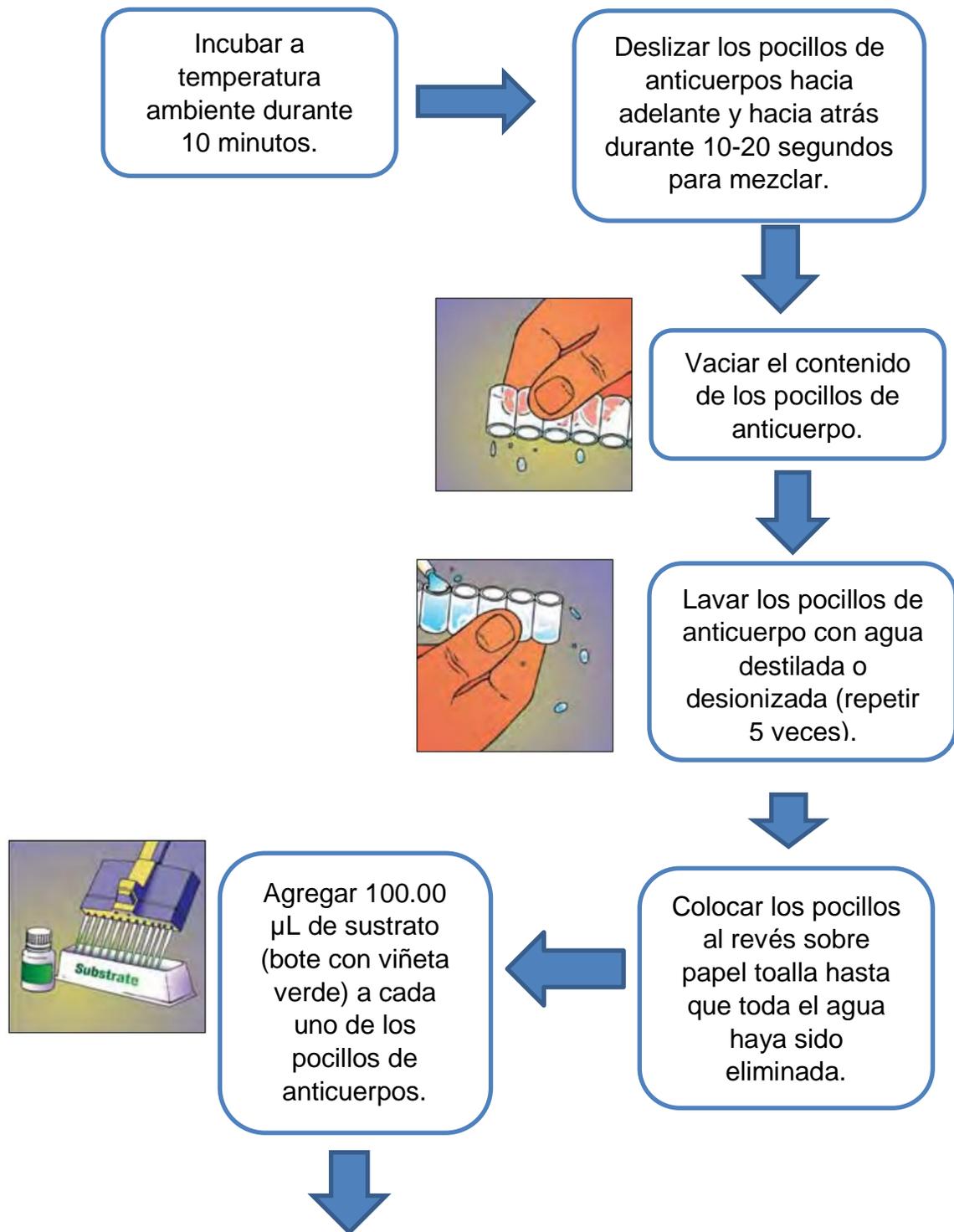


Figura N° 2. Continuación.

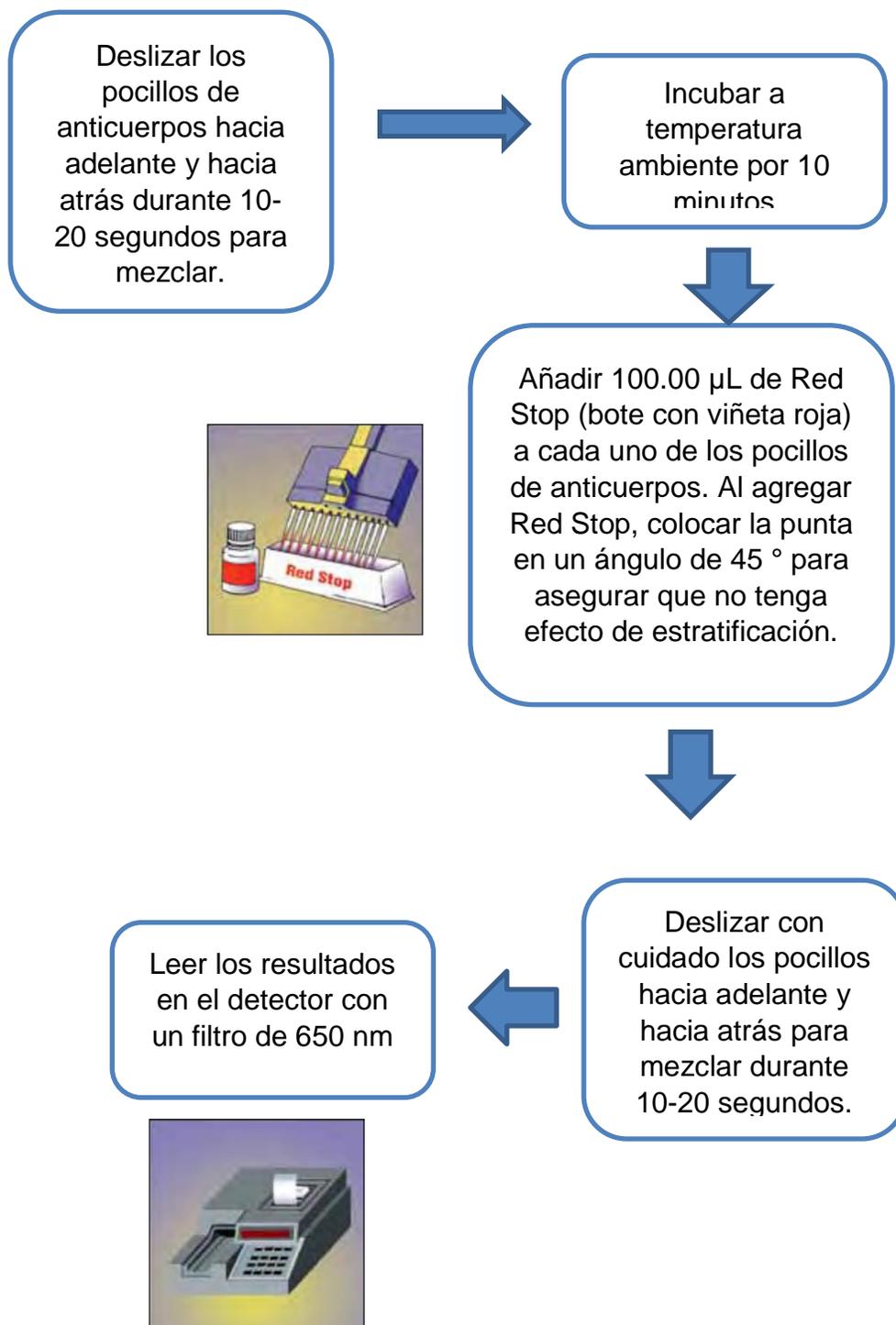


Figura N° 2. Continuación.

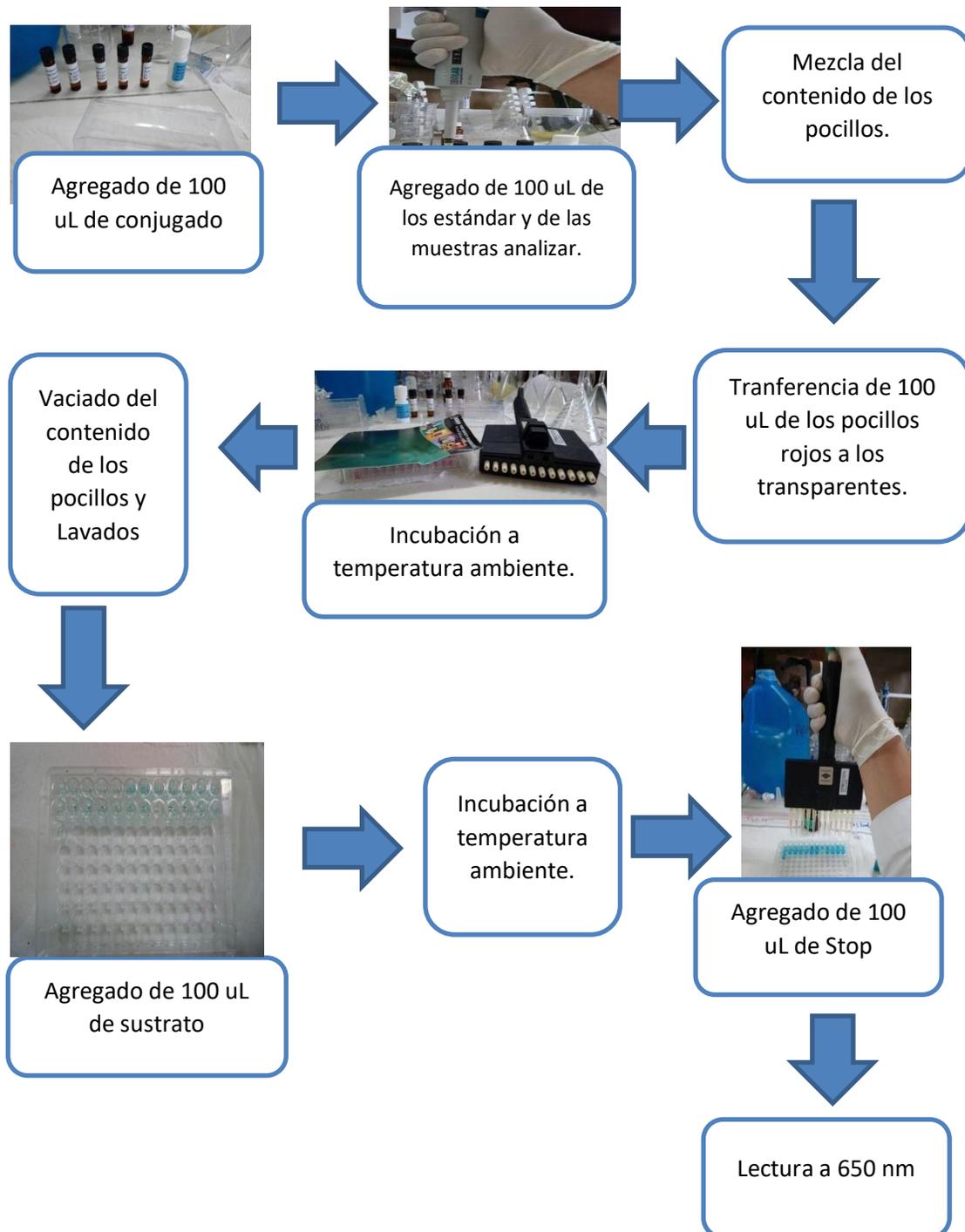


Figura N° 3. Resumen del esquema de determinación de OTA por ELISA.

**ANEXO N° 6.**

**FORMATO DE LA EVALUACIÓN DE LA ENCUESTA.**

### Formato de la encuesta.

	Pregunta	Respuesta	Puntuación asignada	Resultado del beneficio
1	En el proceso de beneficiado húmedo ¿Cuál es el método que utiliza para el desmucilaginado del café?	Fermentación	5	
		Desmucilaginado mecánico	5	
		Otra	5	
2	¿Controla la temperatura a la que realiza la fermentación del café?	Si	3	
		No	5	
3	De que material están construidas las pilas de fermentación en donde se hace la remoción del mucilago del café	Cemento y ladrillo poroso	3	
		Cemento	3	
		Cerámica	1	
4	¿Cuánto dura el proceso de fermentación del café?	6 – 8 horas	2	
		8 – 12 horas	2	
		8 – 20 horas	3	
5	¿Cuántas veces lava las pilas de fermentación de café en un día de trabajo?	1 vez	5	
		Más de una vez	3	

6	¿Cuántas veces lava el café fermentado?	1 vez	5	
		Más de una vez	3	
7	Durante el lavado del café ¿Cuál es la fuente de agua que utiliza para lavar el café?	Potable	3	
		Pozo	5	
8	¿Qué tipo de secado se le realiza al café lavado?	En patios	5	
		Pre-secadores	3	
		Secadores	3	
		Mixto	4	
		Otros	5	
9	¿Cómo mide la humedad del café pergamino para almacenarlo?	Con instrumentos	3	
		No se mide	5	
10	Si a las pilas de recibo llega café fermentado ¿Qué hacen con ese café?	Se toman medidas correctivas	2	
		No se realiza alguna acción	3	
11	Si el café trae mucho grano brocado ¿Qué medidas toman?	se toman medidas de correctivas	2	
		No se realiza alguna acción	3	
12	¿A qué temperatura almacenan el café pergamino en bodega?	Dato de la temperatura	3	
		No se conoce la temperatura	5	
13	¿Llevan registros que evidencia esa temperatura?	Si	3	
		No	5	

14	¿Cuál es la humedad relativa en que almacenan el café pergamino?	Dato de la humedad relativa	3	
		No se conoce la humedad relativa	5	
15	¿Llevan registros que evidencien esa humedad?	Si	3	
		No	5	
16	¿Cuál es el tiempo que pasa almacenado el café pergamino en bodega?	1 – 7 meses	1	
		7 – 14 meses	2	
		14 - 21 meses	3	
17	¿Llevan registros que evidencie ese tiempo?	Si	1	
		No	3	
18	¿Realiza controles de temperatura en la bodega mientras el café pergamino está almacenado?	Si	3	
		No	5	
19	¿Llevan registros que evidencie esa temperatura?	Si	3	
		No	5	
	¿Realiza controles de humedad relativa en la bodega mientras el café pergamino está almacenado?	Si	3	
		No	5	
20	¿Cuál es la humedad del grano de café pergamino para trillarlo?	Humedad alta	5	
		Humedad controlada	3	
	¿Llevan registros que evidencie ese estado de humedad?	Si	3	
		No	5	
	¿Qué pasa si la humedad del grano no es la adecuada?	Se realizan acciones correctivas	3	
		No se realizan acciones correctivas	5	
TOTAL				

**ANEXO N° 7.**

**RESULTADOS DE LAS ENCUESTAS APLICADAS A LOS BENEFICIOS.**

### Resultados del Beneficio A.

	Pregunta	Respuesta	Puntuación asignada	Resultado del beneficio
1	En el proceso de beneficiado húmedo ¿Cuál es el método que utiliza para el desmucilaginado del café?	Fermentación	5	5
		Desmucilaginado mecánico	5	
		Otra	5	
2	¿Controla la temperatura a la que realiza la fermentación del café?	Si	3	
		No	5	5
3	De que material están construidas las pilas de fermentación en donde se hace la remoción del mucilago del café	Cemento y ladrillo poroso	3	3
		Cemento	3	
		Cerámica	1	
4	¿Cuánto dura el proceso de fermentación del café?	6 – 8 horas	2	
		8 – 12 horas	2	2
		8 – 20 horas	3	
5	¿Cuántas veces lava las pilas de fermentación de café en un día de trabajo?	1 vez	5	5
		Más de una vez	3	

6	¿Cuántas veces lava el café fermentado?	1 vez	5	5
		Más de una vez	3	
7	Durante el lavado del café ¿Cuál es la fuente de agua que utiliza para lavar el café?	Potable	3	
		Pozo	5	5
8	¿Qué tipo de secado se le realiza al café lavado?	En patios	5	5
		Pre-secadores	3	3
		Secadores	3	3
		Mixto	4	4
		Otros	5	
9	¿Cómo mide la humedad del café pergamino para almacenarlo?	Con instrumentos	3	Miden la humedad pero no utilizan bitacoras, por eso se le asigna un valor de 4
		No se mide	5	
10	Si a las pilas de recibo llega café fermentado ¿Qué hacen con ese café?	Se toman medidas correctivas	2	2
		No se realiza alguna acción	3	
11	Si el café trae mucho grano brocado ¿Qué medidas toman?	se toman medidas de correctivas	2	
		No se realiza alguna acción	3	3
12	¿A qué temperatura almacenan el café pergamino en bodega?	Dato de la temperatura	3	
		No se conoce la temperatura	5	5
13	¿Llevan registros que evidencia esa temperatura?	Si	3	
		No	5	5

14	¿Cuál es la humedad relativa en que almacenan el café pergamino?	Dato de la humedad relativa	3	
		No se conoce la humedad relativa	5	5
15	¿Llevan registros que evidencien esa humedad?	Si	3	
		No	5	5
16	¿Cuál es el tiempo que pasa almacenado el café pergamino en bodega?	1 – 7 meses	1	
		7 – 14 meses	2	2
		14 - 21 meses	3	
17	¿Llevan registros que evidencie ese tiempo?	Si	1	
		No	3	3
18	¿Realiza controles de temperatura en la bodega mientras el café pergamino está almacenado?	Si	3	
		No	5	5
19	¿Llevan registros que evidencie esa temperatura?	Si	3	
		No	5	5
	¿Realiza controles de humedad relativa en la bodega mientras el café pergamino está almacenado?	Si	3	
		No	5	5
20	¿Cuál es la humedad del grano de café pergamino para trillarlo?	Humedad alta	5	
		Humedad controlada	3	
	¿Llevan registros que evidencie ese estado de humedad?	Si	3	
		No	5	
	¿Qué pasa si la humedad del grano no es la adecuada?	Se realizan acciones correctivas	3	
		No se realizan acciones correctivas	5	
TOTAL				82.75

### Resultados del Beneficio B.

	Pregunta	Respuesta	Puntuación asignada	Resultado del beneficio
1	En el proceso de beneficiado húmedo ¿Cuál es el método que utiliza para el desmucilaginado del café?	Fermentación	5	5
		Desmucilaginado mecánico	5	5
		Otra	5	
2	¿Controla la temperatura a la que realiza la fermentación del café?	Si	3	
		No	5	5
3	De que material están construidas las pilas de fermentación en donde se hace la remoción del mucilago del café	Cemento y ladrillo poroso	3	
		Cemento	3	
		Cerámica	1	1
4	¿Cuánto dura el proceso de fermentación del café?	6 – 8 horas	2	
		8 – 12 horas	2	2
		8 – 20 horas	3	
5	¿Cuántas veces lava las pilas de fermentación de café en un día de	1 vez	5	5
		Más de una vez	3	

6	¿Cuántas veces lava el café fermentado?	1 vez	5	5
		Más de una vez	3	
7	Durante el lavado del café ¿Cuál es la fuente de agua que utiliza para lavar el café?	Potable	3	
		Pozo	5	5
8	¿Qué tipo de secado se le realiza al café lavado?	En patios	5	5
		Pre-secadores	3	3
		Secadores	3	3
		Mixto	4	
		Otros	5	
9	¿Cómo mide la humedad del café pergamino para almacenarlo?	Con instrumentos	3	3
		No se mide	5	
10	Si a las pilas de recibo llega café fermentado ¿Qué hacen con ese café?	Se toman medidas correctivas	2	2
		No se realiza alguna acción	3	
11	Si el café trae mucho grano brocado ¿Qué medidas toman?	se toman medidas de correctivas	2	2
		No se realiza alguna acción	3	
12	¿A qué temperatura almacenan el café pergamino en bodega?	Dato de la temperatura	3	
		No se conoce la temperatura	5	5
13	¿Llevan registros que evidencia esa temperatura?	Si	3	
		No	5	5

14	¿Cuál es la humedad relativa en que almacenan el café pergamino?	Dato de la humedad relativa	3	
		No se conoce la humedad relativa	5	5
15	¿Llevan registros que evidencien esa humedad?	Si	3	
		No	5	5
16	¿Cuál es el tiempo que pasa almacenado el café pergamino en bodega?	1 – 7 meses	1	
		7 – 14 meses	2	
		14 - 21 meses	3	3
17	¿Llevan registros que evidencie ese tiempo?	Si	1	1
		No	3	
18	¿Realiza controles de temperatura en la bodega mientras el café pergamino está almacenado?	Si	3	
		No	5	5
19	¿Llevan registros que evidencie esa temperatura?	Si	3	
		No	5	5
	¿Realiza controles de humedad relativa en la bodega mientras el café pergamino está almacenado?	Si	3	
		No	5	5
20	¿Cuál es la humedad del grano de café pergamino para trillarlo?	Humedad alta	5	
		Humedad controlada	3	
	¿Llevan registros que evidencie ese estado de humedad?	Si	3	
		No	5	
	¿Qué pasa si la humedad del grano no es la adecuada?	Se realizan acciones correctivas	3	
		No se realizan acciones correctivas	5	
TOTAL				77.7

### Resultados del Beneficio C.

	Pregunta	Respuesta	Puntuación asignada	Resultado del beneficio
1	En el proceso de beneficiado húmedo ¿Cuál es el método que utiliza para el desmucilaginado del café?	Fermentación	5	5
		Desmucilaginado mecánico	5	
		Otra	5	
2	¿Controla la temperatura a la que realiza la fermentación del café?	Si	3	
		No	5	5
3	De que material están construidas las pilas de fermentación en donde se hace la remoción del mucilago del café	Cemento y ladrillo poroso	3	3
		Cemento	3	
		Cerámica	1	
4	¿Cuánto dura el proceso de fermentación del café?	6 – 8 horas	2	
		8 – 12 horas	2	2
		8 – 20 horas	3	
5	¿Cuántas veces lava las pilas de fermentación de café en un día de trabajo?	1 vez	5	5
		Más de una vez	3	

6	¿Cuántas veces lava el café fermentado?	1 vez	5	5
		Más de una vez	3	
7	Durante el lavado del café ¿Cuál es la fuente de agua que utiliza para lavar el café?	Potable	3	
		Pozo	5	5
8	¿Qué tipo de secado se le realiza al café lavado?	En patios	5	5
		Pre-secadores	3	
		Secadores	3	3
		Mixto	4	
		Otros	5	
9	¿Cómo mide la humedad del café pergamino para almacenarlo?	Con instrumentos	3	Miden la humedad pero no utilizan bitácoras, por eso se le asigna un valor de 4
		No se mide	5	
10	Si a las pilas de recibo llega café fermentado ¿Qué hacen con ese café?	Se toman medidas correctivas	2	2
		No se realiza alguna acción	3	
11	Si el café trae mucho grano brocado ¿Qué medidas toman?	se toman medidas de correctivas	2	
		No se realiza alguna acción	3	3
12	¿A qué temperatura almacenan el café pergamino en bodega?	Dato de la temperatura	3	
		No se conoce la temperatura	5	5
13	¿Llevan registros que evidencia esa temperatura?	Si	3	
		No	5	5

14	¿Cuál es la humedad relativa en que almacenan el café pergamino?	Dato de la humedad relativa	3	
		No se conoce la humedad relativa	5	5
15	¿Llevan registros que evidencien esa humedad?	Si	3	
		No	5	5
16	¿Cuál es el tiempo que pasa almacenado el café pergamino en bodega?	1 – 7 meses	1	
		7 – 14 meses	2	2
		14 - 21 meses	3	
17	¿Llevan registros que evidencie ese tiempo?	Si	1	1
		No	3	
18	¿Realiza controles de temperatura en la bodega mientras el café pergamino está almacenado?	Si	3	
		No	5	5
19	¿Llevan registros que evidencie esa temperatura?	Si	3	
		No	5	5
	¿Realiza controles de humedad relativa en la bodega mientras el café pergamino está almacenado?	Si	3	
		No	5	5
20	¿Cuál es la humedad del grano de café pergamino para trillarlo?	Humedad alta	5	
		Humedad controlada	3	
	¿Llevan registros que evidencie ese estado de humedad?	Si	3	
		No	5	
	¿Qué pasa si la humedad del grano no es la adecuada?	Se realizan acciones correctivas	3	
		No se realizan acciones correctivas	5	
TOTAL				81

### Resultados del Beneficio D.

	Pregunta	Respuesta	Puntuación asignada	Resultado del beneficio
1	En el proceso de beneficiado húmedo ¿Cuál es el método que utiliza para el desmucilaginado del café?	Fermentación	5	5
		Desmucilaginado mecánico	5	
		Otra	5	
2	¿Controla la temperatura a la que realiza la fermentación del café?	Si	3	
		No	5	5
3	De que material están construidas las pilas de fermentación en donde se hace la remoción del mucilago del café	Cemento y ladrillo poroso	3	
		Cemento	3	3
		Cerámica	1	
4	¿Cuánto dura el proceso de fermentación del café?	6 – 8 horas	2	
		8 – 12 horas	2	2
		8 – 20 horas	3	
5	¿Cuántas veces lava las pilas de fermentación de café en	1 vez	5	5
		Más de una vez	3	

6	¿Cuántas veces lava el café fermentado?	1 vez	5	5
		Más de una vez	3	
7	Durante el lavado del café ¿Cuál es la fuente de agua que utiliza para lavar el café?	Potable	3	
		Pozo	5	5
8	¿Qué tipo de secado se le realiza al café lavado?	En patios	5	5
		Pre-secadores	3	
		Secadores	3	
		Mixto	4	
		Otros	5	
9	¿Cómo mide la humedad del café pergamino para almacenarlo?	Con instrumentos	3	Miden la humedad pero no utilizan bitacoras, por eso se le asigna un valor de 4
		No se mide	5	
10	Si a las pilas de recibo llega café fermentado ¿Qué hacen con ese café?	Se toman medidas correctivas	2	
		No se realiza alguna acción	3	3
11	Si el café trae mucho grano brocado ¿Qué medidas toman?	se toman medidas de correctivas	2	
		No se realiza alguna acción	3	3
12	¿A qué temperatura almacenan el café pergamino en bodega?	Dato de la temperatura	3	
		No se conoce la temperatura	5	3
13	¿Llevan registros que evidencia esa temperatura?	Si	3	
		No	5	5

14	¿Cuál es la humedad relativa en que almacenan el café pergamino?	Dato de la humedad relativa	3	
		No se conoce la humedad relativa	5	5
15	¿Llevan registros que evidencien esa humedad?	Si	3	
		No	5	5
16	¿Cuál es el tiempo que pasa almacenado el café pergamino en bodega?	1 – 7 meses	1	
		7 – 14 meses	2	
		14 - 21 meses	3	3
17	¿Llevan registros que evidencie ese tiempo?	Si	1	1
		No	3	
18	¿Realiza controles de temperatura en la bodega mientras el café pergamino está almacenado?	Si	3	
		No	5	5
19	¿Llevan registros que evidencie esa temperatura?	Si	3	
		No	5	5
	¿Realiza controles de humedad relativa en la bodega mientras el café pergamino está almacenado?	Si	3	
		No	5	5
20	¿Cuál es la humedad del grano de café pergamino para trillarlo?	Humedad alta	5	
		Humedad controlada	3	
	¿Llevan registros que evidencie ese estado de humedad?	Si	3	
		No	5	
	¿Qué pasa si la humedad del grano no es la adecuada?	Se realizan acciones correctivas	3	
		No se realizan acciones correctivas	5	
TOTAL				84

### Resultados del Beneficio E.

	Pregunta	Respuesta	Puntuación asignada	Resultado del beneficio
1	En el proceso de beneficiado húmedo ¿Cuál es el método que utiliza para el desmucilaginado del café?	Fermentación	5	
		Desmucilaginado mecánico	5	5
		Otra	5	
2	¿Controla la temperatura a la que realiza la fermentación del café?	Si	3	N/A
		No	5	
3	De que material están construidas las pilas de fermentación en donde se hace la remoción del mucilago del café	Cemento y ladrillo poroso	3	N/A
		Cemento	3	
		Cerámica	1	
4	¿Cuánto dura el proceso de fermentación del café?	6 – 8 horas	2	N/A
		8 – 12 horas	2	
		8 – 20 horas	3	
5	¿Cuántas veces lava las pilas de fermentación de café en un día de trabajo?	1 vez	5	N/A
		Más de una vez	3	

6	¿Cuántas veces lava el café fermentado?	1 vez	5	N/A
		Más de una vez	3	
7	Durante el lavado del café ¿Cuál es la fuente de agua que utiliza para lavar el café?	Potable	3	N/A
		Pozo	5	
8	¿Qué tipo de secado se le realiza al café lavado?	En patios	5	
		Pre-secadores	3	
		Secadores	3	
		Mixto	4	4
		Otros	5	
9	¿Cómo mide la humedad del café pergamino para almacenarlo?	Con instrumentos	3	Miden la humedad pero no utilizan bitacoras, por eso se le asigna un valor de 4
		No se mide	5	
10	Si a las pilas de recibo llega café fermentado ¿Qué hacen con ese café?	Se toman medidas correctivas	2	N/A
		No se realiza alguna acción	3	
11	Si el café trae mucho grano brocado ¿Qué medidas toman?	se toman medidas de correctivas	2	N/A
		No se realiza alguna acción	3	
12	¿A qué temperatura almacenan el café pergamino en bodega?	Dato de la temperatura	3	
		No se conoce la temperatura	5	3
13	¿Llevan registros que evidencia esa temperatura?	Si	3	
		No	5	5

14	¿Cuál es la humedad relativa en que almacenan el café pergamino?	Dato de la humedad relativa	3	
		No se conoce la humedad relativa	5	5
15	¿Llevan registros que evidencien esa humedad?	Si	3	
		No	5	5
16	¿Cuál es el tiempo que pasa almacenado el café pergamino en bodega?	1 – 7 meses	1	
		7 – 14 meses	2	2
		14 - 21 meses	3	
17	¿Llevan registros que evidencie ese tiempo?	Si	1	
		No	3	3
18	¿Realiza controles de temperatura en la bodega mientras el café pergamino está almacenado?	Si	3	
		No	5	5
19	¿Llevan registros que evidencie esa temperatura?	Si	3	
		No	5	5
	¿Realiza controles de humedad relativa en la bodega mientras el café pergamino está almacenado?	Si	3	
		No	5	5
20	¿Cuál es la humedad del grano de café pergamino para trillarlo?	Humedad alta	5	
		Humedad controlada	3	
	¿Llevan registros que evidencie ese estado de humedad?	Si	3	
		No	5	
	¿Qué pasa si la humedad del grano no es la adecuada?	Se realizan acciones correctivas	3	
		No se realizan acciones correctivas	5	
TOTAL				49

## ANEXO N° 8.

### EJEMPLO DE CÁLCULO DE PROMEDIO Y DESVIACIÓN ESTÁNDAR DE LAS MUESTRAS DE HUMEDAD EN EXCEL.

Paso N° 1. Colocar en una celda la función promedio y seleccionar los datos de humedad a los cuales se les va a calcular el promedio. Ver figura N° 4.

BENEFICIO A		
ESTRATO	MUESTRAS	HUMEDAD (%)
ESTRATO ALTO	EAM1	0.6
	EAM2	0.7
	EAM1-3	0.7
	EAM2-4	1
	PROMEDIO	0.75

Figura N° 4. Cálculo del promedio de los datos de humedad de las muestras de café en Excel.

Paso N° 2. Colocar en una celda la función desviación estándar y seleccionar los datos de humedad a los cuales se les va a calcular la desviación estándar. Ver figura N° 5.

BENEFICIO A		
ESTRATO	MUESTRAS	HUMEDAD (%)
ESTRATO ALTO	EAM1	0.6
	EAM2	0.7
	EAM1-3	0.7
	EAM2-4	1
	PROMEDIO	0.75
	DESVIACION ESTANDAR	0.173205081

Figura N° 5. Cálculo de la desviación estándar de los datos de humedad de las muestras de café en Excel.

## ANEXO N° 9.

### NORMATIVA SALVADOREÑA OBLIGATORIA (NSO) 67.31.02:04.

**NORMA  
SALVADOREÑA**  


**NSO 67.31.02:04**

---

#### ESTANDARES DE CALIDAD.

#### CAFÉ TOSTADO EN GRANO Y CAFÉ TOSTADO Y MOLIDO.

---

**CORRESPONDENCIA:** Esta norma es una adaptación de la Norma Técnica Colombiana NTC 3534. Café Tostado.

**Tabla 1. Requisitos fisicoquímicos para el café tostado y molido**

Requisitos	Valores (%)
Humedad (% m/m), en punto de venta, máximo	3,0
Cenizas totales (% m/base seca), máximo	5,0
Cenizas insolubles en ácido (% m/base seca), máximo	0,5
Impurezas (%), máximo	3,0
Materia Extraña (%) máximo	0,1
Contenido de cafeína: % (m/m) en base seca	
- Para café sin descafeinar mínimo.	0,8
- Para café descafeinado máximo.	0,3

## ANEXO N° 10.

# REGLAMENTACIÓN DE LA COMISIÓN EUROPEA (CE) SOBRE OTA EN CAFÉ TOSTADO Y MOLIDO.

### REGLAMENTO (CE) N° 123/2005 DE LA COMISIÓN

de 26 de enero de 2005

por el que se modifica el Reglamento (CE) n° 466/2001 con respecto a la ocratoxina A

En el anexo I, sección 2 (Micotoxinas), el punto 2.2 (Ocratoxina A) se sustituirá por el texto siguiente:

Productos	Ocratoxina A: contenido máximo	Método de toma de muestras	Método de análisis de referencia
«2.2.			
OCRATOXINA A			
2.2.1.			
Cereales (incluido el arroz y el alforfón) y productos derivados de los mismos			
2.2.1.1. Cereales en grano sin transformar (incluido el arroz sin transformar y el alforfón)	5,0	Directiva 2002/26/CE de la Comisión <sup>(1)</sup>	Directiva 2002/26/CE
2.2.1.2. Productos derivados de los cereales (incluidos los productos transformados a base de cereales y los cereales en grano destinados al consumo humano directo)	3,0	Directiva 2002/26/CE	Directiva 2002/26/CE
2.2.2. Uvas pasas (pasas de Corinto, sultanas y otras variedades de pasas)	10,0	Directiva 2002/26/CE	Directiva 2002/26/CE
2.2.3. — Café tostado en grano y café tostado molido, con excepción del café soluble	5,0	Directiva 2002/26/CE	Directiva 2002/26/CE