



Tema 9(d) del programa

**CX/CF 11/5/12
Enero de 2011**

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

5ª reunión

La Haya, Países Bajos, 21 – 25 de marzo de 2011

DOCUMENTO DE DEBATE SOBRE LA OCRATOXINA A EN EL CACAO

(Preparado por el Grupo de trabajo por medios electrónicos, dirigido por Ghana y presidido conjuntamente por el Brasil)

INFORMACIÓN GENERAL

1. En su 38ª reunión, el Comité del Codex sobre Aditivos Alimentarios y Contaminantes de los Alimentos (CCFAC) decidió elaborar un documento de debate sobre la contaminación del cacao con ocratoxina A (OTA). El documento de debate debía servir de base para adoptar una decisión sobre la posible necesidad de un código de prácticas para reducir y regular la presencia de OTA en el cacao. Ghana dirigió el grupo de trabajo por medios electrónicos con la colaboración del Brasil, la Comunidad Europea, Indonesia, Suiza, el Reino Unido y los Estados Unidos, y el documento se presentó en la 1ª reunión del Comité del Codex sobre Contaminantes de los Alimentos (CCCF), celebrada en Beijing, China.
2. En su primera reunión, el CCCF acordó que era prematuro iniciar la elaboración de un código de prácticas y que para adoptar una decisión a tal efecto se debía esperar hasta que se hubiera recopilado más información. Después de seguir debatiéndolo, el CCCF decidió establecer un grupo de trabajo por medios electrónicos, dirigido por Ghana, para poner al día el documento de debate con los datos nuevos y demás información pertinente, teniendo en cuenta las observaciones presentadas en la 1ª reunión, para que el CCCF las examinara en su 2ª reunión.
3. En su 2ª reunión el Comité suspendió el examen de la presencia de OTA en el cacao debido a la necesidad de que se generara más información, ya que el tema se examinaría de nuevo cuando estuviera disponible esa información.
4. En la 4ª reunión, la Delegación del Brasil informó al Comité que en ese país se había realizado un nuevo estudio sobre la presencia de hongos ocratoxigénicos y OTA en el cacao, y que ese estudio podía ofrecer los elementos para la elaboración de un código de prácticas para reducir o prevenir la presencia de OTA en el cacao. El Comité decidió que un grupo de trabajo por medios electrónicos, dirigido por Ghana, presidido conjuntamente con el Brasil, elaboraría un documento de debate sobre la presencia de hongos ocratoxigénicos y OTA en el cacao, con el fin de evaluar si se debería elaborar un código de prácticas.
5. Los miembros del grupo de trabajo por medios electrónicos son: Argentina, Australia, Brasil, Canadá, la Comisión Europea, Ecuador, Egipto, los Estados Unidos de América, Ghana, Grecia, Italia, Japón, Malasia, Suiza, el Reino Unido, la European Food Law Association (EFLA), la International Confectionery Association y la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Se recibieron observaciones de los siguientes miembros: Brasil, los Estados Unidos de América, Ghana, Grecia, Italia, Japón, el Reino Unido y la International Confectionery Association.

INTRODUCCIÓN

6. La ocratoxina A es una micotoxina que está presente en forma natural en los productos alimentarios en todo el mundo, tales como los cereales y los productos de cereales, las legumbres, el café, la cerveza, el jugo de uva, la fruta de la vid y el vino, así como en los productos de cacao, las nueces y las especias (EFSA, 2006). En el cacao la OTA se asocia principalmente a las cáscaras de las semillas y a los sólidos sin grasa del cacao (cacao en polvo) (Amezqueta *et al.*, 2004; Bastide *et al.*, 2006). En todas las etapas de la cadena de producción puede haber hongos y OTA presentes: en la cosecha (manual y apertura de las vainas), la fermentación (en cajas o en la finca sobre hojas de banano), el secado (solar o mecánico), el almacenamiento (en costales de yute), en la elaboración y el transporte (COCOQUAL, 2007; FAO/WHO/UNEP, 1999).

7. La palabra "cacao" procede del nombre de la planta: *Theobroma cacao* L., que pertenece a la familia de las *Malvaceae*. Este árbol se originó en la región del Amazonas y en otras zonas tropicales de América del Sur y América Central, y se produce en una franja de 20° al norte y el sur del ecuador. Las temperaturas medias mínima y máxima en la mayor parte de las regiones productoras de cacao son 18°C y 32°C. Se requiere una lluvia abundante de 1 000 a 4 000 mm/año.

8. El término "cacao" se utiliza para las semillas que participan en el comercio y sus productos derivados, mientras que "cacaotero" se refiere al árbol y a sus partes, si bien ambos términos se utilizan indistintamente en algunos lugares.

9. El cacao es producto la fermentación del fruto seco. Las semillas del cacao no se consumen tal como son, sino que se someten a una transformación industrial antes del consumo. El cacao es un ingrediente muy importante en productos farmacéuticos y en diversos tipos de alimentos, como pasteles, galletas, dulces de chocolate, pastas de chocolate para untar, bebidas de cacao, alimentos para niños, helados y dulces (Tafari *et al.*, 2004).

10. En la elaboración industrial del cacao, lo primero es la limpieza, el tostado y la eliminación mecánica de la cáscara. El proceso de eliminación de la cáscara no es 100% eficiente, alrededor del 2% del total del peso de la semilla se debe a la presencia de cáscara y germen durante el proceso de elaboración (CODEX STAN 141-1983). La semilla se muele para obtener pasta o licor de cacao para ulterior elaboración.

11. Un 68% del suministro mundial de semillas de cacao procede del África occidental, especialmente de Côte d'Ivoire, Ghana y Nigeria. También se produce cacao en Asia y en América Latina (Cuadro 1). Como la producción del cacao está principalmente en manos de pequeños agricultores, es un cultivo perdedero de gran valor comercial para cientos de miles de agricultores de los países productores de cacao y también reviste una gran importancia para las economías de esos países. La mayor parte del cacao en grano se exporta a Europa y América del Norte para transformarlo en licor de cacao, manteca de cacao y torta de cacao, que posteriormente servirán para elaborar cacao en polvo y chocolate (Cuadro 2) (ICCO, 2007).

Cuadro 1. Producción mundial de semillas de cacao (2008 – 2010) (miles de toneladas)

País	2007/08		2008/09		2009/10 (previsiones)	
	África	2 693	72,1%	2 520	69,9%	2 459
Camerún	185		227		200	
Côte d'Ivoire	1 382		1 223		1 190	
Ghana	729		662		650	
Nigeria	230		250		260	
Otros	166		158		159	
América	450	12,1%	487	13,5%	505	14,0%
Brasil	171		157		155	
Ecuador	113		134		150	
Otros	167		196		200	
Asia y Oceanía	591	15,8%	598	16,6%	632	17,6%
Indonesia	485		490		535	
Papúa Nueva Guinea	52		59		50	
Otros	54		49		47	
Total mundial	3 734	100,0%	3 604	100,0%	3 596	100,0%

Fuente: *ICCO Quarterly Bulletin of Cocoa Statistics*, Vol. XXXVI, No.3, Cocoa Year 2009/2010. Publicado el 26-08-2010.

Nota: Puede haber una diferencia por redondeo en los totales.

Cuadro 2. Consumo/elaboración mundial de semillas de cacao (miles de toneladas)

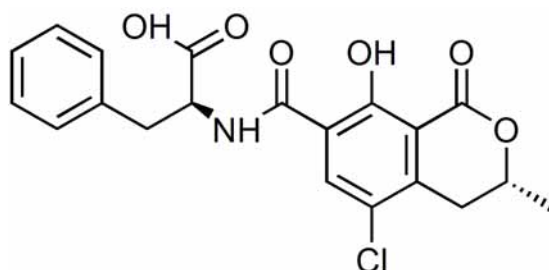
	2003/04		2004/05		2005/06	
Europa	1 346	41,6%	1 375	41,1%	1 462	42,1%
Alemania	225		235		302	
Países Bajos	445		460		470	
Otros	676		680		690	
África	446	14,4%	493	14,8%	507	14,6%
Côte d'Ivoire	335		364		360	
Otros	131		130		147	
América	852	26,3%	853	25,5%	856	24,6%
Brasil	207		209		223	
Estados Unidos	410		419		426	
Otros	235		225		207	
Asia y Oceanía	575	17,7%	622	18,6%	651	18,7%
Indonesia	120		115		120	
Malasia	203		250		250	
Otros	252		257		281	
Total mundial	3 238		3 343		3 476	
Origen	1 188	36,7%	1 254	37,5%	1 279	36,8%

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

ESTRUCTURA QUÍMICA

12. La OTA (7-(L-β-fenilalanil-carbonil)-carboxil-5-cloro-8-hidroxi-3,4-dihidro-3R-metil isocumarina) (Gráfico 1) es un metabolito secundario producido por ciertas especies de *Aspergillus* y *Penicillium* (Pittet and Royer, 2002), 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 y en solución de bicarbonato de sodio diluido y es ligeramente soluble en agua (Scott, 1996).

Gráfico 1. Estructura química de la OTA



13. La enzima carboxipeptidasa A de los mamíferos puede introducir la OTA en productos no tóxicos (ocratoxina alfa y fenilalanina) (Stander *et al.* 2001).

14. La OTA se mantiene estable durante casi todas las etapas de la producción de alimentos, como la cocción, el lavado y la fermentación, y se puede detectar en los productos alimentarios manufacturados (Bakker and Pieters, 2002). Boudra *et al.* (1995) demostraron que un máximo del 20% de la OTA presente en el trigo se descompone con aplicación de calor seco a 100°C durante 160 minutos, o 150°C durante 32 minutos. Durante el tostado del cacao, la temperatura final de la semilla llega a 100° o 120°C con una duración de 15 a 70 minutos (Minifie, 1982), por lo cual no se espera que el tostado reduzca significativamente los niveles de OTA.

EVALUACIÓN TOXICOLÓGICA

15. La OTA está clasificada como posible carcinógeno humano (grupo 2B) (CAC, 1998; IARC, 1993) y en estudios realizados con animales se ha documentado que es nefrotóxica, inmunosupresora, cancerígena y teratogénica (JECFA, 1995; JECFA, 2001; O'Brien and Dietrich, 2005; Tsubouchi *et al.* 1995). Se cree que la OTA se asocia a la nefropatía endémica de los Balcanes, la nefropatía intersticial crónica (en el norte de África), así como a tumores uroteliales en seres humanos (O'Brien and Dietrich, 2005). Con base en asociaciones epidemiológicas se ha planteado la hipótesis de una relación entre la exposición a la OTA en los primeros años de vida y el cáncer testicular (Schwartz, 2002). En estudios anteriores del Programa Nacional de Toxicología (NTP) en los Estados Unidos se demostró que la OTA en grandes dosis puede propiciar la formación de tumores renales en los roedores (Boorman, 1989).

16. En Côte d'Ivoire se hicieron análisis de la presencia de OTA en muestras de sangre humana entre 1998 y 2004 (Sangare-Tigore *et al.*, 2006), que revelaron que 22 de 63 participantes sanos presentaban niveles de OTA en la sangre de 0,01 a 5,81 µg/L, con una media de 0,83 µg/L. Los niveles descubiertos en 8 de 39 pacientes nefropáticos que recibían diálisis fueron de 0,167 a 2,42 µg/L, con una media de 1,05 µg/L.

17. De acuerdo al Panel Científico sobre Contaminantes en la Cadena de Alimentos de la EFSA (Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria) (EFSA, 2006), 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*, con toda probabilidad se pueden atribuir a un daño celular oxidativo, sin que se haya demostrado la existencia de aductos OTA-ADN. Sobre la base del nivel más bajo con efecto adverso observado (LOAEL) de 8 µg/kg pc/día, de los marcadores iniciales de toxicidad renal en cerdos, aplicando un factor compuesto de incertidumbre de 450 para la extrapolación de datos experimentales obtenidos de animales a humanos, así como para la variabilidad entre especies, se obtuvo una ingesta semanal tolerable de 120 ng/kg pc para la OTA. En 2010, la EFSA estudió la posible exposición conjunta a la ocratoxina A y la aristoloquina en la población humana en zonas en las que se había observado una mayor frecuencia de nefropatía endémica de los Balcanes, pero no encontró razones para modificar las conclusiones de su opinión anterior (EFSA, 2010).

18. En su 68ª reunión, el JECFA revisó la ingesta semanal tolerable provisional (ISTP) de 100 ng/kg pc a la luz de nueva información y no encontró razón para modificar el resultado anterior (JECFA, 2007).

MUESTREO

19. Spanjer *et al.* (2006) indicaron que el procedimiento de homogeneización de la muestra es un factor importante en la determinación de la presencia de OTA en diversas matrices de alimentos. La cantidad de OTA que se mide puede variar de acuerdo al tipo de procedimiento de muestreo que se utilice, el cual determina a fin de cuentas la distribución de las partículas por tamaños. La importancia de este descubrimiento es que los planes de muestreo que no están concebidos adecuadamente pueden dar lugar a que se rechacen o acepten lotes erróneamente.

20. El Reglamento 401/2006 de la Comisión Europea (EC 401/2006, 2006) indica los procedimientos de muestreo y los criterios de rendimiento para los métodos de análisis de la presencia de micotoxinas en los alimentos, así como un método de muestreo para el control del contenido de OTA en el café tostado en grano. No hay procedimientos de muestreo específicos para el análisis de la OTA en el cacao ni en los productos de cacao.

MÉTODOS ANALÍTICOS

21. En Lobeau *et al.*, 2007 se presenta un análisis rápido basado en anticuerpos que supone la limpieza secuencial y la detección visual de la OTA en el cacao en polvo. El análisis de detección tiene un nivel mínimo de 2 µg/kg y es adecuado para aplicarse en el campo.

22. El método validado para la cuantificación de la OTA utiliza un protocolo de cromatografía líquida de alta resolución en fase invertida (HPLC/FLD), después de la limpieza con una columna de inmunoafinidad (Brera *et al.*, 2003). Se hizo un estudio entre laboratorios con este método para evaluar el funcionamiento de 18 laboratorios en la determinación de la presencia de OTA en cacao en polvo (Brera *et al.*, 2005). Se obtuvieron resultados satisfactorios de los 10/18, 11/18 y 12/18 participantes, con concentración baja (0,19 µg/kg), concentración media (0,45 µg/kg) y concentración alta (1,45 µg/kg), respectivamente.

23. Copetti (2009) validó un método analítico para semillas de cacao con una columna de inmunoafinidad para la limpieza y HPLC/FLD, con concentraciones de 0,49, 1,96 y 9,80 µg/kg. Las tasas de recuperación fueron del 97,5% al 80% y el límite de detección fue de 0,01 µg/kg. Turcotte and Scott (2010) también validaron un método análogo para el cacao en polvo y el chocolate, con un límite de cuantificación de 0,08 ng/g, recuperación del 79% al 94% y un coeficiente de variación de <5%.

24. 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 supervisión disponible debido a limitaciones económicas y tecnológicas (Murphy *et al.*, 2006). Sin embargo, la interpretación de los datos se debe hacer con cuidado y en algunos casos es necesario hacer análisis complementarios.

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

25. Se ha intentado varias veces aislar e identificar los mohos que producen OTA en las semillas de cacao. En un estudio realizado en Ghana para evaluar el moho presente en el cacao en un período de un año, se aislaron e identificaron 58 especies de hongos, que incluían 26 especies de *Aspergillus*, algunos potencialmente toxigénicos (*A. niger*, *A. ochraceus* y *A. flavus*), 5 especies de *Penicillium* y 8 especies de *Fusarium* (Appiah, 2001). No se indicó el porcentaje de hongos ocratoxigénicos.

26. En otro estudio, ninguna de las 66 cepas de *Aspergillus* aisladas durante la fermentación y el secado de semillas de cacao de Ghana podían producir OTA. Se analizó un total de 13 cepas de *Aspergillus* de Côte d'Ivoire, 16 de Nigeria y 86 de Ghana para observar la producción de OTA y sólo se encontraron dos *Aspergilli* ocratoxigénicos (COCOQUAL, 2007).

27. En un estudio que se está realizando en Ghana (Abrokwa and Sackey, 2010), se hicieron tres tipos de fermentaciones del cacao en tres localidades ecológicas, con vainas clasificadas como sanas, enfermas, y dañadas o rotas. El secado de las semillas fermentadas se llevó a cabo bajo regímenes distintos, como a la intemperie, y secado extendido breve para simular un secado inadecuado o afectado por la lluvia. Se aislaron varias especies de hongos durante las etapas de fermentación y secado, y algunas de las especies sólo se presentaron durante la etapa de secado. Las especies presentes en ambos procesos son: *A. niger*, *A. flavus*, *A. ochraceus*, *A. sulphureus* y *stolonifer*. Los análisis de OTA revelaron niveles bajos en las semillas (de hasta 0,5 0.5 µg/kg), obtenidos predominantemente de vainas enfermas, enfermas/dañadas y dañadas/rotas.

28. En Brasil se hizo un estudio de la presencia de hongos ocratoxigénicos y OTA en el cacao, en el período de 2006 a 2008 (Copetti *et al.*, 2010). Un total de 222 muestras de cacao recogido en distintas etapas de elaboración constó de las siguientes muestras: antes de la fermentación (25), fermentación (51), secado (81) y almacenamiento (65). En este estudio se aislaron 271 hongos pertenecientes a especies potencialmente ocratoxigénicas de *Aspergillus*, y se identificaron como: *A. carbonarius*, agregado *A. niger*, *A. ochraceus*, *A. melleus* y *A. westerdijkiae*. Antes de la fermentación no se encontraron en las vainas de cacao, sanas ni dañadas, especies capaces de producir OTA. Durante la fermentación, sólo se encontraron algunos aislados del grupo *Aspergillus niger* y la diversidad y número más grandes de especies capaces de producir OTA se encontraron durante el secado al sol. En el almacenamiento se observó un aumento de la presencia del agregado *Aspergillus niger* y *A. carbonarius*. La especie más frecuente que se aisló con potencial de producir OTA fue el grupo *Aspergillus niger*. Con todo, sólo 10 (5,2%) de los 191 aislados pudieron producir OTA en agar extracto de levadura (agar YES). Por otra parte, los 92 aislados de *A.*

carbonarius y 10 aislados de *Aspergillus* sección *Circumdati* (6 *A. melleus*, 2 *A. ochraceus* y 2 *A. westerdijkiae*) podían producir OTA (Cuadro 3). Este estudio concluyó que la principal fuente de OTA en el cacao es el *A. carbonarius*, si bien otras especies ocratoxigénicas aisladas también pueden contribuir a su formación.

Cuadro 3. Frecuencia de aislamiento de especies ocratoxigénicas y frecuencia de semillas infectadas de cacao en distintas etapas de elaboración (Copetti *et al.*, 2010).

	Fermentación (51 muestras)		Secado (81 muestras)		Almacenamiento (65 muestras)	
	IF (%)	RI (%)	IF (%)	RI (%)	IF (%)	RI (%)
<i>Aspergillus carbonarius</i>	1,96	0-3	3,70	0-24	7,81	0-66
<i>A. niger aggregate</i>	3,92	0-9	14,8	0-48	26,15	0-51
<i>A. ochraceus</i>	0	0	2,47	0-3	0	0
<i>A. melleus</i>	0	0	2,47	0-6	3,13	0-3
<i>A. westerdijkiae</i>	0	0	2,47	0-6	0	0

^a IF = frecuencia de aislamiento % (número de muestras que tenían una especie fúngica/total de muestras evaluadas, %);
RI = rango de infección % (rango de semillas infectadas en una muestra, %).

29. Ninguna de las 25 muestras tomadas antes de iniciar la fermentación contenía OTA. Catorce (27%) muestras de fermentación contenían OTA, aunque casi todas las muestras estaban próximas al límite de detección del método (0,01 µg/kg). Sólo tres de las muestras resultaron superiores a 0,10 µg/kg, con un máximo de 1,70 µg/kg. Después de la fermentación, en la etapa de secado al sol, se detectó OTA en el 51% de las muestras, y casi todas (73%) las muestras presentaron niveles inferiores a 0,10 µg/kg. Sólo una muestra contenía 5,54 µg/kg. En almacenamiento, tanto el número de muestras positivas de OTA como el nivel de contaminación fueron parecidos a los resultados obtenidos durante el secado (Cuadro 4). De las 221 muestras analizadas, sólo dos tenían valores de OTA superiores a 2 µg/kg (Copetti *et al.*, 2010).

Cuadro 4. Contaminación de semillas de cacao por OTA en distintas etapas de elaboración (Copetti *et al.*, 2010).

Etapa/número de muestras evaluadas	OTA>LD n(%)	OTA>2 µg/kg n(%)	OTA (µg/kg)			
			Máxima	Mediana	Media	
Antes de la fermentación	25	0 (0%)	0 (0%)	<0,01	<0,01	<0,01
Fermentación	51	14 (27%)	0 (0%)	1,70	<0,01	0,05
Secado al sol	81	41 (51%)	1 (1%)	5,54	0,01	0,13
Almacenamiento	65	33 (52)	1 (2%)	4,64	0,02	0,10

^a Límite de detección (LD): 0,01 µg/kg; recuperación media del método: 90,8%.

30. Mounjouenpou *et al.* (2008) evaluaron la forma en que el tipo de tratamiento postcosecha (cajas o cúmulos) del cacao repercutía en los hongos filamentosos y la toxigenesis. La principal cepa productora de OTA que se aisló fue el *Aspergillus carbonarius*, con niveles muy bajos de OTA en semillas sin fermentar y fermentadas de vainas sanas. Los hongos filamentosos fueron más abundantes al final de la temporada de la cosecha. Los factores que repercuten en la integridad de la semilla (mala manipulación, retardo de la elaboración) se tradujeron en un aumento cualitativo y cuantitativo de la contaminación, cuando el número

total de hongos filamentosos podía llegar a un valor máximo de $5,5 \pm 1,4 \times 10^7$ CFU/g y los *Aspergilli* negros a un valor máximo de $1,42 \pm 2,2 \times 10^7$ CFU/g. El cacao seco fermentado de vainas de mala calidad fue el más contaminado por OTA, hasta 48 ng/g.

31. Gilmour and Lindblom (2008) también encontraron niveles más altos de OTA en semillas de vainas dañadas después de cinco días de almacenamiento, contaminación que se había iniciado el primer día de la fermentación, con niveles más altos de contaminación en el centro del cúmulo. A tres días de iniciada la fermentación, la tendencia se invirtió y la contaminación era claramente mayor en las orillas. Esta inversión estaba acompañada por una formación considerable de moho en la superficie del cúmulo. A cinco días de iniciada la fermentación, el contenido de OTA aumentó todavía más. Sólo se encontraron indicios de OTA después de la fermentación y secado de semillas de vainas sanas almacenadas durante cinco días. Después de cuatro semanas de almacenamiento de las vainas, los niveles de OTA resultaron bajos y sólo hubo una pequeña diferencia entre los niveles de las semillas de vainas sanas y los de vainas dañadas. Los niveles de OTA en las vainas con moho (~ 7 ng/g), dañadas por insectos (~ 4 ng/g) y resecas (~ 3 ng/g) fueron sustancialmente inferiores a los observados en las vainas físicamente dañadas (~ 20 ng/g), pero en general mayores que los encontrados en las vainas de control sin daños (~ 2 ng/g).

32. En un estudio realizado por Ratters and Matissek (2006) se separó en pulpa y semillas un total de ocho vainas de cacao visiblemente sanas de las regiones productoras de la República Dominicana (año de cultivo: 1999) y Ghana (año de cultivo: 2000) y siete vainas de cacao dañadas o con moho de Ghana, cultivadas en 2001. No se detectó la presencia de OTA en ninguna de las muestras de vainas de cacao, semillas o pulpa analizadas (LD de $0,02 \mu\text{g}/\text{kg}$). Los autores también mostraron que la fase de maduración de las vainas de cacao desde el árbol hasta la cosecha no es un paso crítico para la producción de OTA.

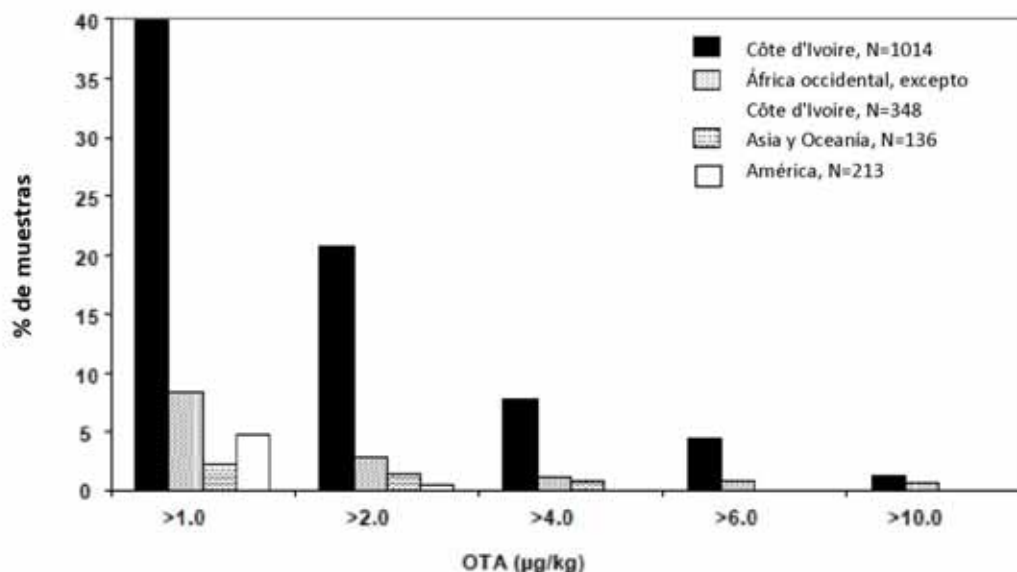
33. Amezqueta *et al.* (2004) analizaron la presencia de OTA en 46 muestras de semillas de cacao de diversos orígenes y lotes. Un total de 63% de las muestras estaban contaminadas (LD de $0,04 \mu\text{g}/\text{kg}$), con niveles desde $0,04$ hasta $14,8 \mu\text{g}/\text{kg}$, media y mediana de $1,71$ y $1,12 \mu\text{g}/\text{kg}$ respectivamente.

34. En un estudio realizado en Côte d'Ivoire, se analizó cacao llegado a los puertos de Abidjan y San Pedro para analizar la contaminación de OTA. Se tomaron muestras de semillas secas de cacao para analizarlas de conformidad con el Reglamento 401/2006 de la CE. De 150 muestras analizadas en Abidjan, 23 presentaron niveles de OTA $>2,0 \mu\text{g}/\text{kg}$ y 10 de 150 muestras recogidas en San Pedro presentaron niveles $>2,0 \mu\text{g}/\text{kg}$ (Dembele, 2009).

35. Un análisis de semillas de cacao de Nigeria listas para la venta dio resultado positivo sobre la presencia de OTA en el 91,5% de las 59 muestras evaluadas, con concentraciones de $1,0$ a $277,5 \mu\text{g}/\text{kg}$ (Dongo *et al.*, 2008). Para la determinación se utilizó un análisis ELISA indirecto y competitivo, mucho menos sensible que el método HPLC.

36. La industria europea analizó muestras de semillas de cacao importadas de diversos orígenes desde 1999 (Gráfico 2). Los resultados indican que se encuentran semillas de cacao contaminadas de OTA en todas las regiones productoras de cacao (Gilmour and Lindblom, 2008). El Cuadro 5 presenta datos adicionales sobre la frecuencia de la presencia de OTA en semillas de diversos países productores.

Gráfico 2 – Niveles de OTA en semillas de cacao importadas en Europa de distintas regiones del mundo, 1999-2005 (Gilmour and Lindblom, 2008).



Cuadro 5. Datos adicionales sobre la presencia de OTA en semillas de cacao de diversos países productores.

Origen	Año	Número de muestras			% >2 µg/kg	Bibliografía
		Total	>LC*	>2 µg/kg		
Abidjan	2005	147		23	16	Dembele <i>et al.</i> , 2009
San Pedro	2005	151		10	7	Dembele <i>et al.</i> , 2009
Côte d'Ivoire		33	24	5	15	Amazqueta <i>et al.</i> , 2004
Camerún		7	3	1	14	Amazqueta <i>et al.</i> , 2004
Guinea Ecuatorial		6	2	0	0	Amazqueta <i>et al.</i> , 2004
África		21	16	1	5	Bonvehi, 2004
Brasil	2006-2008	222	88	2	1	Copetti <i>et al.</i> , 2010

* Límite de cuantificación

EFFECTOS DE LA ELABORACIÓN EN EL CONTENIDO DE OTA EN LOS PRODUCTOS

37. El cacao en grano se debe someter a transformación industrial antes del consumo. Durante esta elaboración industrial, la actividad del agua (a_w) es de $<0,8$, demasiado baja para la formación de OTA. Los primeros pasos de la elaboración son el tostado y la eliminación de la cáscara (Gilmour and Lindblom, 2008).

38. Se hicieron análisis de OTA en 15 pares de muestras de cáscara y semillas en trozos, tomadas al mismo tiempo de aventadoras industriales (Gilmour and Lindblom, 2008). El contenido de OTA de las semillas utilizadas para elaboración se calculó sobre la base de los resultados de las fracciones de cáscaras y de semillas en trozos. En las semillas enteras ese contenido fue de 0,3 a 3,0 ng/g. Un promedio del 48% (rango 25%-72%) de la OTA presente en las semillas se eliminó con la fracción de la cáscara.

39. En un estudio en el que se eliminaron las cáscaras del cacao manualmente, Amazqueta *et al.* (2005) observaron una reducción del contenido de OTA de $>95\%$ en 14/22 muestras, de 65% a 95% en 6/22 muestras y sólo en una muestra se observó una reducción inferior al 50%.

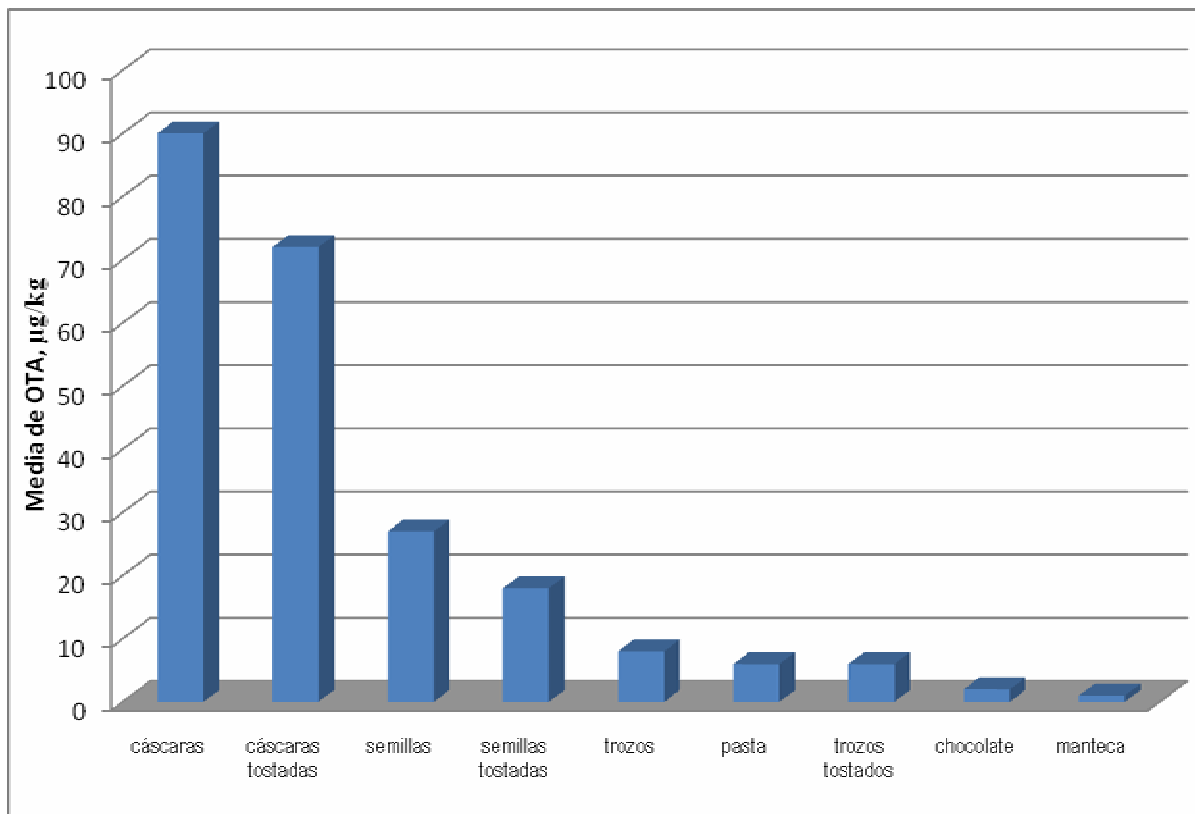
40. El análisis de 170 muestras de productos de cacao de procedencia geográfica diversa reveló que los niveles de OTA más altos estaban en la cáscara del cacao y en la torta de cacao (de 0,1 a 23,1 µg/kg) y sólo se

observó un contenido menor en los productos del cacao, como el pastel de cacao, pasta de cacao, costillas asadas, manteca de cacao y chocolate (Bonvehi, 2004).

41. Las semillas en trozos se muelen para formar la pasta o licor de cacao, un líquido viscoso que contiene ~50% de grasa. La pasta/licor de cacao se puede mezclar con otros ingredientes o se puede "prensar" para obtener manteca de cacao y cacao en polvo. Después del prensado, toda la OTA que estaba presente en las semillas en trozos aparece en el cacao en polvo. Este resultado es previsible ya que el cacao en polvo es un concentrado de la fracción de sólidos del cacao. No se encontró OTA en la fracción de manteca de cacao (Gilmour and Lindblom, 2008).

42. Se elaboraron 16 muestras grandes de semillas secas de cacao, especialmente almacenadas en condiciones favorables a la formación de mohos durante cuatro meses, para obtener manteca de cacao y chocolate, a fin de determinar los efectos de la elaboración en el contenido de OTA de semillas contaminadas. Las cáscaras se eliminaron manualmente. En las 16 muestras elaboradas, los niveles de OTA variaban de 3,37 a 46,15 $\mu\text{g}/\text{kg}$, con un promedio de 24,0 $\mu\text{g}/\text{kg}$. La mayor contaminación se observó en las cáscaras de las semillas sin tostar, con un valor medio de 91,0 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Los chocolates contenían 1,86 $\mu\text{g}/\text{kg}$ en promedio, y la manteca no contuvo OTA (véase el Gráfico 3). En promedio, un 70% de la OTA se eliminó con la fracción de la cáscara (Dembele *et al.*, 2009).

Gráfico 3. Contenido medio de OTA en diversos productos elaborados con semillas contaminadas de cacao. Datos de Côte d'Ivoire (Dembele *et al.*, 2009)



PRESENCIA DE OTA EN LOS PRODUCTOS DE CACAO

43. En 2005 se analizaron 10 muestras de cacao en polvo y nueve de chocolate, del mercado abierto de Bélgica (Christine Vinkx, 2007). Cinco muestras de cacao en polvo dieron resultados inferiores al límite de cuantificación (LC) (0,3 (0,3 $\mu\text{g}/\text{kg}$) y las otras cinco muestras presentaron niveles de OTA de 0,60 a 0,81 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Las nueve muestras de chocolates presentaron niveles de OTA inferiores al LC.

44. En un estudio realizado en Japón en 2005, 14 de las 41 muestras analizadas de chocolates del comercio minorista presentaron contenidos de OTA de <0,10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (14 muestras) a 0,94 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (MHLW, 2006).

45. El informe de la Tarea de cooperación científica 3.2.7 reveló que el 81,3% de los productos de cacao analizados, estaban contaminados de OTA. Esto significa que de las 547 muestras de productos de cacao, 445 dieron resultados positivos. El nivel de contaminación variaba de 0,01 a 3,8 µg/kg, con un promedio de 0,23 µg/kg (Cuadro 6) (Miraglia and Brera, 2002).
46. Vecchio and Finoli (2007) detectaron niveles de OTA de 0,1 a 3 µg/kg en el 82% del cacao en polvo que se comercializa en Italia; dos muestras mostraron un contenido >2 µg/kg.
47. Burdaspal and Legarda (2003) evaluaron la presencia de OTA en 296 muestras de distintos tipos de chocolates y cacao en polvo adquiridos en España y en otros 15 países. Se encontró OTA en todas, menos en una de las muestras (fueron positivas el 99,7% de las muestras). En el Cuadro 6 se exponen los detalles.
48. Turcotte and Scott (2010) detectaron la presencia de OTA en el cacao y en productos de cacao disponibles en el mercado minorista del Canadá, con una frecuencia del 100%. Las concentraciones de OTA encontradas en el cacao alcalinizado (n=16) iban de 0,57 a 7,8 µg/kg, y en el cacao natural las concentraciones (n=16) iban de 0,25 a 2,6 µg/kg. Seis muestras de cacao (5 alcalinizadas y 1 natural) presentaron un contenido de OTA >2 µg/kg. Las concentraciones encontradas en el chocolate para productos de horno (n=7), chocolate oscuro (n=14) y chocolate con leche (n=7) fueron de 0,12 a 1,4, 0,17 a 0,88 y 0,05 a 0,19 µg/kg, respectivamente.
49. En Italia, el 60% de las 300 muestras de cacao en polvo y productos de chocolate del mercado presentaron niveles de OTA superiores al LC (0,08 µg/kg). Todas las muestras de cacao en polvo resultaron contaminadas y el nivel de OTA más elevado se observó en una muestra de chocolate oscuro (Cuadro 6). Las concentraciones medias estuvieron por debajo del anterior límite autorizado en Italia (0,5 µg/kg para los productos de chocolate y 2,0 µg/kg para el cacao en polvo) (Brera *et al.*, 2010).

Cuadro 6. Contenido de Ocratoxina A en diversos productos de cacao

Producto	Origen	Total / muestras positivas*	LC o LD, µg/kg	Max., µg/kg	Mediana, µg/kg	Media, µg/kg	Bibliografía
Chocolate		41/27		0,94			MHLD, 2006
Chocolate		40 ²					MAFF, 1999
Chocolate	Alemania	352/297	0,01	3,6	0,06	0,1	Miraglia and Brera, 2002
Chocolate	Reino Unido	40/18	0,1	0,6	0,1	0,38	Miraglia and Brera, 2002
Chocolate	España	35	0,01		0,12		Burdaspal & Legarda, 2003
Chocolate	no España	52	0,01		0,268		Burdaspal & Legarda, 2003
Dulces de chocolate	Italia	47/21		0,42		0,15	Brera, <i>et al.</i> , 2010
Cáscara de cacao	Brasil	19/19	0,01	2,01		1,13	Copetti, 2009
Manteca de cacao	Brasil	25/5	0,01	0,06		0,03	Copetti, 2009
Manteca de cacao	varios	4/0	0,1				Bonvehi, 2004
Manteca de cacao	Países Bajos	6/0	0,25				Miraglia and Brera, 2002
Cacao para untar	Países Bajos	8/0	0,25				Miraglia and Brera, 2002
Torta de cacao	Brasil	26/19	0,01	3,18		0,97	Copetti, 2009
Torta de cacao	varios	80/74	0,1	9		2,79	Bonvehi, 2004
Polvo para bebidas de cacao		247/101	0,1-0,5 ³			0,2	Gilmour & Lindblom, 2008
Pasta de cacao	varios	8/4	0,1	3,5		1,07	Bonvehi, 2004
Pasta de cacao	Países Bajos	1/0	0,25				Miraglia and Brera, 2002
Cacao en polvo	Brasil	44/44	0,01	5,13		1,09	Copetti, 2009
Cacao en polvo	varios	31/29	0,1	4,4		2,41	Bonvehi, 2004
Cacao en polvo	España	21			0,24		Burdaspal & Legarda, 2003

Producto	Origen	Total / muestras positivas*	LC o LD, µg/kg	Max., µg/kg	Mediana, µg/kg	Media, µg/kg	Bibliografía
Cacao en polvo	no España	5			0,17		Burdaspal & Legarda, 2003
Cacao en polvo		1189/1094	0,1-0,5 ³			1	Gilmour & Lindblom, 2008
Cacao en polvo	Italia	18/9	9	0,77		0,43	Tafari et al., 2004 ¹
Cacao en polvo		20/19		2,4		0,68	MAFF, 1999
Cacao en polvo		20/20				1,67	MAFF, 1999
Cacao en polvo	Alemania	96/91	0,01	1,8	0,3	0,38	Miraglia and Brera, 2002
Cacao en polvo	Reino Unido	40/39	0,2	2,4		1,2	Miraglia and Brera, 2002
Cacao en polvo	Países Bajos	6/0	0,25				Miraglia and Brera, 2002
Cacao en polvo	Italia	40/40		1,82		0,55	Brera, <i>et al.</i> , 2010
Chocolate oscuro	Italia	120/92		0,74		0,20	Brera <i>et al.</i> , 2010
Chocolate oscuro	Brasil	25/25	0,01	0,87		0,34	Copetti, 2009
Chocolate oscuro	España	35			0,25		Burdaspal & Legarda, 2003
Chocolate oscuro	no España	52			0,27		Burdaspal and Legarda, 2003
Chocolate oscuro		536/300	0,1-0,5 ³			0,26	Gilmour and Lindblom, 2008
Chocolate/ crema de chocolate	-	11/8	0,1	1,59		0,63	Bonvehi, 2004
Huevos de Pascua	Italia	15/5		0,50		0,20	Brera, <i>et al.</i> , 2010
Licor	Brasil	25/5	0,01	1,09		0,34	Copetti, 2009
Chocolate de leche	Brasil	25	25	0,45		0,15	Copetti, 2009
Chocolate de leche	España	47			0,12		Burdaspal & Legarda, 2003
Chocolate de leche	no España	122			0,1		Burdaspal & Legarda, 2003
Chocolate de leche	Italia	78/21		0,26		0,15	Brera et al. 2010
Chocolate de leche		228/52	0,1-0,5 ³			0,16	Gilmour & Lindblom, 2008
Chocolate en polvo	Brasil	25/25	0,01	0,92		0,39	Copetti, 2009
Chocolate blanco	Brasil	25/23	0,01	0,05		0,03	Copetti, 2009
Chocolate blanco	España	5			0,03		Burdaspal & Legarda, 2003
Chocolate blanco	no España	9			0,03		Burdaspal & Legarda, 2003

¹Los resultados están corregidos para consignar la recuperación; ²30 muestras <0,6 µg/kg; distintos laboratorios analizaron las muestras, con LD de 0,1, 0,2 o 0,5 µg/kg; *incluye las muestras entre LD-LC.

FACTORES QUE REPERCUTEN EN LA PRESENCIA DE OTA EN EL CACAO

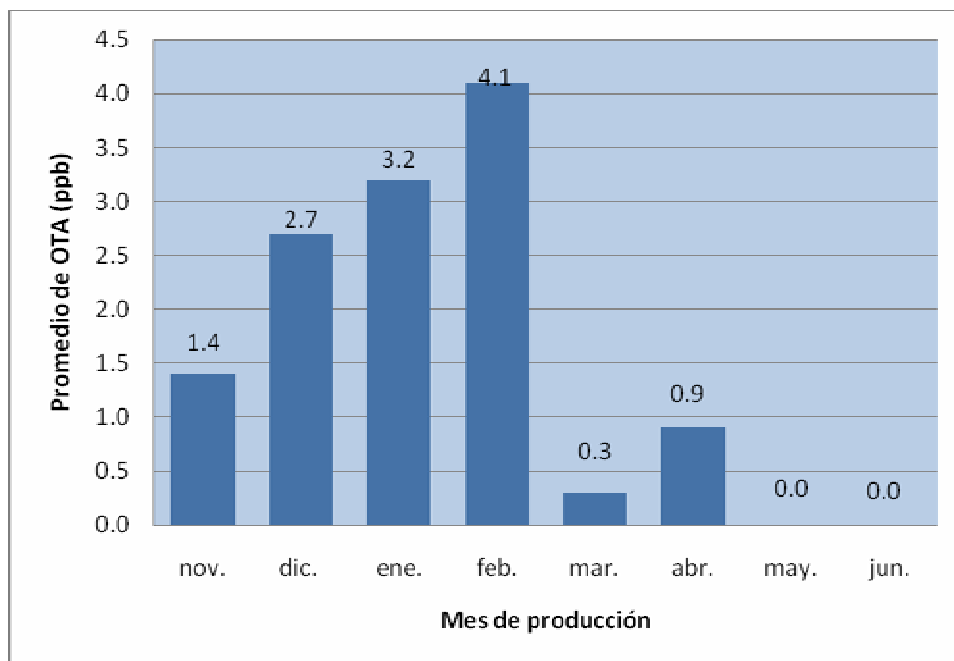
50. Gilmour and Lindblom (2008) informaron de un estudio realizado entre 1999 y 2004 en África occidental (Gráfico 4). El objetivo del estudio era identificar los puntos de control en la cadena del cacao, con el objetivo de sentar las bases para la formulación de estrategias de prevención que se establecerían en un marco de análisis de peligros y puntos críticos de control (APPCC) con el fin de reducir al mínimo la exposición del consumidor.

Las conclusiones fueron:

- a) la contaminación comienza desde que el fruto está en el árbol y la cosecha hasta antes de la fermentación, y las vainas dañadas son la parte principal del problema;
- b) la inoculación inicial se produce antes de o durante la fermentación;
- c) el procedimiento de secado de las semillas del cacao puede contribuir a la formación de OTA, pero no parece ser la principal fuente de contaminación;

- d) parece que un secado deficiente permite aumentar los niveles de toxinas en las semillas que ya estaban contaminadas;
- e) los niveles de OTA pueden variar durante la temporada agrícola;
- f) en las muestras de cacao en grano tomadas en etapas posteriores de la cadena de suministro no se encontraron otros aumentos de los niveles de OTA; y
- g) ~50% de la toxina contaminante se elimina físicamente al retirarse las cáscaras de las semillas.

Gráfico 4. Variación de los niveles de OTA como función de la producción mensual (Gilmour and Lindblom, 2008)

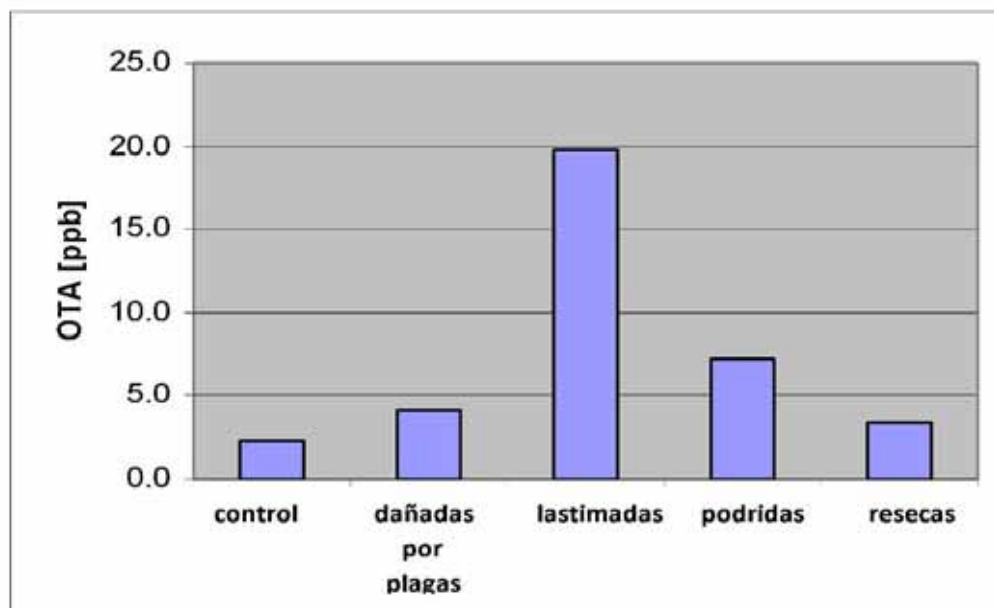


51. Experimentos realizados en grandes fincas comerciales de Côte d'Ivoire indicaron que se producía muy poca OTA durante una fermentación bien controlada. La fermentación se llevaba a cabo en costales situados en medio y encima de cajas de madera para la fermentación. Estas cajas no tenían contaminación visible de mohos al terminar la fermentación, el contenido de las cajas se secaba a dos profundidades diferentes (3 y 8 cm) en capas de secado. No se encontró OTA en ninguna de las muestras (Gilmour and Lindblom, 2008).

52. A diferencia de los resultados obtenidos en estudios de fermentación a escala industrial en grandes cajas, muchas de las muestras de semillas producidas por pequeños agricultores (fermentación en cúmulos, lotes pequeños) presentaron OTA. El nivel de OTA fue de $>0,5$ ng/g en 24 de las muestras (39%) y >2 ng/g en 11 muestras (18%). Los autores concluyeron que las condiciones de secado por sí solas no son responsables del contenido de OTA, que depende de la interacción entre las condiciones de la cosecha, la fermentación y el secado, y que la temporada seca parece ser el período más crítico para la contaminación por OTA. De esta manera, las condiciones más difíciles de fermentación que se producen en esos momentos, debido a las condiciones del clima y a la índole del mucílago, podrían facilitar la formación de mohos y la producción de OTA (Gilmour and Lindblom, 2008).

53. En un programa en curso sobre la OTA (Dembele *et al.*, 2009) en Côte d'Ivoire, se hicieron estudios para determinar los puntos críticos de contaminación en la finca. Los resultados demostraron que las semillas de vainas con daños físicos eran las más contaminadas, con niveles de 2,49 a 2,8 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Sin embargo, las vainas parcialmente podridas mostraron niveles de contaminación de 0,3 a 0,74 $\mu\text{g}/\text{kg}$, mientras que las semillas de vainas buenas presentaron un contenido de 0,22 a 0,37 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de OTA (Gráfico 5).

Gráfico 5. Efecto de la condición fitosanitaria de las vainas de cacao en los niveles de OTA encontrados en las semillas secas de cacao (Bastide *et al.*, 2006).



54. De 37 muestras recogidas de cúmulos de fermentación, semillas en secado, esterillas de secado, hojas de plátano y muestras de aire, sólo se encontró un *A. niger* productor de OTA. Además, de otras muestras de semillas de cacao con análisis positivo de OTA, tomadas durante el secado y el almacenamiento, sólo se encontró *A. carbonarius* un productor de OTA. Este trabajo sobre la micoflora de las semillas de cacao y el entorno agrícola reveló que había hongos capaces de producir OTA en muestras de semillas, así como en el medio ambiente y en el equipo de la finca (COCOQUAL, 2007).

55. Estudios con cultivos de cacao demuestran el potencial de formarse y producir OTA del *A. ochraceus* y otros mohos del cacao que se pueden aislar (*A. carbonarius*, *A. niger*, *A. tubingensis*). Se demostró que la producción de OTA depende mucho de la temperatura, el pH y la actividad del agua del sustrato. Se observó que una actividad del agua de 0,97 es óptima para la biosíntesis de la OTA. El *A. niger* BFE 632 mostró la mayor producción de OTA, a 30°C en agar de malta-glucosa, mientras que el *A. carbonarius* BFE 640 produjo más OTA en agar de cacao a 25°C (COCOQUAL, 2007).

INGESTA ALIMENTARIA

56. El Grupo Científico sobre Contaminantes en los Alimentos, de la EFSA, estimó que los niveles actuales de exposición a la OTA en los Estados miembros de la UE va de 15 a 60 ng/pc/semana (5º proyecto del Programa marco de investigación y tecnología, sobre Evaluación de riesgos-OTA: QLK1-2001-01614). Este índice de exposición es inferior al valor de la ingesta semanal tolerable (IST) de 120 ng/kg pc, obtenida por el Grupo. Sin embargo, dado que las bases de datos actuales de la EFSA sobre el consumo no incluyen a lactantes y niños, el Grupo concluyó que hacen falta más datos para evaluar las tasas de exposición de este segmento de consumidores y de los que consumen grandes cantidades de determinadas especialidades regionales que contienen OTA (EFSA, 2006).

57. La Tarea 3.2.2 de cooperación científica (SCOOP) presentó datos que indican que el consumo diario de cacao es de 31 g/día/persona, lo que corresponde a una ingesta de OTA de 21 ng/kg/semana/persona, lo que contribuye al 5% del total de la ingesta de OTA. El consumo de cereales aportó un 55% del total de la ingesta. La Tarea 3.2.7 de seguimiento de la SCOOP (Miraglia and Brera, 2002) confirmó que los cereales seguían siendo los que más contribuyen al total de la ingesta de OTA.

58. Para estimar la exposición alimentaria a la OTA, el Departamento de Higiene de los Alimentos y Medio Ambiente (FEHD, 2006) de Hong Kong concluyó en febrero de 2006 un estudio que abarcó ocho importantes grupos de alimentos, que comprenden el chocolate y los productos de cacao. Se observó que la exposición alimentaria a la OTA era de 4 y 9 ng/kg pc/semana para el estudiante de secundaria promedio, y

para el consumidor por encima del promedio, respectivamente. La principal fuente alimentaria de OTA fueron los cereales y sus productos (61% del total de la exposición), los chocolates aportaron un 6% al total de la exposición alimentaria.

59. En los Países Bajos la ingesta promedio de OTA se estimó de 1,0 ng/kg pc/día, de lo cual el 5% procedía del consumo de productos de cacao y más del 50% del consumo de cereales. Otras fuentes son el café, el vino tinto y la carne (Baker and Pieters, 2002).

60. En Canadá, la exposición estimada a la OTA va de 1,15 a 1,76 ng/kg pc/día para los adultos, y de 2,6 a 4,38 ng/kg pc/día para los niños, donde los cereales y los alimentos a base de cereales son las principales fuentes de exposición. Esta evaluación no contempla la exposición a la OTA por el cacao y el chocolate (Kuiper-Goodman *et al.*, 2010).

61. En Italia, la ingesta semanal más elevada de OTA se asoció al consumo de huevos de Pascua por los niños (grupo de 0 a 10 años) (Brera *et al.*, 2010). Suponiendo que el cacao y los productos a base de chocolate representaran el 4% de la alimentación (Miraglia and Brera, 2002), la ingesta estimada fue de 4,8 ng/kg pc/semana, muy por debajo de la ISTP establecida por la EFSA (120 ng/kg pc/semana).

62. En España, la ingesta diaria estimada de OTA por el consumo de chocolate y productos de cacao (consumo medio de 8,6 g, 60 kg pc) fue de 0,036 ng/kg pc/día, lo que representa el 0,26% de la ingesta diaria tolerable provisional (IDTP) establecida por el JECFA (Burdaspal and Legarda, 2003).

ESTADO DE LA REGLAMENTACIÓN

63. En la UE, la Reglamento 401/2006 de la Comisión (CE), de 2006, estableció niveles máximos para la OTA en los granos crudos de cereales, todos los productos derivados de cereales y en la fruta seca de la vid (pasas y sultanas), el café tostado, el café soluble, el vino, el jugo de uva, los alimentos para infantes, los alimentos elaborados a base de cereales para lactantes y niños pequeños, y los alimentos dietéticos para objetivos médicos especiales destinados específicamente a los lactantes. Algunos de los niveles máximos ya se están aplicando desde abril de 2002 y otros desde abril de 2005.

64. La Comunidad Europea (Reglamento de la Comisión 105/2010), establece que "Sobre la base de la información disponible, no parece necesario establecer con vistas a la protección de la salud pública un contenido máximo de OTA en los frutos secos distintos de las uvas pasas, el cacao y productos del cacao, los productos cárnicos, incluidos los despojos comestibles y productos sanguíneos, y vinos de licor, ya que no contribuyen significativamente a la exposición a la OTA y rara vez se ha encontrado un contenido elevado de OTA en esos productos. En el caso del café verde y la cerveza, la presencia de OTA ya se controla en otra fase más adecuada de la cadena de producción (en el café tostado y en la malta, respectivamente)."

65. En 2003, el Ministerio de Salud italiano, apelando al principio de prevención, estableció un límite legal para el cacao en polvo y los productos de chocolate, por juzgar que no había disponible suficiente información sobre la exposición para no considerar la OTA un riesgo para la población. Se establecieron los límites legales para la OTA en el cacao (2,0 µg/kg) y los productos de chocolate (0,5 µg/kg). Sobre la base de la evaluación de riesgos realizada por Brera *et al.* (2010), que no manifestaba preocupación sanitaria, y para ajustarse a la reglamentación de la UE, el Consejo Superior de la Salud de Italia decidió eliminar el límite legal para la OTA en el cacao y en los productos a base de chocolate.

66. El reglamento mencionado establece que "está previsto examinar, a la luz del reciente dictamen científico de la EFSA, la pertinencia de establecer un contenido máximo de OTA en productos alimenticios tales como frutos secos distintos de las 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".

67. Brasil propone establecer un nivel máximo para la OTA en las semillas de cacao y los productos de cacao de 10 µg/kg y 5µg/kg, respectivamente (ANVISA CP100/2009).

68. El Ministerio de Salud del Canadá está en el proceso de proponer límites máximos para la OTA en una variedad de alimentos, a consecuencia de una evaluación sanitaria realizada (Turcotte and Scott, 2010). Actualmente se están examinando los límites máximos para la OTA en el cacao.

69. La Administración de Alimentos y Medicamentos de Estados Unidos (FDA) no ha establecido límites de referencia ni criterios de intervención para la ocratoxina A en ningún producto.

PREVENCIÓN Y REDUCCIÓN DE LA OTA EN EL CACAO

70. La industria europea del cacao y el chocolate y los países productores están llevando a cabo estudios para entender las fuentes de la contaminación por OTA y las medidas adecuadas de corrección.
71. 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 son decisivas las prácticas de las primeras fases de elaboración en las fincas productoras. Por tanto, es necesario intervenir en la finca para lograr una reducción importante de la contaminación por OTA (Gilmour and Lindblom, 2008). Las medidas de prevención podrían ser la separación de las vainas dañadas y el control de los procedimientos de fermentación y secado.
72. Un estudio realizado en pequeñas fincas de Côte d'Ivoire y Togo propone que la presencia de OTA se relaciona con las prácticas de elaboración postcosecha, como los defectos de las vainas, y con las condiciones del clima asociadas al mes de la cosecha (Bastide *et al.*, 2006).
73. Coppetti *et al.* (2010) evaluaron el contenido de OTA durante la elaboración del cacao en la finca y concluyeron que el punto crítico está en la fase del secado.
74. Hay algunos sistemas de gestión de la calidad en la elaboración primaria del cacao. Dahl (2006), en su trabajo en el proyecto Cocoqual financiado por la UE, creó un sistema de gestión de la calidad basado en la norma ISO 22000, para la elaboración primaria del cacao, con el fin de garantizar la buena calidad que incluya la prevención de la OTA.
75. El descubrimiento de que algunas bacterias del ácido láctico inhiben la formación de mohos ocratoxigénicos tiene profundas repercusiones en la inocuidad de los alimentos, que podrían aprovecharse en la prevención de la formación de OTA en el cacao. Este descubrimiento podría explotarse en una innovación futura de cultivos iniciadores para fermentar el cacao (COCOQUAL, 2007).
76. Hay datos que indican que los compuestos fenólicos antioxidantes, el ácido gálico, el ácido vanílico, el ácido 4-hidroxibenzoico, la catequina, el ácido cafeico (algunos encontrados en los granos del cacao), generalmente eliminan la producción de varias especies de *Aspergillus* ocratoxigénicos. El efecto de cada compuesto en la producción y proliferación de OTA es diferente entre las distintas cepas y generalmente es variable, lo que indica que diversos factores ecológicos y de desarrollo pueden influir en la producción de OTA por especies específicas y en la respuesta a los compuestos fenólicos. La información sobre la respuesta genética y fisiológica ante los compuestos antioxidantes podría llevar a estrategias de intervención selectivas para reducir las pérdidas económicas debido a la contaminación por OTA (Palumbo *et al.*, 2007).
77. Se ha demostrado que los aceites esenciales de *Aframomum danielli* reducen los niveles de OTA dosificados en cacao en polvo, con una eficacia de reducción de 64% a 95% (Aroyeun and Adegoke, 2007). La importancia de este trabajo estriba en el potencial de utilizar *A. danielli* como medida en los procedimientos para reducir el contenido de OTA en las muestras muy contaminadas.
78. Se analizaron 65 aislados de bacterias del ácido láctico extraídas del cacao, con método de localización para evaluar su capacidad de inhibir la formación de 12 mohos productores de OTA. Las cepas más analizadas, *L. fermentum* y *L. plantarium*, inhibieron la formación de mohos (COCOQUAL, 2007).
79. Una parte importante de la OTA originalmente presente en las semillas de cacao está en la fracción de la cáscara, que se elimina en la elaboración. Otras medidas de transformación de las semillas de cacao en productos terminados no conducen a la eliminación ni a la destrucción/degradación de la OTA. De esta manera, un proceso bien controlado de descascarillado podría lograr una reducción importante de los niveles de OTA en los productos derivados del cacao (Amézqueta *et al.*, 2005). La descripción de la norma del Codex para el cacao en pasta y el licor de cacao/chocolate es el producto obtenido del cacao que ha sido limpiado y liberado de la cáscara del modo técnicamente más completo posible (Codex Stan, 2001).

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

80. El presente documento de debate sobre la OTA en el cacao conduce a las siguientes conclusiones generales y recomendaciones para que se examinen en la 5ª reunión del Comité del Codex sobre Contaminantes en los Alimentos:

- (a) La producción de cacao representa una importante actividad económica para todos los países productores de África, Asia y América Latina.
- (b) La información disponible indica que si no se manipulan correctamente las semillas de cacao para reducir al mínimo la proliferación de hongos ocratoxigénicos, se pueden formar un elevado contenido de OTA en los productos del cacao.
- (c) No hay datos suficientes, pero se conocen bien algunos puntos críticos que podrían controlarse para reducir al mínimo la formación de OTA.
- (d) El cacao es un elemento menor de la alimentación humana y hace una aportación pequeña al total de la ingesta alimentaria de OTA. Pero casi ninguno de los estudios tuvo en cuenta a los lactantes ni a los niños en su evaluación.
- (e) Una parte importante de la OTA originalmente presente en las semillas de cacao aparece en la cáscara, que no se consume. El Codex Alimentarius ya ofrece recomendaciones para la cáscara y el germen del cacao en la pasta de cacao y la torta de cacao.

Recomendaciones:

81. Se deberá alentar a los Estados miembros del Codex así como a la industria de transformación del cacao, para:

- a) supervisar los niveles de OTA en el cacao y los productos de cacao durante un período de varios años;
- b) promover estudios para elaborar un plan de muestreo específico para la OTA en el cacao y los productos de cacao;
- c) elaborar estudios dirigidos a las fincas de los pequeños productores, con el fin de generar datos sobre los niveles de OTA en un período de varios años;
- d) hacer estudios de ingesta alimentaria sobre la OTA en el cacao y en productos de cacao para lactantes y niños.

82. Teniendo en cuenta los conocimientos disponibles hoy en día, podría contemplarse la elaboración de un código de prácticas en el futuro. El código de prácticas tendría disposiciones sobre: medidas de elaboración primaria (antes de la cosecha, la cosecha, postcosecha-transporte, selección y lavado, apertura de las vainas, fermentación, secado, almacenamiento) y medidas de elaboración secundaria (transporte, tostado y descascarillado, envasado, almacenamiento). Por lo tanto, se ayudará a los productores con material pertinente de capacitación o experiencia, o con un curso adecuado para entender los procedimientos que deberán seguir para poder reducir la contaminación por OTA en sus productos. Es necesario elaborar un sistema completo de capacitación, donde haga falta.

REFERENCIAS

- Abrokwa F. and Sackey S. T., (2010). Studies on conditions that predispose cocoa to ochratoxin A contamination
- ADM Cocoa, 1999. The De Zaan Cocoa Products Manual: an ADM Publication on Cocoa Liquor, Manteca de cacao, Cocoa Powder, Koog an de Zaan, Netherlands: ADM Cocoa B.V.
- 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
- 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
- ANVISA- Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Consulta Pública nº 100, de 21 de dezembro de 2009 - Dispõe sobre limites máximos tolerados (LMT) de micotoxinas em alimentos. D.O.U de 22/12/2009.
- Appiah V. 2001. The Use of ionizing radiation from ⁶⁰Co gamma source in controlling moldiness in dry cocoa. PhD Thesis, University of Ghana, Legon.
- Aroyeun, S. O. and Adegoke, G. O. (2007) Reduction of ochratoxin A in spiked cocoa powder and beverage using aqueous extracts and essential oils of *Aframomum danielli*. *African J. Biotechnol.* 6: 612 - 616

- Bakker, M., Pieters, M. N. (2002) Risk assessment of ochratoxin A in the Netherlands. RIVM report 388802025/2002
- 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
- Bonvehi, S. J. (2004) Occurrence of ochratoxin A in cocoa products and chocolate. *J. Agric. Food Chem.* 52: 6347 - 6352
- Boorman, G. A. (1989) Toxicology and carcinogenesis studies of ochratoxin A in F344/N rats. NTP Technical Report NTP TR 358
- 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
- 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
- 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
- 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
- Brera, C., Iafra, I., Debegnach, F., De Santis, B., Pannunzi, E., Berdini, C., Prantera, E., Gregori, E., Miraglia, M. Ochratoxin A in cocoa and chocolate products from the Italian market: occurrence and exposure assessment. (Submitted for publication to Food Control, 2010).
- 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
- 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
- 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
- Codex Alimentarius Commission (1998) Position paper on ochratoxin A. FAO/WHO, Rome, Italy. http://www.who.int/fsf/chemicalcontaminants/ochratoxinpp99_14.pdf
- CODEX STAN 141-1983, Rev. 1-2001 Standard for Cocoa (Cocoa) Mass (Cocoa/Chocolate Liquor) and Cocoa Cake.
- 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
- 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.
- Commission Regulation (EC) No. 105/2010 (5 February 2010) Amending Regulation (EC) No 1881/2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs as regards ochratoxin A. Official Journal of European Union, L 35/7.
- Copetti, M.V. 2009. Micobiota do cacau: Fungos e Micotoxinas do cacau ao chocolate. PhD. Thesis, Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP.
- Copetti, M.V; Pereira, J.L.; Iamanaka, B.T.; Pitt, J.I; Taniwaki, M.H. 2010. Ochratoxigenic fungi and ochratoxin A in cocoa during farm processing. *Intl. J. Food Microbiol.* 143: 67-70.
- 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.
- Dembele, A., Coulibaly, A.; Traoré, S.K. ; Mamadou, K. ; Silue, N. ; Abba Touré, A. (2009) Détermination du niveau de contamination de l'ochratoxine A (OTA) dans les fèves de cacao à l'exportation. *Tropicicultura*, 27: 1, 26-30.
- DNFCS database, Risk Assessment of Ochratoxin A in the Netherlands, M. Bakker, M.N. Pieters.
- 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.

- European Food Safety Authority - EFSA (2006) 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
- European Food Safety Authority - EFSA (2010) Statement on recent scientific information on the toxicity of Ochratoxin A. (4 June 2010) <http://www.efsa.europa.eu/en/scdocs/doc/1626.pdf>
- FAO/WHO/UNEP (1999) Mycotoxin prevention and decontamination. Corn: a case study. Third Joint FAO/WHO/UNEP Intl. Conf. Mycotoxins 6b: 2 - 11
- 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>
- Gilmour, M and Lindblom, M (2008) Management of Ochratoxin A in the Cocoa Supply Chain: A Summary of Work by the CAOBISCO/ECA/FCC Working Group: Mycotoxins: Detection methods, Management, Public Health and Agricultural Trade, CAB International.
- ICCO (2007) Production of Cocoa Beans. Quarterly Bulletin of Cocoa Statistics. <http://www.icco.org/statistics/production.aspx> (posted 22 October 2007)
- 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
- 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
- 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
- JECFA (2007). JECFA/68/SC. Summary and Conclusions. Geneva, 19-28 June 2007, 18p.
- 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.
- 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://archive.food.gov.uk/maff/food/infsheet/1999/no185/185ochra.htm>
- MHLW (2006) Ministry of Health, Labour & Welfare, Japan. OTA contamination in retail chocolate in Japan in 2005
- Minifie, B. W. (1982) In B. W. Minifie (ed), Chocolate, cocoa and confectionery: Science and Technology, 2nd ed. AVI Publishing Company, Westport, Connecticut.
- 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://ec.europa.eu/food/fs/scoop/3.2.7_en.pdf
- Mounjouenpou, P., Gueule, D., Fontana-Tachon, A., Guyot, B. Tondje, P. R. and Guiraud, J-P. Filamentous fungi producing ochratoxin a during cocoa processing in Cameroon (2008). International Journal of Food Microbiology 121: 234-241.
- Murphy P. A., Hendrich, S., Landgren, C., Bryant, C. M.(2006) Food Mycotoxins: An Update. J. Food Sci. 71: R51 – R65
- O'Brien, E., Dietrich, D. R. (2005) Ochratoxin A: The continuing enigma. Crit. Rev. Toxicol. 35: 33 - 60
- Palumbo, J. D., O'Keefe and Mahoney, N. E. (2007) Inhibition of ochratoxin A production and growth of *Aspergillus* species by phenolic antioxidant compounds. Mycopathologia 164: 241 – 248
- 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 ug/kg. J. Agric. Food Chem. 50: 243 - 247
- Ratters M., and Matissek R., (2006).No OTA in fresh cocoa beans. Mycotoxin Research Vol. 23, No. 2
- 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.
- Schwartz, G. G. (2002) Hypothesis: Does ochratoxin A cause testicular cancer? Cancer Causes Control 13: 91 - 100

- 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.
- Spanjer, M. C., Scholten, J. M., Kastrup, 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.
- 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.
- Tafari, A., Ferracane, R., Ritieni, A (2004) Ochratoxin A in Italian marketed cocoa products. Food Chem. 88:487 - 494
- 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
- Turcotte, A.M.; Scott, P.M. Ochratoxin A in cocoa and chocolate sampled in Canada. Food Additives and Contaminants (accepted, 2010)
- Vecchio, A.; Finoli, C. (2007) Ochratoxin A in cocoa products. Industrie Alimentari, 46:1015-1020.