

comisión del codex alimentarius



ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES
UNIDAS PARA LA AGRICULTURA
Y LA ALIMENTACIÓN

ORGANIZACIÓN
MUNDIAL
DE LA SALUD



S

OFICINA CONJUNTA: Viale delle Terme di Caracalla 00153 ROMA Tel: 39 06 57051 www.codexalimentarius.net Email: codex@fao.org Facsimile: 39 06 5705 4593

Tema 13 (b) del programa

**CX/CF 08/2/15
Enero de 2008**

PROGRAMA CONJUNTO FAO/OMS SOBRE NORMAS ALIMENTARIAS COMITÉ DEL CODEX SOBRE CONTAMINANTES DE LOS ALIMENTOS

Segunda reunión

La Haya, Países Bajos, 31 de marzo - 4 de abril de 2008

DOCUMENTO DE DEBATE SOBRE LA OCRATOXINA A (OTA) EN EL CACAO

INFORMACIÓN GENERAL

1. En su 38ª reunión, el Comité del Codex sobre Aditivos Alimentarios y Contaminantes de los Alimentos decidió elaborar un Documento de debate sobre la contaminación por ocratoxina A (OTA) en el cacao. El documento de debate debía servir de base para adoptar una decisión sobre la posible necesidad de disponer de un código de prácticas para reducir y manejar la presencia de OTA en el cacao; dicho documento se presentó en la primera reunión del Comité del Codex sobre Contaminantes de los Alimentos (CCCF), celebrada en Beijing (China).
2. En su primera reunión, el CCCF decidió que era todavía demasiado pronto para empezar a elaborar un código de prácticas y que para adoptar una decisión a tal efecto se debía esperar hasta que se hubiera recopilado más información. Tras mantener un debate, el CCCF decidió establecer un grupo de trabajo por medios electrónicos, bajo la dirección de Ghana, para actualizar el documento de debate con nuevos datos y demás información pertinente, y tomando en consideración las observaciones efectuadas en la primera reunión, a fin de someterlo a examen en la segunda reunión del CCCF. Bélgica, Brasil, Côte d'Ivoire, los Países Bajos, Nigeria, Tailandia, Togo, los Estados Unidos de América, la Comisión Europea, ECA, ICA e IFT participaron en el grupo de trabajo por medios electrónicos y prepararon este documento de debate. Una lista de los participantes en el grupo de trabajo por medios electrónicos se adjunta como Anexo al presente documento.

INTRODUCCIÓN

3. La ocratoxina A es una micotoxina que se da de forma natural en los productos alimenticios en todo el mundo, tales como cereales y productos a base de cereales, legumbres, café, cerveza, zumo (jugo) de uva, uvas pasas y vino, así como en los productos a base de cacao, nueces y especias⁴⁹. En el cacao, la OTA se asocia principalmente a las cáscaras de los granos y a los sólidos sin grasa del cacao (cacao en polvo)^{2, 30}. En toda la cadena de producción puede haber presentes hongos y OTA: en la cosecha, la fermentación, el secado, el almacenamiento, la elaboración de los alimentos y el transporte^{18, 26}.
4. El término «cocoa» [*en inglés*] es una corrupción de la palabra «cacao»⁶³. En el uso común, el término «cocoa» se utiliza para referirse a los granos que son objeto de comercio y sus productos, mientras que el término «cacao» se utiliza para designar el árbol del cacao y sus partes, si bien en algunos lugares ambos términos se utilizan indistintamente.
5. El cacao es un producto que resulta de la fermentación del fruto seco. Los granos del cacao no se consumen como tales; se someten a una transformación industrial antes de su consumo. El cacao es un ingrediente muy importante de productos farmacéuticos y varias clases de alimentos como las tortas, las galletas, la confitería de chocolate, las pastas de chocolate para untar, los alimentos para niños, los helados y los dulces⁵⁸.

6. Durante la elaboración industrial, primero se tuesta el cacao y se suprime la cáscara. Por razones técnicas, la cáscara no se puede eliminar por completo. Esto se reconoce en la norma del Codex (CODEX STAN 141-1983, rev. 1-2001) que especifica el contenido máximo de las cáscaras y los gérmenes en la masa de cacao y la torta de cacao. El nivel máximo especificado en la norma corresponde a un 2% de las cáscaras en la semilla descascarillada³³.
7. Alrededor del 71% del suministro mundial de cacao en grano procede de África Occidental, especialmente de Cote d'Ivoire, Ghana y Nigeria. También se produce cacao en Asia y América Latina (Cuadro 1)³⁵. El cultivo del cacao se encuentra en manos de pequeños agricultores y es un cultivo comercial no perecedero valioso para cientos de miles de agricultores de los países productores, y de gran importancia para las economías de dichos países. La mayor parte del cacao en grano se exporta a Europa y Norteamérica para elaborar licor de cacao, mantquilla (manteca) de cacao y cacao en polvo (Cuadro 2)³⁵.

Cuadro 1. Producción mundial de cacao en grano (2004 – 2007) (miles de toneladas)

País	2004/05		2005/06		2006/07 (previsión)	
	África	2381	70,4%	2644	71,2%	2427
Camerún	184		167		180	
Cote d'Ivoire	1286		1408		1280	
Ghana	599		740		660	
Nigeria	200		200		180	
Otros	112		129		127	
América	443	13,1%	445	12,0%	429	12,5%
Brasil	171		162		140	
Ecuador	116		114		114	
Otros	156		169		175	
Asia y Oceanía	560	16,5%	627	16,9%	580	16,9%
Indonesia	460		520		470	
Otros	100		107		110	
Total mundial	3384	100,0%	3716	100,0%	3435	100,0%

Fuente: ICCO Quarterly Bulletin of Cocoa Statistics, Vol. XXXIII, No.3, Cocoa Year 2006/07.
Posted: 22 October 2007

Cuadro 2. Consumo mundial/molindas de cacao en grano (miles de toneladas)

	2003/04		2004/05		2005/06	
Europa	1346	41,6%	1375	41,1%	1462	42,1%
Alemania	225		235		302	
Países Bajos	445		460		470	
Otros	676		680		690	
África	446	14,4%	493	14,8%	507	14,6%
Cote d'Ivoire	335		364		360	
Otros	131		130		147	
América	852	26,3%	853	25,5%	856	24,6%
Brasil	207		209		223	
Estados Unidos	410		419		426	
Otros	235		225		207	
Asia y Oceanía	575	17,7%	622	18,6%	651	18,7%
Indonesia	120		115		120	
Malaysia	203		250		250	
Otros	252		257		281	
Total mundial	3238		3343		3476	
Origen	1188	36,7%	1254	37,5%	1279	36,8%

Fuente: ICCO Quarterly Bulletin Cocoa Statistics. Vol. XXXII. 2005/06.

8. El cacao se produce en una franja de 20° al norte y al sur del ecuador. La temperatura media mínima en casi todas las regiones productoras de cacao es de 18° C, y la máxima de 32° C. Requiere lluvia abundante de 1000 a 4000 mm al año. El árbol del cacao, *Theobroma cacao*, crece bien en una amplia variedad de suelos.

ESTRUCTURA QUÍMICA

9. La ocratoxina A (7-(L-β-fenilalanil-carbonil)-carboxil-5-cloro-8-hidroxi-3,4-dihidro-3R-metil isocumarina) es un metabolito secundario producido por ciertas especies de *Aspergillus* y *Penicillium*⁵⁰, que pueden estar presentes en los alimentos incluso cuando los mohos no son visibles. La OTA es un compuesto cristalino e incoloro, soluble en disolventes orgánicos polares que se disuelve en soluciones de bicarbonato de sodio y ligeramente soluble en agua⁵⁵.

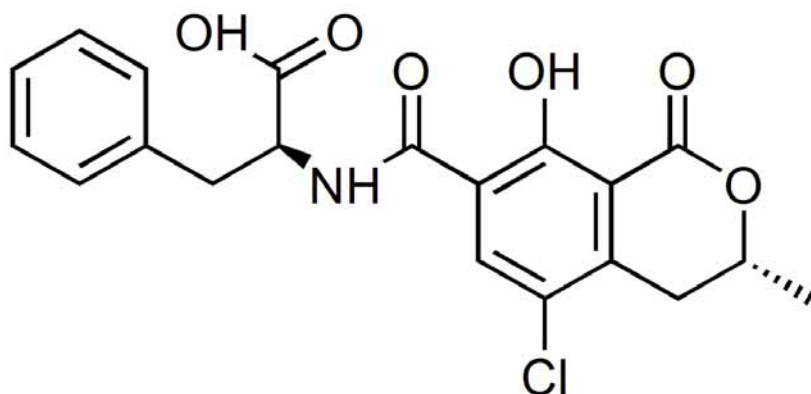


Fig.1. Estructura de la ocratoxina A

10. La enzima carboxipeptidasa A de los mamíferos puede introducir la OTA en productos no tóxicos (ocratoxina alfa y fenilalanina)⁵⁶.
11. La OTA se mantiene estable durante casi todas las etapas de la producción de alimentos, como la cocción, el lavado y la fermentación, hasta un grado apreciable que se puede detectar en los productos alimenticios manufacturados⁴. Boudra⁹ demostró que la OTA es estable al calor, y en el trigo se descompuso un máximo del 20% aplicando calor seco a 100° C durante 160 minutos, ó 150° C durante 32 minutos. Durante el tostado del cacao, la temperatura final del grano alcanza entre 100° y 120° C con una duración de 15 a 70 minutos⁴³, por lo cual no se espera que el tostado reduzca considerablemente los niveles de OTA.

EVALUACIÓN TOXICOLÓGICA

12. La OTA está clasificada como posible cancerígeno humano (grupo 2B)^{19, 36}. En estudios realizados con animales^{38, 39, 48, 54, 59} se ha documentado que la OTA es nefrotóxica, inmunosupresora, cancerígena y teratogénica. Se cree que la OTA es causa de dos enfermedades crónicas, la nefropatía endémica de los Balcanes y la nefropatía intersticial crónica (en el Norte de África), así como de tumores uroteliales en seres humanos⁴⁸. En base a asociaciones epidemiológicas se ha planteado que existe una relación entre la exposición a la OTA en los primeros años de vida y el cáncer testicular⁵⁷. Estudios anteriores del Programa Nacional de Toxicología (NTP) en Estados Unidos revelaron que la OTA en grandes dosis puede propiciar la formación de tumores renales en los roedores⁸.
13. Estudios preliminares de la OTA en la sangre realizados en Cote d'Ivoire entre 1998 y 2004 han demostrado la existencia de contaminación real por OTA de los alimentos⁶⁹. Los resultados revelaron que 22 de los 63 participantes sanos tenían niveles de OTA de 0,01 a 5,81 µg/L con un valor medio de 0,83 µg/L, en comparación con 8 de los 39 pacientes con nefropatía sometidos a diálisis que tenían niveles de 0,167 a 2,42 µg/L con una media de 1,05 µg/L. La concentración en la sangre de OTA es generalmente una consecuencia de los hábitos de alimentación y dietas de personas que en el caso de Cote d'Ivoire es desigual por cereales y cacahuets (maní) en vez de por productos del cacao.

14. El Panel Científico sobre Contaminantes en la Cadena de Alimentos de EFSA (Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria) adoptó un dictamen científico relativo a la ocratoxina A en los alimentos el 4 de abril de 2006⁴⁹. Este dictamen tomaba en consideración el resultado de la investigación reciente sobre la toxicología de la ocratoxina A⁴⁴. En él se señala que la toxicidad en un punto específico y renal, así como el daño al DNA y los efectos genotóxicos de la OTA, medidos en varios estudios *in vivo* e *in vitro*, son atribuibles muy probablemente al daño celular oxidativo. Por consiguiente, en base al nivel más bajo con efecto adverso observado (LOAEL) de 8 µg/kg de peso corporal al día, de los marcadores iniciales de la toxicidad renal en el porcino y aplicando un factor compuesto de incertidumbre de 450 para las incertidumbres en la extrapolación de datos experimentales obtenidos de animales al ser humano, así como para la variabilidad entre las especies, se obtuvo una ingesta semanal tolerable de 120 ng/kg de peso corporal. Los niveles actuales de exposición a la OTA en los países miembros de la Unión Europea varían entre 15 y 60 ng/kg de peso corporal a la semana⁴⁴. El panel de la EFSA recomendó asimismo que se recopilara información más específica de la exposición de algunos grupos vulnerables, incluidos los lactantes y los niños, y las personas que consumen grandes cantidades de determinadas especialidades regionales que contienen OTA.⁴⁹
15. En su 68ª reunión en junio de 2007, el JECFA examinó la ingesta semanal tolerable provisional (ISTP) anterior de 100 ng/kg de peso corporal a la luz de nueva información y no encontró ninguna razón para modificar esa evaluación.⁶⁸

MUESTREO

16. La variabilidad de la producción de OTA, en combinación con el gran tamaño de las partículas de los alimentos que contamina, complican las estrategias de muestreo para la detección de las ocratoxinas¹⁵. Unos cuantos granos muy contaminados pueden elevar la concentración de todo un envío por encima del límite permitido, si ese límite es bajo. No obstante, muchas estrategias de muestreo no están concebidas para detectar esos pocos granos muy contaminados¹⁵. Por tanto, es imperativo para la salud mundial la creación de métodos para vigilar la presencia de micotoxinas que empleen poca tecnología y sean económicos⁴⁷.
17. En información reciente presentada por Spanjer y sus colaboradores⁷⁰ se ha señalado que el proceso de homogeneización de la muestra es un factor importante en la determinación de la OTA en varias matrices de alimentos. La información señaló que dependiendo del tipo de procedimiento de molido, que en última instancia determina la distribución de las partículas, la cantidad de OTA medida varía. La pertinencia de este resultado es que el resultado analítico erróneo de una submuestra puede dar lugar a rechazar o aceptar los lotes erróneamente.
18. Los procedimientos de muestreo y criterios de rendimiento para los métodos de análisis a utilizar para el control oficial del nivel de OTA en los alimentos en la Unión Europea se han establecido en el Reglamento 401/2006²⁰ de la Comisión Europea. En la Unión Europea no hay un nivel máximo para la OTA en el cacao y por tanto no se han establecido procedimientos de muestreo para el control de la OTA en este producto.

MÉTODOS ANALÍTICOS

19. Para detectar la presencia de OTA en los productos de cacao se necesita un método rápido, eficaz y sensible. Los productos del cacao son matrices de alimentos muy diferentes de la fruta fresca, los cereales, el café o el vino, y la optimización de su extracción exige un estudio específico¹⁷. Recientemente se ha descrito un rápido ensayo basado en anticuerpos que contiene la limpieza secuencial y detección visual de la OTA en el cacao en polvo⁷¹. La prueba de detección tiene un nivel umbral de 2 µg/kg y es apropiada para utilizar en el campo.
20. El método validado para la cuantificación de la OTA es un protocolo de cromatografía líquida de alta resolución en fase invertida, con limpieza en una columna de inmunoafinidad con anticuerpos específicos a la OTA, cuantificado a través de detección por fluorescencia¹¹. Se ha descrito en un estudio realizado por varios laboratorios¹² con el fin de evaluar el funcionamiento de 18 laboratorios en la determinación de la presencia de OTA en muestras de cacao en polvo. Este estudio concluyó que los resultados eran satisfactorios: por ejemplo, a concentración baja (0,19 µg/kg), concentración media (0,45 µg/kg) y concentración elevada (1,45 µg/kg), se obtuvieron resultados satisfactorios de los 10/18, 11/18 y 12/18 participantes, respectivamente.

21. Cuando es necesario analizar un elevado número de muestras para detectar la producción de OTA, es conveniente contar con métodos rápidos, económicos y fáciles de realizar, especialmente en los países de bajos ingresos donde hay menos vigilancia disponible debido a limitaciones económicas y tecnológicas⁴⁷.

PRESENCIA DE OTA Y MOHOS QUE PRODUCEN OTA EN LOS GRANOS DE CACAO

22. En un proyecto⁶⁴ actual en Cote d'Ivoire se ha examinado el cacao que llega a los puertos de Abidjan y San Pedro para detectar la contaminación por OTA. 23 de las 147 muestras analizadas en Abidjan tenían concentraciones $>2,0 \mu\text{g/kg}$, y en San Pedro 10 de 151 muestras presentaron un contenido de OTA $>2,0 \mu\text{g/kg}$. Partiendo de estas observaciones en ambos puertos, se estimó que el cacao comercial que tiene un contenido de OTA $> 2,0 \mu\text{g/kg}$ constituye el 11% de la producción total de cacao en Cote d'Ivoire.
23. En 2006 la Agencia Federal para la Seguridad de la Cadena de Alimentos en Bélgica analizó 13 muestras de cacao en grano y encontró que 8 estaban por debajo del límite de cuantificación de $0,3 \mu\text{g/kg}$, y 5 contenían concentraciones de OTA de 0,4, 0,72, 0,99, 1,7 y $7,7 \mu\text{g/kg}$.⁶⁵
24. Amezqueta² detectó la presencia de OTA en 46 muestras de cacao en grano de orígenes y lotes diferentes. Un total de 63% de las muestras de cacao en grano estaban contaminadas con una concentración $>$ al límite de detección ($0,04 \mu\text{g/kg}$). La concentración media y el promedio obtenidos para el cacao en grano fueron de 1,71 y $1,12 \mu\text{g/kg}$ respectivamente, con un intervalo de 0,04 y $14,8 \mu\text{g/kg}$.
25. Un análisis del cacao en grano de Nigeria listo para la venta reveló que 54 de 59 muestras analizadas dieron positivo para la OTA, con concentraciones entre 1,0 y $277,5 \mu\text{g/kg}$ ⁷². Para la determinación se utilizó una prueba de ELISA indirecta y competitiva, mucho menos sensible que el método de HPLC.
26. Desde 1999 la industria europea ha analizado muestras de cacao en grano importado, de distinto origen. Los resultados muestran que se han encontrado granos de cacao contaminados por OTA de todas las regiones productoras. Además se ha revelado que las concentraciones varían entre las distintas regiones, en la misma región y según los años²⁹.
27. Se han realizado varios intentos de aislar y determinar los mohos productores de OTA en los granos de cacao. De 66 cepas de *Aspergillus* aisladas durante la fermentación y el secado de granos de cacao en Ghana, ninguna pudo producir OTA. Se analizó un total de 13 cepas de *Aspergillus* de Cote d'Ivoire, 16 de Nigeria y 86 de Ghana para observar la producción de OTA, y sólo se encontraron dos *Aspergilli* ocratoxigénicos¹⁸.
28. En un estudio en Brasil se evaluaron 21 muestras de productos del cacao (granos de cacao, semillas, cáscaras y cacao en polvo) para detectar la presencia de mohos capaces de producir OTA. De 123 aislados toxicogénicos de *Aspergillus* obtenidos del 42,9% de las muestras de cacao, el 18,2% de *A. niger*, el 100% de *A. carbonarius* y el 100% de *A. ochraceus* resultaron productores de OTA²³.
29. En el Cuadro 3 figura la frecuencia de la presencia de OTA en el cacao y los productos del cacao en varios países productores.

Cuadro 3. Frecuencia de la presencia OTA en los **granos de cacao** en todo el mundo.

Origen	Año	Ref	Número de muestras			%
			Total	>LOQ	>2 $\mu\text{g/kg}$	>2 $\mu\text{g/kg}$
Abidjan	2005	64	147		23	16
San Pedro	2005	64	151		10	7
Granos de cacao		65	13	5	1	8
Cote d'Ivoire		2	33	24	5	15
Camerún		2	7	3	1	14
Guinea Ecuatorial		2	6	2	0	0
Cote d'Ivoire	1999-2005	29	1014		193	19
África Occidental ex CdI	1999-2005	29	347		10	3
Asia	1999-2005	29	136		2	1
América	1999-2005	29	210		1	0
África		7	21	16	1	5

EFFECTO DE LA FABRICACIÓN SOBRE LOS PRODUCTOS QUE CONTIENEN OTA

30. Se analizó la presencia de OTA en 15 pares de muestras de cáscaras y semillas descascarilladas de cacao²⁹. Las muestras se procesaron industrialmente. Los resultados revelaron que por término medio, el 48% (entre 25% y 72%) de la OTA presente en los granos se eliminó con la cáscara. La concentración calculada de OTA en los granos fue de 0,3 a 3,0 $\mu\text{g}/\text{kg}$
31. En un estudio en que las cáscaras del cacao se eliminaron manualmente, Amezqueta¹ observó una reducción del contenido de OTA >95% en 14/22 muestras, 65% a 95% en 6/22 muestras y sólo en una muestra se observó una reducción inferior al 50%.
32. El análisis de 170 muestras de productos del cacao de procedencia geográfica diferente indicó que las concentraciones de OTA más elevadas se detectaron en cáscaras de cacao y tortas de cacao (0,1 a 23,1 $\mu\text{g}/\text{kg}$) y sólo una concentración menor en los otros productos del cacao⁷.
33. Dieciséis muestras grandes de granos de cacao seco, almacenadas especialmente durante 4 meses en condiciones que favorecen la proliferación de mohos, fueron procesadas en mantequilla (manteca) de cacao y chocolate para determinar su efecto en el contenido de OTA de los granos contaminados. Las cáscaras se eliminaron manualmente. De las 16 muestras procesadas, los niveles de contaminación por OTA fueron muy diferentes, entre 3,37 y 46,15 $\mu\text{g}/\text{kg}$ con una media de 24,0 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Las cáscaras de granos sin tostar fueron las más contaminadas con un valor medio de 91,0 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Los chocolates contenían en general 1,86 $\mu\text{g}/\text{kg}$, y la mantequilla (manteca) no tenía OTA (véase la Fig. 2). Por lo general alrededor del 70% de la OTA se suprimió con la cáscara.

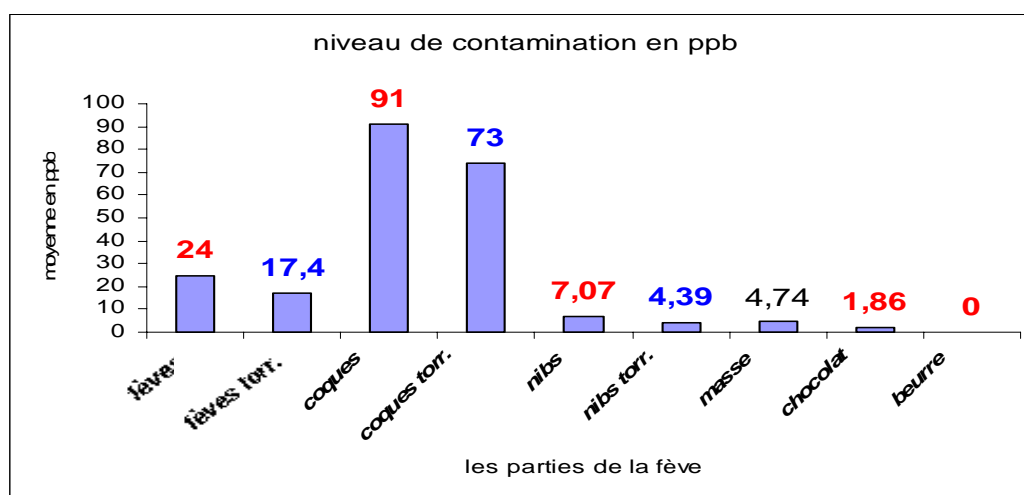


Fig. 2. Nivel medio de contaminación de los distintos componentes del cacao en grano durante el procesado de los granos contaminados [Pie de grabajo: *niveau de contamination en ppb* = nivel de contaminación en ppb ($\mu\text{g}/\text{kg}$); *moyens en ppb* = medias en ppb; *les parties de la fève* = partes del grano; *fèves* = granos; *fèves torr.* = granos tostados; *cocques* = cáscaras; *cocques torr.* = cáscaras tostadas; *nibs torr.* = semillas tostadas; *masse* = masa; *chocolat* = chocolate; *beurre* = mantequilla (manteca). Datos de Cote d'Ivoire⁶⁴].

PRESENCIA DE OTA EN PRODUCTOS DEL CACAO

34. La Agencia Federal para la Seguridad de la Cadena de Alimentos en Bélgica analizó en 2005 10 muestras de cacao en polvo y 9 de chocolate del mercado libre belga. Los resultados revelaron que las 5 muestras de cacao en polvo estaban por debajo del límite de cuantificación (0,3 $\mu\text{g}/\text{kg}$) y las 5 muestras restantes contenían los siguientes niveles de OTA: 0,60, 0,72, 0,76, 0,78, y 0,81 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Las 9 muestras de chocolate contenían niveles de OTA inferiores al límite de cuantificación.⁶⁵
35. En un estudio realizado en 2005⁴² con 41 chocolates del comercio minorista en Japón, todas las muestras presentaron algún nivel de contaminación por OTA. Los niveles de 14/41 muestras eran inferiores al límite de cuantificación (0,10 $\mu\text{g}/\text{kg}$), 7/41 eran inferiores a 0,20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ y el resto (20/41) contenía niveles superiores a 0,20 $\mu\text{g}/\text{kg}$, todos en la gama de <0,10 a 0,94 $\mu\text{g}/\text{kg}$.

36. En un estudio⁷ de 170 muestras de cacao y productos del cacao de distinta procedencia geográfica, en 21 de las 136 muestras que eran productos del cacao o chocolates, no se detectó OTA mientras que en las muestras restantes el contenido de OTA osciló entre 0,1 µg/kg y 9,0 µg/kg.
37. El informe de la Unidad 3.2.7⁴⁴ para la Cooperación Científica reveló que el 81,3% de los productos derivados del cacao analizados estaban contaminados por OTA. Esto significa que 445 de las 547 muestras de productos del cacao analizadas eran positivas. El nivel de contaminación oscilaba entre 0,01 y 3,8 µg/kg, con una media de 0,23 µg/kg⁴⁴.
38. Tafuri⁵⁸ analizó 18 muestras de cacao en polvo (en venta en Italia) para observar la presencia de OTA. Nueve de las muestras presentaron una concentración inferior al límite de detección de 0,01µg/kg; las otras presentaron la toxina en concentraciones de 0,22 a 0,77 µg/kg, con una media de 0,43µg/kg. El método analítico utilizado en este caso tenía únicamente una recuperación de aproximadamente un 20%.
39. MAFF⁴¹ presentó datos en 1997 y 1998 sobre muestras de cacao en polvo que indicaban que 19/20 muestras analizadas en 1997 contenían un nivel máximo de OTA de 2,4 µg/kg, con una media de 0,68 µg/kg, y 20/20 muestras analizadas en 1998 dieron una media de 1,67 µg/kg. 30 de las 40 muestras de chocolate contenían niveles de OTA inferiores a 0,6 µg/kg.
40. CAOBISCO/ECA/FCC²⁹ puso en marcha un proyecto de investigación en 1999 «para especificar con la mayor precisión posible la presencia de OTA y las condiciones que favorecen su formación en el cacao y las medidas que se considera que reducen al mínimo esa formación». El análisis de productos del cacao en el mercado europeo, a través de este proyecto, confirmó que los productos que contienen cacao tal como se consumen sólo presentan niveles bajos de OTA. Los niveles medios de OTA observados en los diversos productos son los siguientes (las muestras se analizaron en laboratorios diferentes, con límites de detección de 0,1, 0,2, ó 0,5 µg/kg): chocolate de leche (228 muestras), 0,16 µg/kg; chocolate puro (536 muestras), 0,26 µg/kg; cacao en polvo para preparar bebidas (247 muestras), 0,20 µg/kg; cacao en polvo (1189 muestras), 1,0 µg/kg. Las medias se calcularon utilizando el límite de detección dividido por 2 para las muestras que tienen niveles de OTA inferiores al límite de detección.
41. En un estudio¹⁴ similar realizado en España, 13 países europeos, Argentina y Japón, se analizaron 296 muestras de distintos tipos de chocolate y cacao en polvo para observar su contenido de OTA. Los resultados revelaron que pese a que el 99,7% de las muestras tenían contaminación por OTA, el consumo de chocolate y productos de cacao en condiciones normales aporta sólo una pequeña fracción a la ingesta diaria tolerable de OTA.
42. En el Cuadro 4 se presenta una visión general de los niveles de OTA encontrados en varios productos del cacao.

Cuadro 4. contenido de OTA de varios productos del cacao

	Ref	Número de muestras			µg/kg			Observaciones
		Total	>LOQ	>2µg/kg	Max	Mediana	Media	
Masa de cacao	7	8	4	2	3,5		1,07	
Masa de cacao, Países Bajos	44	1	0		<0,25			
Semillas tostadas	7	2	0	0	<0,1			
Mantequilla (manteca) de cacao	7	4	0		<0,1			
Mantequilla (manteca) de cacao, Países Bajos	44	6	0		<0,25			
Torta de cacao	7	80	74	41	9		2,79	
Cacao en polvo	7	31	29	17	4,4		2,41	
Cacao en polvo, España	14	21				0,24		
Cacao en polvo, no en España	14	5				0,17		
Cacao en polvo	29	1189	1094	143			1	
Cacao en polvo	65	10	5				0,4	
Cacao en polvo	58	18	9		0,77		0,43	Baja recuperación, un 20%
Cacao en polvo	41	20	19		2,4		0,68	
Cacao en polvo	41	20	20				1,67	
Cacao en polvo, Alemania	44	96	91		1,8		0,38	
Cacao en polvo, Reino Unido	44	40	39		2,4		1,2	
Cacao en polvo, Países Bajos	44	6	0		<0,25			
Cacao en polvo para bebidas	29	247	101	0			0,2	
Chocolate blanco, España	14	5				0,03		
Chocolate blanco, no en España	14	9				0,03		
Chocolate de leche, España	14	47				0,12		
Chocolate de leche, no en España	14	122				0,1		
Chocolate de leche	29	228	52				0,16	
Chocolate puro, España	14	35				0,25		
Chocolate puro, no en España	14	52				0,27		
Chocolate puro	29	536	300				0,26	
Chocolate	65	9	0				<0,3	
Chocolate	42	41	27		0,94			
Chocolate	41	40						30 muestras <0,6 µg/kg
Chocolate, Alemania	44	352	297		3,6		0,12	
Chocolate, Reino Unido	44	40	18		0,6		0,38	
Chocolate, Países Bajos	44	8	0		<0,25			
Chocolate / crema de chocolate	14	11	9		1,59		0,63	

FACTORES QUE REPERCUTEN EN LA PRESENCIA DE OTA EN EL CACAO

43. En un programa⁶⁴ en curso sobre la OTA en Cote d'Ivoire, se han realizado estudios para determinar los aspectos clave de la contaminación en las fincas. Los resultados han revelado que los granos de vainas que presentan daños físicos son los más contaminados, con niveles que varían entre 2,49 y 2,8 µg/kg, sin embargo las vainas parcialmente descompuestas revelan un nivel de contaminación de 0,3 a 0,74 µg/kg, mientras que los granos de vainas en buen estado tienen un contenido de OTA de 0,22 a 0,37 µg/kg.
44. Solamente se ha realizado un estudio⁶ más extenso para identificar los aspectos clave en la cadena del cacao a fin de que sirva de base para la formulación de estrategias de prevención a establecer en un marco del HACCP y reducir al mínimo la exposición de los consumidores. El estudio ha sido realizado por la industria y el comercio europeos del chocolate y el cacao, formada por Caobisco, ECA y FCC entre 1999 y 2004 en África Occidental.

45. Experimentos en grandes fincas comerciales en Cote d'Ivoire han revelado que se produce muy poca OTA durante las fermentaciones en cajas grandes bien controladas después del secado al sol.⁶
46. Datos de explotaciones más pequeñas de Cote d'Ivoire han revelado niveles más altos de OTA. Por ejemplo, 24 de 62 muestras de granos tenían niveles inferiores a 0,5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ y 11 niveles superiores a 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$; 63 de un total de 168 muestras de cacao tomadas la siguiente temporada tenían un contenido de OTA superior a 0,5 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 28 tenían niveles superiores a 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 7 muestras tenían niveles superiores a 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ y 48 muestras no contenían OTA.⁶
47. Los datos de estos estudios⁶ revelan también que los niveles de OTA varían durante la temporada del cacao (Fig.3) y los niveles guardan también relación con la magnitud del daño en la vaina del cacao (Fig.4). Por ejemplo, la distribución media de OTA por la condición fitosanitaria de la vaina es la siguiente: sanas (2,3 $\mu\text{g}/\text{kg}$), dañadas por plagas (4,2 $\mu\text{g}/\text{kg}$), lastimadas (19,8 $\mu\text{g}/\text{kg}$), descompuestas (7,2 $\mu\text{g}/\text{kg}$) y desecadas (3,4 $\mu\text{g}/\text{kg}$).

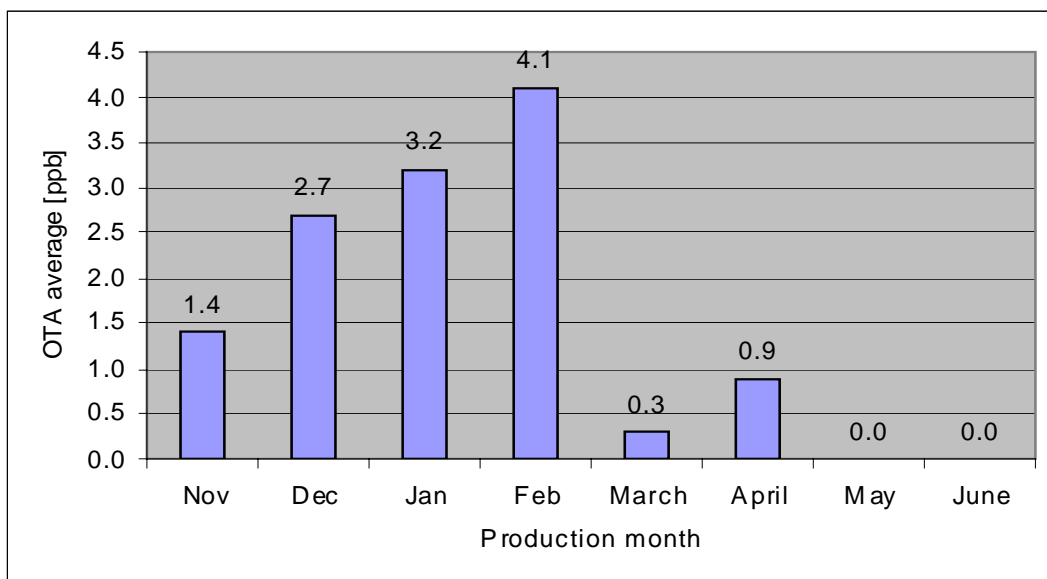


Fig. 3. Variación de los niveles de OTA según el mes de cosecha

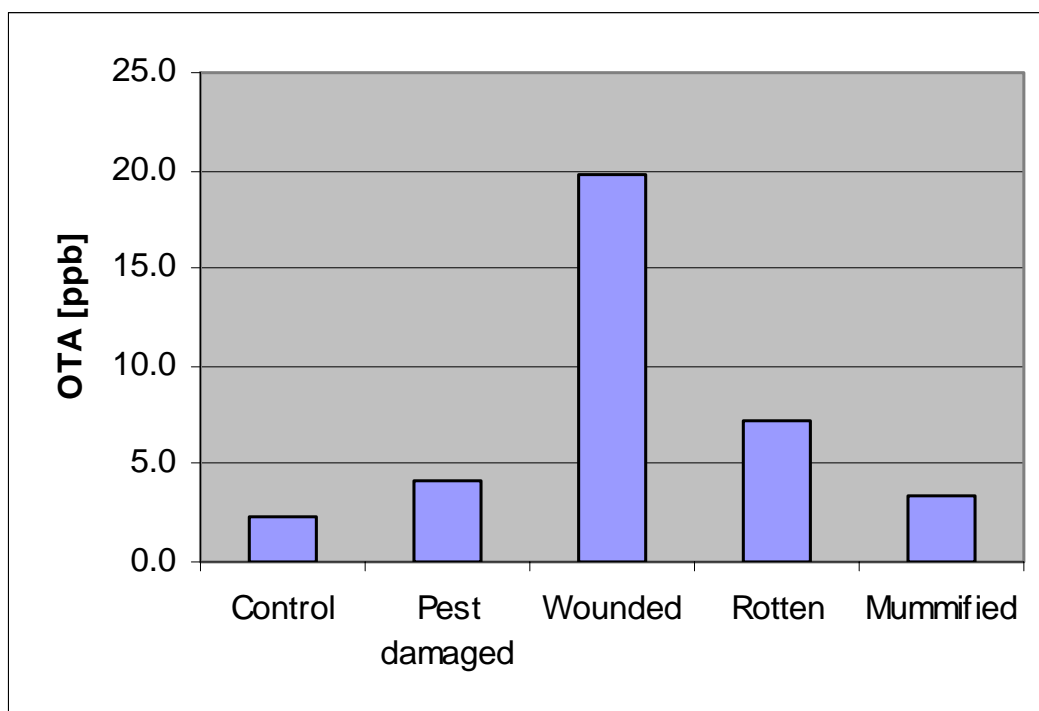


Fig. 4. Efecto de la condición fitosanitaria de las vainas del cacao sobre los niveles de OTA encontrados en cacao en grano seco

48. Se ha encontrado OTA en granos que acaban de ser fermentados y que los niveles aumentaron durante el secado.
49. Se ha comprobado que las condiciones de secado solamente no son responsables de los niveles de OTA, sino que se producen interacciones entre la cosecha, la fermentación y las condiciones de secado.
50. Entre 37 muestras tomadas de montones en fermentación, granos en secado, esterillas de secado, hojas de bananero y muestras de aire, sólo se encontró una de *A. Niger* que produjo OTA. Asimismo de otras muestras de cacao en grano positivas en cuanto a OTA tomadas durante el secado y el almacenamiento se encontró únicamente una OTA anterior, *A. carbonarius*. Este limitado trabajo sobre la micoflora de los granos del cacao y el entorno agrario reveló que en las muestras de granos había hongos capaces de producir OTA y también en el entorno y el equipo de la finca.¹⁸
51. Estudios en los que se utiliza el cultivo de cacao demuestran la capacidad del *A. ochraceus* y otros mohos del cacao que pueden aislarse, por ejemplo, *A. carbonarius*, *A. niger*, *A. tubingensis*, para desarrollar y producir OTA. Se reveló que la producción de OTA depende en gran medida de factores medioambientales como la temperatura, el pH y la actividad del agua del sustrato. Por ejemplo se comprobó que una actividad del agua de 0,97 es óptima para la biosíntesis de la OTA. Asimismo se comprobó que la producción de OTA es específica a la especie. Por ejemplo, 632 muestras de *A. niger* de BFE productoras modelo de OTA mostraron la producción más elevada de OTA a 30° C en agar-glucosa y malta, mientras que 640 muestras de *A. carbonarius* de BFE produjeron más OTA en agar cacao a 25° C.¹⁸ [BFE = Bundesforschungsanstalt für Ernährung, es decir, Instituto de Higiene y Toxicología – Centro de Investigación Federal para la Nutrición, Karlsruhe (Alemania)].
52. Se examinaron sesenta y cinco aislados de la bacteria del ácido láctico de origen de cacao utilizando un método de detalle para determinar su capacidad para inhibir el desarrollo de 12 mohos productores de ocratoxina A. Las cepas *L. fermentum* y *L. plantarium* más examinadas inhibieron la proliferación de mohos¹⁸.

INGESTA ALIMENTARIA

53. El Panel Científico sobre Contaminantes en la Cadena de Alimentos de EFSA adoptó un dictamen científico relacionado con la exposición alimentaria de los consumidores adultos europeos a la OTA el 4 abril de 2006⁴⁹. Este dictamen señala que en la actualidad la exposición semanal a la OTA varía entre 15 y 60 ng por kg de peso corporal a la semana, incluidos los consumidores de grandes cantidades de alimentos que contienen OTA. Esta tasa de exposición es inferior al valor de la ingesta semanal tolerable de 120 ng/kg de peso corporal elaborado por el Panel. Sin embargo, como las bases de datos del consumo de EFSA no incluyen a los lactantes y niños de corta edad, el Panel CONTAM concluyó que se necesitaría más información para estimar las tasas de exposición de este segmento de consumidores, tomando en consideración sus preferencias alimentarias.
54. La Unidad 3.2.2 de SCOOP presentó datos que indican que la ingesta diaria de cacao es de 31 g/día/persona, que corresponden a una ingesta de OTA de 21 ng/kg/semana/persona. Este informe señala también que esta cantidad de cacao aporta el 5% del total de la ingesta de OTA, en comparación con los cereales, que aportan una cantidad del 55%. La Unidad 3.2.7⁴⁴ de seguimiento de SCOOP señaló que los cereales siguen aportando la cantidad principal, el 50%, mientras que el cacao representa el 4% de la ingesta total.
55. Para estimar la exposición a la OTA a través de la alimentación, el Departamento de Higiene de los Alimentos y Medio Ambiente (FEHD)²⁷ de Hong Kong finalizó un estudio en febrero de 2006 sobre 8 grupos importantes de alimentos, incluidos el chocolate y los productos del cacao. De las 287 muestras de alimentos analizadas para determinar la presencia de OTA, se observó que la exposición a la OTA a través de la alimentación es de 4 y 9 ng/kg de peso corporal a la semana para los estudiantes de secundaria con consumo medio y el consumidor por encima de la media, respectivamente. La principal fuente de OTA a través de los alimentos son los cereales y los productos de cereales (61% de la exposición total), mientras que los chocolates representan el 6% del total de la exposición alimentaria.

ESTADO DE LA REGLAMENTACIÓN

56. En la Unión Europea, el Reglamento CE N °. 1881/2006 del 19 de diciembre de 2006 de la Comisión que fija los niveles máximos para determinados contaminantes en los alimentos²¹, establece niveles máximos para la Ocratoxina A en los granos de cereales sin elaborar, todos los productos derivados de los cereales y uvas pasas (grosellas, pasas y sultanas), el café tostado, el café soluble, el vino, el zumo (jugo) de uva, los alimentos para bebés, alimentos elaborados a base de cereales para lactantes y niños de corta edad, y alimentos dietéticos o para fines médicos especiales destinados específicamente a lactantes. Algunos de los niveles máximos ya están en vigor desde abril de 2002 y otros desde abril de 2005.
57. El Reglamento arriba indicado prevé que *«Se examinará a la luz del reciente dictamen científico de la EFSA la pertinencia de establecer un contenido máximo para la OTA en productos alimenticios tales como frutos secos que no sean uvas pasas, cacao y productos del cacao, especias, productos cárnicos, café verde, cerveza y regaliz, así como la revisión de los contenidos máximos vigentes, en particular para la OTA en uvas pasas y zumo de uva»*.
58. El dictamen del Panel Científico sobre Contaminantes en la Cadena de Alimentos de EFSA con respecto a la Ocratoxina A en productos alimenticios se adoptó el 4 de abril de 2006⁴⁹. En la actualidad la Comunidad Europea está examinando la pertinencia de establecer un contenido máximo para la OTA en otros productos alimenticios distintos a los que ya existe un contenido máximo en el ámbito europeo.
59. La Administración de Alimentos y Medicamentos de Estados Unidos (FDA) no ha establecido límites consultivos ni criterios de intervención para la ocratoxina A en ningún producto.

PREVENCIÓN Y REDUCCIÓN DE LA OTA EN EL CACAO

60. La industria europea del chocolate y el cacao y los países productores están realizando estudios para conocer las fuentes de contaminación y las medidas convenientes para remediarlas.
61. Investigación reciente respaldada por la industria europea del chocolate y el cacao en algunos países productores ha revelado que se puede encontrar OTA en los granos de cacao de la mayoría de países productores y que las prácticas durante las primeras fases de elaboración en las fincas productoras de cacao son esenciales. Por tanto, es necesario intervenir en la finca para lograr una reducción importante de la contaminación por OTA.²⁹
62. En un estudio⁶ relacionado para conocer las fuentes de contaminación por ocratoxina A en los granos de cacao y su desarrollo, los resultados obtenidos en explotaciones más pequeñas en Cote d'Ivoire y Togo sugieren que la OTA está relacionada con las prácticas de elaboración posteriores a la cosecha tales como defectos en la vaina y con las condiciones climatológicas en el mes de cosecha. Por tanto, los niveles de OTA podrían reducirse utilizando prácticas posteriores a la cosecha que los pequeños agricultores puedan poner en práctica.
63. Una parte importante de la OTA originalmente presente en los granos de cacao se encuentra en la cáscara, que se elimina durante la elaboración. Otras fases de elaboración del cacao hasta los productos acabados no eliminan o destruyen/degradan la OTA. Por lo que con un proceso de eliminación de la cáscara bien controlado se podría lograr una importante reducción de los niveles de OTA en los productos derivados del cacao¹. La norma del Codex para el cacao en pasta (licor de cacao/chocolate) y torta de cacao (CODEX STAN 141-1983, rev. 1-2001)³³ contiene niveles máximos para la cáscara y el germen del cacao y por lo menos estos niveles deberían respetarse.
64. En la elaboración primaria del cacao nunca se han aplicado sistemas de gestión de la calidad. Dahl²⁴, en el ámbito del Proyecto Coccoqual financiado por la Unión Europea, desarrolló un sistema de gestión de la calidad basado en la ISO 22000 para la elaboración primaria del cacao, a fin de garantizar una buena calidad, incluida la prevención de la OTA.
65. La experiencia de que las bacterias del ácido láctico inhiben la proliferación del moho ocratoxigénico tiene consecuencias importantes para la seguridad de los alimentos que podrían aprovecharse para prevenir la OTA en el cacao. Posiblemente esta experiencia puede aprovecharse en una elaboración futura de cultivos iniciales para la fermentación del cacao.

66. Se debatió una propuesta de una metodología para reducir la contaminación de OTA en el cacao en colaboración con los productores del cacao²⁹.
67. Datos⁶⁶ recientes señalan que los compuestos fenólicos antioxidantes, ácido gálico, ácido vanílico, ácido 4-hidroxibenzoico, catequina, ácido cafeico (algunos encontrados en los granos del cacao), generalmente eliminan la producción de OTA y la proliferación de varios géneros de *Aspergillus* ocratoxigénico. El efecto de cada compuesto en la producción y proliferación de OTA es diferente entre las distintas cepas y generalmente es variable, sugiriendo que la producción de OTA por géneros específicos y la respuesta a los compuestos fenólicos puede ser influida por diversos factores ecológicos y de desarrollo. La información relativa a la respuesta genética y fisiológica a los compuestos antioxidantes podría llevar a estrategias de intervención selectivas para la reducción de las pérdidas económicas debido a la contaminación por OTA.
68. En un estudio reciente⁶⁷ se ha revelado que el parasitoide, *Prorops nasuta*, un insecto encontrado en muchos países productores de café, está infectado con el productor de OTA *Aspergillus westerdijkiae*. Este resultado ha planteado la posibilidad de que un parasitoide podría diseminar un hongo productor de ocratoxinas en las plantaciones de café. Esta observación enfatiza la necesidad de conocer mejor las interacciones entre insecto-moho con la planta. El resultado podría tener consecuencias similares para el cacao.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

69. El presente documento de debate sobre la OTA en el cacao lleva a las siguientes conclusiones y recomendaciones generales para someterlas examen en la segunda reunión del CCCF:
- (a) Nueva información de Cote d'Ivoire indica que si los granos de cacao no se tratan adecuadamente para minimizar la aparición de hongos ocratoxigénicos, se pueden desarrollar niveles extremadamente elevados de OTA.
 - (b) La producción de cacao representa una importante actividad económica para todos los países productores de África, Asia y América Latina.
 - (c) El cacao es un componente secundario de la alimentación humana y aporta una cantidad pequeña de OTA a la ingesta alimentaria total (5 % de la ingesta total).
 - (d) Una parte importante de OTA originalmente presente en los granos de cacao se encuentra en la cáscara, que no se consume. El Codex Alimentarius estipula ya un nivel máximo para la cáscara del cacao y los gérmenes en la pasta de cacao y torta de cacao.
 - (e) Recomendaciones:
 - (i) Debería alentarse a los países miembros del Codex así como la industria de la elaboración del cacao a supervisar los niveles de OTA en el cacao y los productos del cacao durante varios años.
 - (ii) Debería promoverse y proseguir la investigación de los métodos encaminados a prevenir y reducir la contaminación del cacao en el campo, durante su elaboración primaria y su almacenamiento. Es necesario conocer mejor las interacciones entre los mohos-insectos y el cacao en infecciones sintomáticas y asintomáticas del cacao en el campo. Esto incluye también estudios para identificar las fases de la cadena de producción del cacao que son esenciales para la contaminación con hongos y posible producción de OTA, así como la identificación de especies de hongos productores de OTA observados cuando se cultiva el cacao.

REFERENCIAS

1. Amezqueta, S., Gonzalez-Penas, E., Murillo, M., & Lopez de Cerfin, A (2005) Occurrence of ochratoxin A in cocoa beans: effect of shelling. *Food Additives and Contam.* 22: 590 - 595
2. Amezqueta, S., Gonzalez-Penas, E., Murillo, M., & Lopez de Cerfin, A (2004) Validation of a high performance liquid chromatography analytical method for ochratoxin A quantification in cocoa beans. *Food Additives and Contam.* 21: 1096 -1106
3. Aydin, G., Ozcelik, N., Cicek, E., Soyoz, M (2003) Histopathologic changes in liver and renal tissues by ochratoxin A and melatonin in rats. *Hum. Exp. Toxicol.* 22: 383 - 391
4. Bakker, M., Pieters, M. N. (2002) Risk assessment of ochratoxin A in the Netherlands. RIVM report 388802025/2002
5. Bankole, S. A. and Adebajo, A (2003) Mycotoxins in food in West Africa: current situation and possibilities of controlling it. *African J. Biotechnol.* 2: 254 – 263
6. Bastide, P., Fourny, G., Durand, N., Petithuguenin, P., Guyot, B., Gilmour, M and Lindblom, M (2006) Identification of Ochratoxin A sources during cocoa post-harvest processing: influence of harvest quality and climatic factors. 15th Intl Cocoa Res. Conf., San Jose, Costa Rica, 9-17 October 2006
7. Bonvehi, S. J. (2004) Occurrence of ochratoxin A in cocoa products and chocolate. *J. Agric. Food Chem.* 52: 6347 - 6352
8. Boorman, G. A. (1989) Toxicology and carcinogenesis studies of ochratoxin A in F344/N rats. NTP Technical Report NTP TR 358
9. Boudra, H., Le Bars, P, and Le Bars, J. (1995) Thermostability of Ochratoxin A in wheat under two moisture conditions. *Appl. Environ. Microbiol.* 61:1156-1159
10. Brera, C., Grossi, S., De Santis, B., Miraglia, M (2003) High performance liquid chromatographic method for the determination of ochratoxin A in cocoa powder. *J. Liq. Chromatog. Related Technologies* 26: 585 - 598
11. Brera, C., Grossi, S., Miraglia, M (2005) Interlaboratory study for ochratoxin A determination in cocoa powder samples. *J. Liq. Chromatog. Related Technologies* 28: 35 - 61
12. Brera, C., Grossi, S., Debegnach, F., De Santis, B., Minardi, V., Miraglia, M (2006) Proficiency testing as a tool for implementing internal quality control: the case of ochratoxin A in cocoa powder. *Accred. Qual. Assur.* 11: 349 - 355
13. Britannia Food Ingredients Ltd (1999) Ochratoxin A in cocoa and chocolate products. Technical Communication 5 (September 1999) <http://www.britanniafood.com/english/tc05.htm>
14. Burdaspal, P. A., and Legarda, T. M. (2003). Ochratoxin A in samples of different types of chocolate and cacao powder, marketed in Spain and fifteen foreign countries. *Alimentaria* 347: 143-153
15. Campbell, B. C., Molyneux, R. J., Schatzki, T. F.(2003) Current research on reducing pre- and post-harvest aflatoxin contamination of US tree nuts. *J. Toxicol. Toxin Rev.* 22: 225 - 266
16. CAOBISCO/ECA/FCC (2003) Joint CAOBISCO/ECA/FCC updated position on ochratoxin A in cocoa and chocolate products. CAOBISCO/ECA/FCC 725: 1 -752: 1 - 6
17. CEN Standard 13505 (1999) Food analysis – biotoxins – criteria of analytical methods of mycotoxins
18. COCOQUAL (2007). Developing biochemical and molecular markers as indices for improving quality assurance in the primary processing of cocoa in West Africa. Final Report. Analysis of the mycological status of cocoa beans with emphasis on ochratoxigenic fungi. Project No.ICA4-CT-2002-10040 (EU 5th FP INCO-DEV Project) http://cordis.europa.eu/data/PROJ_FP5
19. Codex Alimentarius Commission (1998) Position paper on ochratoxin A. FAO/WHO, Rome, Italy. http://www.who.int/fsf/chemicalcontaminants/ochratoxinpp99_14.pdf
20. Commission Regulation (EC) No. 401/2006 (23 February 2006) Laying down the methods of sampling and analysis for the official control of the levels of mycotoxins in foodstuffs. Official Journal of the European Union L70/12
21. Commission Regulation No. 1881/2006 (19 December 2006) Setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. Official Journal of the European Union, L 364/4-364/24.

22. CONTAM (June 2006) Mechanism of ochratoxin A induced carcinogenicity as a basis for an improved risk assessment. Ochratoxin A – Risk assessment Project No. QLK-2001-01614.
<http://www.uni.wuerzburg.de/toxikologie/EU-OTA/ochratoxinA.html>
23. Copetti, M. V., Iamanaka, B. T. and Taniwaki, M. H. (2006) Toxigenic fungi in cocoa and cocoa products. A Joint Symposium of ICFM and ICIF at the 8th International Mycological Congress, Cairns, August 19-20, 2006.
24. Dahl, M. W. (2006) Development of a management system for the primary processing of cocoa – based on quality and food safety. MSc. Thesis, The Royal Veterinary and Agricultural University, Dept of Dairy and Food Science, Frederiksberg, Denmark.
25. Engel, G. (2000) Ochratoxin A in sweets, oil seeds and dairy products. Arch. Lebensmittelhygiene 51: 98-101
26. FAO/WHO/UNEP (1999) Mycotoxin prevention and decontamination. Corn: a case study. Third Joint FAO/WHO/UNEP Intl. Conf. Mycotoxins 6b: 2 - 11
27. FEHD Report (2006) LegCo Panel (9 May 2006) LegCo Panel on Food Safety and Environmental Hygiene (Hong Kong). <http://www.legco.gov.hk/yr05-06/english/panels/fseh/paper/fe0509cb2-1905-04-e.pdf>
28. FSA Update (26 October 2006) CONTAMINANTS – October 2006 update on chemical contaminants legislation: mycotoxins. <http://www.foodlaw.rdg.ac.uk/news/eu-06107.htm>
29. Gilmour, M and Lindblom, M (2005) Management of ochratoxin A in the cocoa supply chain. MYCO-GLOBE Conference: Reducing Impact of Mycotoxins in Tropical Agriculture with Emphasis on Health and Trade in Africa. Accra, Ghana, 13 – 16 September 2005
<http://www.iita.org/mycotoxinconf/index.htm>
30. Gilmour, M and Lindblom, M (2006) Management of ochratoxin A in the cocoa supply chain. Summary of work by CAOBISCO/ECA/FCC Working Group on OTA. 15th International Cocoa Research Conference, San Jose, Costa Rica, 9-17 October 2006
31. Honholt, S (2003) Cocoa Processing – control of ochratoxin A as a potential risk factor, MSc Thesis. The Royal Veterinary and Agricultural University, Department of Food Science, section for Quality and Technology, Denmark.
32. Hurst, W. J., Martin, R. A. (1998) High performance liquid chromatographic determination of ochratoxin A in artificially spiked cocoa beans using automated sample clean-up. J. Chromatog. A 810: 89 – 94
33. CODEX STAN 141-1883, Rev. 1-2001
34. Iavicoli, I., Brera, C., Carelli, G., Caputi, R., Marinaccio, A., Miraglia, M. (2002) External and internal dose in subjects occupationally exposed to ochratoxin A. Intl. Archive Occupationally Environment Health 75: 381 -386
35. ICCO (2007) Production of Cocoa Beans. Quarterly Bulletin of Cocoa Statistics.
<http://www.icco.org/statistics/production.aspx> (posted 22 October 2007)
36. International Agency for Research on Cancer (IARC) (1993). IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans; IARC Working Group, WHO: Lyon, France, vol. 56
37. JECFA (1991) Evaluation of certain food additives and contaminants. Thirty-seventh report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. WHO Technical Report Series, No. 806, 1991 and corrigenda
38. JECFA (1995) Evaluation of certain food additives and contaminants. Forty-fourth Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. WHO Technical Report Series No. 859, 1995
39. JECFA (2001) Safety evaluation of certain mycotoxins in Food. Fifty-sixth Meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. WHO Food Additives Series 47 – FAO Food and Nutrition Paper –IPCS- International Programme on Chemical Safety, WHO, Geneva, 2001
40. Krogh, P. (1987): Ochratoxins in food. In: P. Krogh: Mycotoxins in food. Academic Press. pp. 97-121.
41. MAFF (1999) Ministry of Agriculture and Fisheries and Food. Survey of Aflatoxins and ochratoxin A in cereals and retail product. Food Surveillance information Sheet No.130.
<http://www.archive.food.gov.uk/maff/food/infsheet/1999/no185/185ochra.htm>

42. Matsuoka, T (2006) OTA contamination in retail chocolate in Japan in 2005. Standards and Evaluation Division, Department of Food Safety, Ministry of Health, Labour & Welfare, Tokyo, Japan. (Personal Communication).
43. Minifie, B. W. (1982) In B. W. Minifie (ed), *Chocolate, cocoa and confectionery: Science and Technology*, 2nd ed. AVI Publishing Company, Westport, Connecticut.
44. Miraglia, M., Brera, C. (2002) Assessment of dietary intake of ochratoxin A by the population of EU member states, Reports on tasks for scientific cooperation, task 3.2.7., 69-86. Publisher: SCOOP Directorate-General Health and Consumer Protection.
http://www.europa.eu.int/comm/food/fs/scoop/3.2.7_en.pdf
45. Miraglia, M., De Santis, B., Minardi, V., Debegnach, F., and Brera C. (2005) An update on sampling methods for mycotoxin evaluation. MYCO-GLOBE Conference: Reducing Impact of Mycotoxins in Tropical Agriculture with Emphasis on Health and Trade in Africa. Accra, Ghana, 13 – 16 September 2005 <http://www.iita.org/mycotoxinconf/index.htm>
46. Moss, M.O. (1996): Mode of formation of ochratoxin A. *Food Additives and Contaminants*. 13 (suppl.), 5 - 9
47. Murphy P. A., Hendrich, S., Landgren, C., Bryant, C. M.(2006) Food Mycotoxins: An Update. *J. Food Sci.* 71: R51 – R65
48. O'Brien, E., Dietrich, D. R. (2005) Ochratoxin A: The continuing enigma. *Crit. Rev. Toxicol.* 35: 33 - 60
49. Opinion of the Scientific Panel on contaminants in the Food Chain of the EFSA on a request from the Commission related to ochratoxin A in food.(4 April 2006)
http://www.efsa.europa.eu/etc/medialib/efsa/science/contam/contam_opinions/1521.Par.0001.File.dat/contam_op_ej365_ochratoxin_a_food_en1.pdf
50. Pittet, A., Royer, D. (2002) Rapid, low cost thin-layer chromatographic screening method for the detection of ochratoxin A in green coffee at a control level of 10 µg/kg. *J. Agric. Food Chem.* 50: 243 - 247
51. Pohland, A. E., Nesheim, S and Friedman, L (1992) Ochratoxin A: A Review. *Pure & Appl. Chem.*, 64: 1029 -1046
52. Ratters, M and Matissek, R (2000) Ochratoxin A in cocoa and human health aspects. 13th Intl. Cocoa Research Conf., Kota Kinabalu, Sarba, Malaysia, p1429 – 1438, 9 -14 October 2000.
53. Russo, A., La Fauci, L., Acquaviva, R., Campisi, A., Racita, G., Scifo, C., Renis, M., Galvano, G., Vanilla, A., and Galvano, F (2005) Ochratoxin A-induced DNA damage in human fibroblast: protective effect of cyanidin 3-O-b-D-glucoside. *J. Nutrit. Biochem* 16: 31- 37
54. SCF (1998) Opinion of the Scientific Committee for Food on OTA expressed on 17 Sep 1998.
http://www.europe.eu.int/contam/food/fs/sc/scf/out14_en.html
55. Scott, P.M. (1996): Effects of processing and detoxification treatments on ochratoxin A. In: C.P.Kurtzman & J.W. Fell: *Food Additives and Contaminants*. Fourth edition. Elsevier, Amstersam. pp.214-220.
56. Stander, M.A., Steyn, P.S., van der Westhuizen, F.H. and Payne, B.E. (2001). A kinetic study into the hydrolysis of the ochratoxins and analogues by carboxypeptidase A. *Chemical research in Toxicology*, 14: 302-304.
57. Schwartz, G. G. (2002) Hypothesis: Does ochratoxin A cause testicular cancer? *Cancer Causes Control* 13: 91 - 100
58. Tafuri, A., Ferracane, R., Ritieni, A (2004) Ochratoxin A in Italian marketed cocoa products. *Food Chem.* 88 487 - 494
59. Tsubouchi, H., Terada, H., Yamamoto, K., Hisada, K., Sakabe, Y. (1995) Caffeine degradation and increased ochratoxin production by toxigenic strains of *Aspergillus ochraceus* isolated from green coffee beans. *Mycopathologia* 90: 181 – 186
60. Van Egmond, H. P. (1999) Worldwide regulation of ochratoxin A. *IARC Sci. Publ. No.* 115, 331 – 336
61. WHO (1996) Evaluation of certain food additives and contaminants. 44th Report of JECFA; WHO Technical Report series 859; WHO: Geneva, Switzerland.
62. Working Document of the Expert Committee “Agricultural Contaminants” of the European Commission Scientific Committee for Food. Council Meeting of 18 November 2003

63. ADM Cocoa, 1999. The De Zaan Cocoa Products Manual: an ADM Publication on Cocoa Liquor, Cocoa Butter, Cocoa Powder, Koog an de Zaan, Netherlands: ADM Cocoa B.V.
64. Dembele, A., Gerard, F., Manda, P and Nemlin, J. G (2007) Resultats des etudes de recherché du devis programme OTA No. DP/IVC/2005/16 : Contamination du cafe et du cacao par l'ochratoxine A (OTA) en Cote d'Ivoire. Rapport de synthese 2007. Ministere de l'Agriculture, Direction Generale des Productions et de la Diversification Agricoles, Republique de Cote d'Ivoire.
65. Christine Vinkx (2007) Personnal communication (Codex electronic Working Group on OTA in Cocoa).
66. Palumbo, J. D., O'Keeffe and Mahoney, N. E. (2007) Inhibition of ochratoxin A production and growth of *Aspergillus* species by phenolic antioxidant compounds. *Mycopathologia* 164: 241 – 248
67. Vega, F. E., Posasa, F., Gianfagna, T. J., Chaves, F. C. and Peterson, S. W (2006) An insect parasitoid carrying an ochratoxin producing fungus. *Naturwissenschaften* 93: 297 – 299.
68. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) 2007. JECFA/68/SC. Summary and Conclusions. Geneva, 19-28 June 2007, 18p.
69. Sangare-Tigori, B., Moukha, S., Kouadio, J. H., Dano, D. S., Betbeder, A. M., Achour, A. And Creppy, E. E. (2006) Ochratoxin A in human blood in Abidjan, Cote d'Ivoire. *Toxicon*. 47: 894 – 900.
70. Spanjer, M. C., Scholten, J. M., Kastrop, S., Jorissen, U., Schatzki, T. F. and Toyofuku, N. (2006) Sample comminution for mycotoxin analysis: Dry milling or slurry mixing? *Food Additives and Contaminants* 23: 73 – 83.
71. Lobeau, M., De Saeger, S., Sibanda, L., Barna-Vetro, I. And Van Peterghem, C. (2007) Application and validation of a clean-up tandem assay column for screening ochratoxin A in cocoa powder. *Food Additives and Contaminants* 24: 398 – 405.
72. Dongo, L., Bandyopadhyay, R., Kumar, M. and Ojiambo, P. S. (2008) Occurrence of ochratoxin A in Nigerian ready for sale cocoa beans. *Agricultural J.* 3: 4 – 9.

**LIST OF PARTICIPANTS
LISTE DES PARTICIPANTS
LISTA DE PARTICIPANTES
CHAIRPERSON/PRESIDENT/PRESIDENTE**

Dr. Jemmy Takrama
Senior Biochemist,
Cocoa Research Institute of Ghana
P. O. Box 8
Tafo-Akim, GHANA
West Africa
Tel.: +233 243 847 913
Fax.: +233 277 900029
E-mail: jtakrama@yahoo.com

Mr. Kwamina Van-Ess
Deputy Chief Executive
Food and Drugs Board
Accra, GHANA
West Africa
Tel.: + Tel.: +233 219 107 61
Fax.: +233 216 603 89
E-mail: kwaminav@yahoo.com

MEMBER COUNTRIES**BELGIUM – Belgique - BÉLGICA**

Ms Christine VINKX
Expert additives and contaminants
Federal Public Service of Health,
Food Chain Safety and Environment
Place Victor Horta 40, Box 10
1060 Brussels
BELGIUM
Tel.: +32 2 524 7359
Fax.: +32 2 524 7399
E-mail: Christine.vinkx@health.fgov.be

BRAZIL - BRESIL - BRASIL

Ms. Ligia SCHREINER
Expert on Regulation
National Health Surveillance Agency
SEPN 511, BLOCO A, Edificio Bittar II
70750-541 Brasilia
BRAZIL
Tel.: +55 61 3448 6292
Fax.: +55 61 3448 6274
E-mail: ligia.schreiner@anvisa.gov.br

CÔTE D'IVOIRE

Dr. Ardjouma DEMBELE
Scientific Coordinator
Ministry of Agriculture
04 BP 612 Abidjan 04
Abidjan
COTE D'IVOIRE
Tel.: +225 212 439 95
Fax.: +225 202 271 17
E-mail: ardjouma@yahoo.fr

NETHERLANDS - PAYS-BAS - PAÍSES BAJOS

Dr. Martien C. SPANJER
VWA - Food and Consumer Product Safety Authority
NRL for mycotoxins and pesticides in food
Hoogte Kadijk 401, 1018 BK Amsterdam
The Netherlands
E-mail: Martien.spanjer@vwa.nl

Mr. Harrie Storms
Ministry of Health, Welfare and Sport
The Netherlands
E-mail: Hf.storms@minvws.nl

NIGERIA - NIGÉRIA

Ms. Talatu Kudi ETHAN
Assistant Chief Standards Officer
Standards Organisation of Nigeria
13/14 Victoria Arobieke Street. Lekki Phase 1
Lagos
NIGERIA
Tel.: +234 803 337 8217
Fax.: +234 127 082 46
E-mail: talatuethan@yahoo.com

THAILAND – THAÏLANDE - TAILANDIA

Mrs. Voranuch KITSUKCHIT,
Standards officer,
Office of Commodity and System Standards
National Bureau of Agricultural Commodity and Food
Standards,
Thailand
E-mail: kvoranuch@yahoo.com

TOGO

Dr. Egue KOKOU
 Directeur des Laboratoires
 Institut Togolais de Recherche Agronomique
 P.O. Box 1163
 Lomé
 TOGO
 Tel.: +228 225 2148
 Fax.: +228 225 1559
 E-mail: eguekokou@yahoo.fr

**UNITED STATES OF AMERICA - ÉTATS-UNIS
 D'AMÉRIQUE - ESTADOS UNIDOS DE
 AMÉRICA**

Dr. Nega BERU
 Director, Office of Food Safety
 Center for Food Safety and Applied Nutrition
 Food and Drug Administration
 5100 Paint Branch Parkway, College Park
 MD 20740
 UNITED STATES OF AMERICA
 Tel.: +1 301 436 1700
 Fax.: +1 301 436 2651
 E-mail: nega.beru@fda.hhs.gov

MEMBER ORGANIZATION**EUROPEAN COMMISSION**

Mr Frans VERSTRAETE
 Administrator
 European Commission, Health and Consumer
 Protection DG
 Rue Froissart 101
 1049 Brussels
 BELGIUM
 Tel.: +32 2 295.6359
 Fax.: +32 2 299 1856
 E-mail: Frans.verstraete@ec.europa.eu

**INTERNATIONAL NON-GOVERNMENTAL
 ORGANIZATIONS
 ORGANISATIONS NON-
 GOUVERNEMENTALES INTERNATIONALES
 ORGANIZACIONES INTERNACIONALES NO
 GUBERNAMENTALES**

EUROPEAN COCOA ASSOCIATION (ECA)

Ms. Isabelle ADAM
 European Cocoa Association
 Blvd du Souverain 207 box 9
 B-1160 Brussels
 Belgium
 E-mail: Isabelle.adam@eurococoa.com

Ms. Sophie KOETTLITZ
 Assistant Secretary General
 European Cocoa Association
 Blvd du Souverain 207 box 9
 B-1160 Brussels
 Belgium
 E-mail: sophie@eurococoa.com

**INTERNATIONAL CONFECTIONERY
ASSOCIATION (ICA)**

Ms. Penelope ALEXANDRE
 Director Regulatory and Scientific Affairs
 CAOBISCO
 1, rue Defacqz
 1000 Brussels
 Belgium
 E-mail: Penelope.Alexandre@caobisco.be

Ms. Marianne LINDBLOM
 International Cocoa Association
 1, rue Defacqz
 1000 Brussels
 Belgium
 E-mail: MLindblom2@krafteurope.com

IFT

Dr. Cory BRYANT
 Senior Research Scientist
 Institute of Food Technologists
 1025 Connecticut Avenue, NW, Suite 503
 20036 Washington DC
 UNITED STATES OF AMERICA
 Tel.: +1 202 330 4978
 Fax.: +1 202 315 5168
 E-mail: embryant@ift.org