

Fungos Potencialmente Ocratoxígenos em Café



Documentos53

Fungos Potencialmente Ocratoxígenos em Café

Marcelo Elias Fraga
Otniel Freitas-Silva
Tânia Barretto Simões Corrêa
Roberto Alexandre Costa
Antonio Xavier de Farias

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Agroindústria de Alimentos

Av. das Américas, 29.501 - Guaratiba
CEP: 23020-470 - Rio de Janeiro - RJ
Telefone: (0xx21)2410-7400
Fax: (0xx21)2410-1090
Home Page: www.ctaa.embrapa.br
E-mail: sac@ctaa.embrapa.br

Comitê de Publicações da Unidade

Presidente: Regina Isabel Nogueira
Membros: Maria da Graça Fichel do Nascimento
 Maria Ruth Martins Leão
 Neide Botrel Gonçalves
 Ronoel Luiz de O. Godoy
 Virgínia Martins da Matta

Supervisor editorial: Maria Ruth Martins Leão
Revisor de texto: Comitê de Publicações
Normalização bibliográfica: Maria Ruth Martins Leão
Foto da capa: Otniel Freitas-Silva e Roberto Alexandre Costa
Editoração eletrônica: André Luis do Nascimento Gomes

1ª edição

1ª impressão (2003): tiragem: 100 exemplares

Todos os direitos reservados.

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Fraga, Marcelo Elias.

Fungos potencialmente ocratoxígenos em café. / Marcelo Elias Fraga, Otniel Freitas-Silva, Tânia Barretto Simões Corrêa, Roberto Alexandre Costa, Antonio Xavier de Farias. - Rio de Janeiro: Embrapa Agroindústria de Alimentos, 2003.

24 p.; 21cm - (Embrapa Agroindústria de Alimentos. Documentos, ISSN 0103-6068; 53)

1. Fungos. 2. Ocratoxina. 3. Micotoxina. 4. Café.
I. Embrapa Agroindústria de Alimentos. II. Título. III. Série.

CDD: 632.4 (21. ed.)

© Embrapa, 2003

Autores

Marcelo Elias Fraga

Biólogo, M.Sc., Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro - Instituto de Veterinária - Núcleo de Pesquisa de Micologia e Micotoxicologia, BR 465, Km 7, 23.890-000, Seropédica, RJ. E-mail: fraga@ufrj.br

Otniel Freitas-Silva

Eng. Agrônomo, M.Sc., Embrapa Agroindústria de Alimentos, Av. das Américas, 29.501 - Guaratiba, CEP 23020-470, Rio de Janeiro, RJ. Telefone: (0xx21) 2410-7525. E-mail: ofreitas@ctaa.embrapa.br

Tânia Barretto Simões Corrêa

Eng. Químico, M.Sc., Embrapa Agroindústria de Alimentos, Av. das Américas, 29.501 - Guaratiba, CEP 23020-470 Rio de Janeiro, RJ. Telefone: (0xx21) 2410-7525. E-mail: tania@ctaa.embrapa.br

Roberto Alexandre Costa

Eng. Agrônomo, M.Sc., Embrapa Agroindústria de Alimentos, Av. das Américas, 29.501 - Guaratiba, CEP 23020-470, Rio de Janeiro, RJ. Telefone: (0xx21) 2410-7525. E-mail: roberto@ctaa.embrapa.br

Apresentação

Antonio Xavier de Farias

Biólogo, M.Sc., Embrapa Agroindústria de Alimentos, Av. das Américas, 29.501 - Guaratiba, CEP 23020-470, Rio de Janeiro, RJ. Telefone: (0xx21) 2410-7525. E-mail: antxafar@ctaa.embrapa.br

Este trabalho apresenta uma revisão dos principais fungos presentes na cadeia produtiva do café com enfoque maior nos fungos produtores de micotoxinas. Tais fungos associados ao café podem interferir no padrão de qualidade e identidade do café, principal *commodity* agrícola na balança comercial do Brasil.

Portanto, é uma literatura que vem somar para a cafeicultura e, se destina a todos os interessados na questão de inocuidade, segurança e qualidade do café.

Amauri Rosenthal

Chefe Geral da Embrapa Agroindústria de Alimentos

Sumário

Introdução	09
Micotoxinas	10
Fatores que Influenciam a Produção de Micotoxinas	10
Influência da Atividade de Água	12
Fungos Associados aos Frutos e Grãos de Café	13
Fungos Produtores de OTA	14
Ocratoxina em Café	16
Alteração da Qualidade Provocada por Fungos Associados aos Grãos de Café	17
Interação da OTA e Outras Micotoxinas	18
Considerações Finais	18
Referências Bibliográficas	19

Fungos Potencialmente Ocratoxígenos em Café

Marcelo Elías Fraga

Otniel Freitas-Silva

Tânia Barretto Simões Corrêa

Roberto Alexandre Costa

Antonio Xavier de Farias

Introdução

O Brasil, de acordo com dados fornecidos pelo Anuário Estatístico do Café 2002/2003 (Anuário... 2003), é o maior produtor e exportador mundial de café, apresentando na safra de 2002/2003 uma produção de 46,85 milhões de sacas, seguido pela Colômbia 10,90 milhões de sacas, e pelo Vietnã 10,50 milhões de sacas. Minas Gerais foi o maior produtor dentre os estados brasileiros produtores, com 22,90 milhões de sacas de café arábica beneficiados, representando 49% da produção nacional. O segundo maior produtor nacional foi o Estado do Espírito Santo, com 2,80 milhões de sacas de café arábico e 8,00 milhões de sacas de café robusta, representando 23,05 % da produção nacional, seguido de São Paulo, com 4,85 milhões de sacas de café arábica, o que representa 10,35 % da produção nacional.

As regiões mineiras Sul/Oeste são responsáveis por 12,60 milhões de sacas, seguidas pelo Cerrado com 4,30 milhões de sacas e Zona da Mata com 6,00 milhões de sacas (Anuário... 2003). Apesar de todo potencial brasileiro para a produção deste *commoditie*, a exportação brasileira tem sofrido quedas significativas, sendo que a falta de padrão de qualidade do produto nacional foi um dos fatores responsáveis pelo declínio da participação brasileira no mercado internacional, uma vez que o mercado internacional tem se tornado cada vez mais exigente.

Micotoxinas

As micotoxinas são produtos do metabolismo secundário de determinados fungos que podem causar alterações patológicas ao homem e animais. Os produtos agrícolas estão sujeitos a contaminação por micotoxinas, sendo o tipo e a quantidade de micotoxinas produzida durante o processamento metabólico do fungo, resultado da interação entre os fatores ambientais, substratos vegetais e fungo, cuja colonização pode ocorrer durante os períodos de pré e pós-colheita (processamento, pré-secagem, secagem, armazenamento e transporte).

As micotoxinas têm sido encontradas como contaminantes em uma ampla variedade de produtos de origem vegetal (amendoim, arroz, feijão, milho, trigo, centeio, cevada, sorgo, frutas, café, etc.), em alimentos (biscoitos, pães, macarrão, etc.), em bebidas (sucos, concentrados de frutas, cervejas, vinhos, etc.), em rações e como resíduos em produtos de origem animal (leite e derivados, carne e produtos carne ou, ovos, etc.), sendo responsável por uma série de patologias humanas e animais. Entretanto, o principal perigo das micotoxinas não é a intoxicação aguda, ou seja, a ingestão em níveis elevados, capazes de acarretar síndromes agudas e levar à morte, mas sim na possibilidade delas ocorrerem junto com outras micotoxinas, o que pode levar a uma reação de sinergismo potencializando seus efeitos. Outro perigo importante, senão o mais importante, reside no risco de intoxicação crônica. Esta ocorre através de ingestões a níveis baixos mas regulares ao longo do tempo, são capazes de interferir e alterar os processos metabólicos primários e processos imunológicos, induzindo ou modulando patologias que irão reduzir o tempo e a qualidade da vida humana e animal (Rosa, 1999).

Fatores que Influenciam a Produção de Micotoxinas

Os fatores que influenciam o crescimento fúngico em alimentos também contribuem diretamente para produção de suas toxinas. Estes fatores são a atividade de água (Aa), umidade relativa (UR), temperatura, composição do substrato, presença de microrganismos competidores, cepa fúngica, etc. A Aa e a UR juntamente com a composição do substrato e a cepa fúngica contaminante são os parâmetros mais importantes na produção de micotoxinas. Os principais fungos produtores de micotoxinas estão compreendidos entre espécies pertencentes aos gêneros *Aspergillus*,

Penicillium e *Fusarium* (Pitt & Hocking, 1997).

Normalmente a produção de micotoxinas pode ser favorecida se a umidade do grão estocado aumenta de nove para 16 %, e a produção máxima ocorre entre 20 a 25 % de umidade. Entretanto, a exigência de água para o crescimento e a produção de toxinas são diretamente influenciadas pelas espécies de fungos, temperaturas, pH e substratos (Naidu, 1996; Scussel, 1998).

A UR representa o equilíbrio entre o ambiente e o produto. Dependendo da umidade presente no grão e da umidade do ambiente, haverá ganho ou perda de umidade do produto, favorecendo ou impedindo o desenvolvimento do fungo e, consecutivamente a produção de micotoxinas.

A produção de micotoxinas também pode ser influenciada pela temperatura, variando amplamente entre espécies. Para várias espécies de fungos, temperaturas em torno de 30° C são satisfatórias para o seu desenvolvimento efetivo; entretanto, essas faixas podem ser afetadas por outros fatores, como umidade, concentração de oxigênio e disponibilidade de nutrientes (Naidu, 1996).

A presença de outros microrganismos pode afetar o crescimento e, consecutivamente, a produção de micotoxinas. Os fungos *A. ochraceus* ou *A. parasiticus* crescem juntos com *A. flavus* sobre o mesmo substrato, não afetando a produção de aflatoxinas (AFTs). Já as espécies de *A. flavus* têm sua produção de AFT inibida pelo *Penicillium*. Esta inibição foi atribuída a presença de alguns metabólicos estáveis produzidos pelos fungos do gênero *Penicillium* (Mislivec et al., 1983). Lee & Magan (2000), realizaram estudo sobre impacto ambiental e interação interespecífica entre *A. ochraceus* e outros fungos deterioradores, observando que o *A. ochraceus* não foi competitivo contra *A. flavus*, *A. niger* e *Alternaria alternata* em temperatura de 18° C e Aa de 0,995, entretanto ele foi dominante sobre *A. flavus*, *A. candidus* e *Alternaria alternata* em Aa 0,95. Em 30° C a 0,995 de Aa o *A. ochraceus* foi inibido por todos os fungos, exceto por *Alternaria alternata*, e foi mutuamente antagonista para *A. candidus* e *Eurotium amstelodami*. Entretanto, a 30° C e 0,95 de Aa o *A. ochraceus* foi competitivo para *A. candidus* e *Alternaria alternata*. Em relação a produção de OTA por *A. ochraceus* a 18° C, foi observada uma inibição significativa por *A. candidus* (0,995 e 0,95 Aa), *A. niger* (0,995 Aa), a 30° C a redução foi significativamente reduzida por todos os fungos, principalmente por *A. niger* e *E. amstelodami* (0,995 Aa), e *A. flavus* (0,95 Aa).

Influência da Atividade de Água

Atividade de água (Aa) é um dos parâmetros mais importantes que influenciam o desenvolvimento dos microrganismos em alimentos, além de influenciar também nas reações enzimáticas, oxidativas de lipídios, hidrólise, etc. Normalmente é usada para expressar o conteúdo de água livre de alimentos como um índice de água disponível para o crescimento microbiano. O valor absoluto da Aa fornece segura indicação do teor de água livre de um produto, sendo esta a única forma passível de utilização por parte dos microrganismos. O comportamento destes relacionados à Aa é muito variável, dependendo da espécie ou cepa considerada e/ou substrato no qual podem provocar variações das condições ótimas para o crescimento do fungo e, conseqüentemente, produção de micotoxinas. O ajuste da atividade de água em alimentos é um meio importante de controlar o crescimento e produção das micotoxinas.

Do ponto de vista microbiológico, os alimentos podem ser classificados de acordo com a Aa; sendo consideradas alimentos de baixa, intermediária e elevada Aa. A maioria dos fungos encontra-se dentro da faixa de Aa intermediária, entretanto existem algumas espécies que podem crescer em Aa alta e baixa, podendo-se destacar os fungos xerofílicos que se desenvolvem em $Aa < 0,85$.

Os fatores ambientais afetam o nível de Aa necessário ao crescimento do fungo. O princípio geral que freqüentemente se aplica é aquele em que, quanto mais favoráveis forem os fatores ambientais (adequação nutricional, pH, tensão de oxigênio e temperatura), menor será a Aa mínima na qual o crescimento pode ocorrer. A Aa pode modificar a sensibilidade dos microrganismos ao calor e aos agentes químicos, sendo esta, em geral, mais elevada em altos valores de Aa, enquanto na faixa de Aa intermediária, a sensibilidade é mínima (Eiroa, 1981).

A Aa mínima para produção de toxinas é, geralmente, maior do que a necessária para o crescimento dos fungos. Isto pode representar um importante fator de segurança no controle da produção de micotoxinas. Deve-se mencionar que grande parte dos fungos produtores de toxinas, como os dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*, pertence ao grupo dos xerofílicos.

Fungos Associados aos Frutos e Grãos de Café

Ultimamente, várias pesquisas têm sido efetuadas para estudar e descrever a relação de ocorrência/incidência de fungos em café. Com o objetivo de conhecer a prevalência de fungos em frutos ou grãos de café provenientes de diferentes tipos de colheita, Teixeira et al. (1987), observaram uma menor incidência de fungos nos cafés do tipo cereja despulpado e lavados, em relação aos demais, encontrando-se os fungos dos gêneros *Penicillium*, *Colletotrichum*, *Fusarium*, *Cladosporium* e *Epicoccum*. A população fúngica varia de acordo com o local de cultivo, tipo de preparo dos cafés após a colheita e com qualidade da bebida, predominando os seguintes fungos: *Cladosporium*, *Penicillium*, *Fusarium* e *Aspergillus* spp., Alves e Castro (1993), e Chalfoun et al. (1994).

Varga et al. (1996), isolando diversos fungos de grãos de café beneficiados, encontrando os seguintes fungos produzindo OTA: *A. ochraceus*, *A. alliaceus*, *A. sclerotiorum*, *A. sulphureus*, *A. albertensis*, *A. auricomus* e *A. wentii*.

Em estudos sobre a incidência de fungos em grãos de café provenientes de 31 países produtores foram, observadas porcentagens médias de fungos variáveis entre 93,4 a 100 % nas amostras de todas os países. Fungos do gênero *Aspergillus* predominaram em 944 amostras, antes e após desinfecção (Mislivec et al., 1983).

Em estudos recentes realizadas em cafés da região do Sul de Minas, Silva et al. (2000), observaram 3 % de *Aspergillus*, de um total de 754 isolados de grãos de café durante dois anos de 15 fazendas diferentes. Já Freitas (2000), analisando 66.800 grãos de café beneficiado do ano de 1998/99, proveniente de 167 produtores de 17 municípios na mesma região, constatou a presença principalmente dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium*, com predominância do *Aspergillus*.

Pasin (2000), a partir de diferentes cultivares de café processadas via seca, isolou espécies do gênero *Penicillium* e *Aspergillus*, não ocorrendo diferenças entre as cultivares. Nas amostras de café despulpado (via úmida), houve maior incidência de *A. ochraceus*.

Segundo Frank (2001) e Frank & Frisvad (1999), em trabalhos realizados no Brasil, o café infectado por fungos resultou em deterioração e formação de OTA, e as principais espécies de fungo associadas aos grãos de café foram

Aspergillus, *Penicillium* e *Fusarium*; as infecções por esses fungos podem acontecer particularmente durante o processamento e a armazenagem. A infecção fúngica independe do processamento usado (via seca ou úmida) e da variedade de café (Arábica ou Robusta), e a OTA pode ser produzida por quatro espécies de *Aspergillus* inclusive *A. ochraceus*, *A. sulphureus* e da Seção *Nigri*. Entre os outros fungos encontrados em diferentes grãos foi observada uma alta diversidade de *Fusarium stilboides* e *Colletotrichum* sp em grãos verde, nos grãos maduros e bóia a ocorrência dos fungos foi diversificada, tais como *F. stilboides*, *Penicillium brevicompactum*, *Candida edax* e *Cladosporium* sp. Concluindo que somente um programa adequado de prevenção, baseado em rígidas práticas agrícolas e de processamento, permitirá limitar e controlar a ação de fungos que depreciam a qualidade do café.

Fungos Produtores de OTA

Alguns fungos que colonizam grãos, desde o campo até o armazenamento, dependem das condições do ambiente e de tipo de substratos, para produção de metabólicos secundários, inclusive as micotoxinas, nocivas a saúde humana e animal. Nas regiões tropicais e subtropicais as micotoxinas mais comuns encontradas em grãos são as AFT e OTA.

Condições específicas de temperatura e de umidade dos grãos de café são essenciais para colonização e, consecutivamente produção das micotoxinas.

A OTA é produzida pelos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Eupenicillium* e *Eurotium* (Tabela 1). Entre os principais fungos produtores (tab. 2), o *A. ochraceus* cresce em temperaturas na faixa de 8° a 37° C com um crescimento ótimo de 31° C, e em pH de 3 a 10, e com um mínimo de 2,2. A Aa ideal para o seu crescimento é de 0,95 a 0,99, podendo crescer em 0,77, o ótimo de Aa para produção da toxina é de 0,80. Entre os *Penicillium* temos o *P. verrucosum* que pode crescer entre 0° a 31° C, com um crescimento ótimo a 20° C. É um fungo xerofílico capaz de crescer em Aa de 0,80. Apresenta também um crescimento em faixa de pH entre 2,1 a 10,0 com um ótimo de pH entre 6,0 a 7,0. Pode produzir a OTA em temperaturas variadas, com um ótimo de produção a 20° C (Sweeny & Dobson, 1998).

Tabela 1. Fungos produtores de OTA, segundo diferentes estudos:

Espécies	Referências
<i>Aspergillus albertensis</i>	Varga et al. (1996)
<i>A. alliaceus</i>	Hesseltine et al. (1972); Ciegler et al. (1972), citado por Milanez (1993); Varga et al. (1996)
<i>A. auricomus*</i>	Varga et al. (1996); Prado et al. (2001)
<i>A. awamori</i>	Teren et al. (1996)
<i>A. carbonarius*</i>	Teren et al. (1996); Wicklow et al. (1996); Heenan et al. (1998); Taniwaki et al. (2000); Taniwaki et al. (2003); Cabanes et al. (2001)
<i>A. elegans*</i>	Tsubouchi et al. (1985); Prado et al. (2001)
<i>A. foetidus</i>	Teren et al. (1996); Ueno et al. (1991), citado por Milanez (1993); Batista et al. (2000)
<i>A. fresenii</i> (<i>A. Sulphureus</i>)	Lai et al. (1968); Hesseltine et al. (1972); Ciegler et al. (1972), citado por Milanez (1993); Frisvad (1987)
<i>A. fumigatus*</i>	Abdel-Hafez & El Maghraby (1992); Liardon et al. (1992), citado por Silva, 2000; Abarca et al. (1997)
<i>A. melleus*</i>	Lai et al. (1968); Hesseltine et al. (1972); Ciegler et al. (1972), citado por Milanez (1993); Frisvad (1987); Prado et al. (2001)
<i>A. niger*</i>	Mislivec et al. (1983); Abdel-Hafez & El Maghraby (1992); Liardon et al. (1992), citado por Silva, 2000; Alves (1996); Teren et al. (1996); Chalfoun et al. (1999); Lopes et al. (1999); Silva (2000); Pasin (2000); Freitas (2000)
<i>A. niger</i> var. <i>niger</i>	Abarca et al. (1994); Batista et al. (2000)
<i>A. ochraceus*</i> (= <i>A. alutaceus</i> , <i>A. alutaceus</i> var <i>alutaceus</i>)	Hesseltine et al. (1972); Ciegler et al. (1972), citado por Milanez (1993); Northolt et al. 1979; Mislivec et al. (1983); Frisvad (1987); Alves (1996); Varga et al. (1996); Paterson & Kozakiewicz (1997); Chalfoun et al. (1999); Lopes (1999); Taniwaki et al. (2000); Pasin (2000); Freitas (2000); Prado et al. (2001); Batista et al. (2001)
<i>A. ostianus*</i>	Hesseltine et al. (1972); Ciegler et al. (1972), citado por Milanez (1993); Frisvad (1987); Prado et al. (2001)
<i>A. petrakii*</i> (<i>A. quercinus</i> var. <i>petrakii</i>)	Hesseltine et al. (1972); Ciegler et al. (1972), citado por Milanez (1993); Frisvad (1987); Prado et al. (2001)
<i>A. sclerotiorum*</i>	Ciegler et al. (1972), citado por Milanez (1993); Hesseltine et al. (1972); Tsubouchi et al. (1985); Frisvad (1987); Varga et al. (1996); Prado et al. (2001)
<i>A. sulphureus*</i>	Hesseltine et al. (1972); Varga et al. (1996); Prado et al. (2001)
<i>A. terreus*</i>	Abdel-Hafez & El Maghraby (1992); Ueno et al. (1991), citado por Milanez (1993)
<i>A. ustus</i>	Ueno et al. (1991), citado por Milanez (1993)
<i>A. versicolor*</i>	Mislivec et al. (1983); Abarca et al. (1997)
<i>A. wentii</i>	Varga et al. (1996)
<i>Eupenicillium cinnamopurpureum</i>	Ueno et al. (1991), citado por Milanez (1993)
<i>E. hirayamae</i>	Ueno et al. (1991), citado por Milanez (1993)
<i>E. penetrans</i>	Ueno et al. (1991), citado por Milanez (1993)
<i>E. javanicum</i>	Ueno et al. (1991), citado por Milanez (1993)
<i>Eurotium herbarium</i>	Abarca et al. (2001)
<i>Penicillium aurantiogriseum</i>	Ciegler et al. (1972) e Gedek (1977), citados por Milanez (1993); Abramson et al. (1990)
<i>P. canescens</i>	Ueno et al. (1991), citado por Milanez (1993)
<i>P. commune</i>	Ciegler et al. (1972), citado por Milanez (1993); Bullerman (1979)
<i>P. corylophilum</i>	Ueno et al. (1991), citado por Milanez (1993)
<i>P. chrysogenum*</i>	Mislivec et al. (1983)
<i>P. chylophilum</i>	Ueno et al. (1991), citado por Milanez (1993)
<i>P. cyclophilum</i>	Northolt et al. 1979
<i>P. implicatum*</i>	Ueno et al. (1991), citado por Milanez (1993); Silva (2000)
<i>P. islandicum*</i>	Mislivec et al. (1983)
<i>P. janczewskii</i>	Ueno et al. (1991), citado por Milanez (1993)
<i>P. melinii</i>	Ueno et al. (1991), citado por Milanez (1993)
<i>P. miczanski</i>	Ueno et al. (1991), citado por Milanez (1993)
<i>P. montanéense</i>	Ueno et al. (1991), citado por Milanez (1993)
<i>P. pallians</i>	Northolt et al. 1979; Sanchis et al. (1982)
<i>P. purpureoscens</i>	Ciegler et al. (1972), Lillehoj (1980) e Ueno et al. (1991), citados por Milanez (1993)
<i>P. purpurogenum</i>	Ueno et al. (1991), citado por Milanez (1993)
<i>P. raistrinckii</i>	Ueno et al. (1991), citado por Milanez (1993)
<i>P. sclerotiorum</i>	Ueno et al. (1991), citado por Milanez (1993)
<i>P. variable*</i>	Ciegler et al. (1972), citado por Milanez (1993); Sanchis et al. (1988); Pasin (2000)
<i>P. verrucosum*</i>	Pitt (1987); Frisvad (1987); Frisvad & Flittenborg (1989); Ueno et al. (1991), citado por Milanez (1993); Freitas (2000)
<i>P. viridicatum*</i>	Walbeek et al. (1969); Scott et al. (1972); Northolt et al. 1979; Mislivec et al. (1983); Pitt (1987); Sanchis et al. (1988); Freitas (2000)

* Espécies isoladas de café

Tabela 2. Comparação da Aa mínima para crescimento e produção de OTA das principais espécies produtoras.

Espécies	Micotoxinas	Aa	
		Crescimento	Produção de toxina
<i>A. ochraceus</i>	OTA	0,77	0,80
<i>P. verrucosum</i>	OTA	0,80	0,86
<i>P. viridicatum</i>	OTA	0,81	0,97

Ocratoxina em Café

Levi et al. (1974), utilizando cromatografia em camada delgada, apesar de ter encontrado OTA em grãos de café verde, afirmaram que o café não é um bom substrato para a produção, pois os valores observados foram de 450 ng/g, quando o café foi inoculado com *A. ochraceus*, os resultados foram menores quando comparados com os encontrados em arroz e trigo também inoculados com essa mesma espécie (> 1mg/g).

Este problema foi levantado novamente por Micco et al. (1989), ao encontrarem 58 % de 29 grandes lotes, estocados em um porto na Itália, contaminados com OTA em concentrações que variaram de 0,2 a 15 ng/g. Foi observada também que a bebida preparada com grãos contaminados apresentavam resíduos de OTA. No mesmo período, no Japão, Tsubouchi et al. (1988), analisaram amostras de café torrado e moído importado de diversas regiões e comercializado na cidade de Nagoya. Foram encontradas cinco amostras contaminadas, de um universo de 68, as quais estavam contaminadas com OTA em concentrações que variaram de 3,2 a 17,0 ng/g.

A ocorrência de OTA em café beneficiado tem sido relatada por vários autores em diversos países, em concentrações que variaram de 0,2 a 360 ng/g. Em amostras de café torrado, e também na sua infusão, foi demonstrado que esta toxina não se degrada durante o processamento de torrefação (Tsubouchi et al., 1984, 1985 e 1988; Studaer-rohr et al. 1995; Pittet et al. 1996; Patel et al. 1997; Stegen et al. (1997) citado por Batista (2000); Nakajima et al. 1997; Blanc et al. 1998; Jorgensen 1998; Ottender & Majerus, 2001).

No Brasil, Furlani & Soares (1999), detectaram OTA, ao examinarem 84 amostras de café verde proveniente de diversas regiões produtoras brasileiras em seis estados (Paraná, São Paulo, Minas Gerais, Espírito Santo, Rondônia e Bahia). Dezoito amostras continham OTA em concentrações que

variaram de 1,7 a 147,5 ng/g.

Em 79 amostras de café verde, provenientes das regiões produtoras, destinadas ao consumo interno, a OTA foi detectada em 10 das amostras examinadas, contendo concentrações de 5,5 a 114,2 ng/g segundo Furlani et al. (1999). Em outro estudo Prado et al., (2000), foram detectadas concentrações de OTA de 0,31 a 1,78 ng/g e de 0,99 a 5,87 ng/g, respectivamente, de café solúvel e café torrado e moído, ambos comercializados em Belo Horizonte.

Leoni et al. (2000), analisaram 34 amostras de cafés, comercializados em Campinas, das quais 23 amostras estavam contaminadas com OTA apresentando concentrações de 0,3 a 6,5 ng/g. Todas as amostras de café instantâneo apresentaram-se contaminadas com OTA, em concentrações médias de 2,2 ng/g.

Alteração da Qualidade Provocada por Fungos Associados aos Grãos de Café

Vários fatores estão ligados à qualidade do café, destacando-se fatores externos, como: temperatura, umidade, tipo de solo, condições de cultivo, estado nutricional da planta e presença de microrganismos responsáveis por fermentações, abrangendo desde a pré-colheita até o preparo do café.

As transformações químicas ocorridas nos grãos de café, conduzindo a uma bebida inferior, são de natureza enzimática, envolvendo polifenoloxidase, glicosidases, lipase e protease, sendo que as enzimas podem ser constituintes do próprio grão ou por ação de microrganismos que contaminam o fruto, em caso de alta umidade, facilitando a multiplicação desses organismos, e conseqüentemente, o aumento dessas enzimas (Amorim et al., 1977).

Segundo Silva et al. (2000), em um estudo durante dois anos em 15 diferentes propriedades rurais do Sul de Minas, ocorreu uma variação considerável na microbiota em relação aos diferentes estados de maturação e processamento dos grãos de café. Entre os microrganismos que compõem a microbiota do café, os fungos filamentosos representaram o grupo que provoca maiores danos.

As contaminações microbianas são geralmente favorecidas pela falta de cuidado durante as operações agrícolas. Estas contaminações podem comprometer a qualidade do produto final, principalmente em situações como a secagem inadequada dos grãos de café, grãos colhidos no chão ou grãos que permanecem sob chuva durante o processamento de secagem (Silva, 2000). Além da influência direta na qualidade, certas cepas de fungos associados aos grãos, denominadas toxígenas, podem produzir metabólitos secundários que, dependendo da sua concentração, podem tornar-se tóxicos. A ocorrência de fungos toxígenos em grãos de café dificulta sobremaneira a aceitação do produto no mercado, podendo causar até a sua rejeição, já que podem produzir micotoxinas, proporcionando uma ameaça à saúde dos consumidores.

Interação da OTA e Outras Micotoxinas

Os estudos relacionando OTA e ácido penicílico, principalmente, com a habilidade das micotoxinas promoverem tumores de pele em ratos brancos, mostraram que nenhuma das duas toxinas pode ser considerada como efetiva iniciadora ou promotora de tumores. As toxinas aplicadas na pele, durante o período de teste, tiveram pouco efeito no crescimento e aparência do rato. Entretanto, combinações das duas micotoxinas apresentaram resposta sinérgica letal nos testes de toxicidade aguda. Estes resultados sugerem que a toxidade aguda é mais grave em produtos contaminados simultaneamente com OTA e ácido penicílico.

Em estudos avaliando o sinergismo entre Aflatoxinas e OTA foram administradas, em aves, doses dessas micotoxinas isoladas e em associação, observando-se nos fígados do grupo tratado com associação, uma maior quantidade de OTA e Aflatoxina B1 do que nos outros grupos e, além disso, elas permaneceram por mais tempo retidas no fígado. Estes dados indicam que as duas micotoxinas interagem de modo sinérgico, aumentando tanto a quantidade quanto o tempo de eliminação do resíduo (Milanez, 1993).

Considerações Finais

A contaminação fúngica, em especial os fungos toxígenos associados ao café, pode refletir o padrão da qualidade e identidade do café. Entretanto quanto a produção de micotoxinas, em especial a OTA, há um indício que este produto não é favorável ao desenvolvimento dos fungos toxigênicos e produção de micotoxinas. Portanto, as possíveis interações entre fungos

associados aos frutos e grãos e a adoção de métodos de prevenção durante as fases de cultivo e preparo do café, além de preservar a qualidade sensorial do produto, podem justificar os baixos níveis de toxinas detectados, até o momento na maioria das amostras de café brasileiro analisadas no Brasil e no exterior.

Infelizmente, não existem medidas de controle eficaz que minimize ou controle a produção de OTA. Vale ressaltar que o controle de micotoxinas pode ser feito com sucesso através de programas preventivos de controle da incidência de fungos e contaminação por micotoxinas. Este mecanismo pode ser alcançado através do estabelecimento e adoção de Boas Práticas Agropecuárias (BPA) e Boas Práticas de Fabricação (BPF) e a implantação de programas de gestão de qualidade tais como a Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC). Estes procedimentos têm de ser acompanhados em todas as etapas da produção do café, desde o plantio, colheita, beneficiamento, transporte e estocagem até o processamento final do produto.

Referências Bibliográficas

- ABARCA, M. L.; ACCENSI; BRAGULAT, M. R.; CABAÑES, F. J. Current importance of fungal ochratoxin A producing *Aspergillus* spp. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 64, n. 6, p. 903-906, 2001.
- ABARCA, M. L.; BRAGULAT, M. R.; CASTELLA, G.; ACCENSI, F.; CABANES, F. J. New ochratoxigenic species in the genus *Aspergillus*. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 60, p. 1580-1582, 1997.
- ABARCA, M. L.; BRAGULAT, M. R.; CASTELLA, G.; CABANES, F. J. Ochratoxin A production by *Aspergillus niger* var. *niger*. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, D.C, v. 60, p. 2650-2652, 1994.
- ABDEL-HAFEZ, A. I. I.; EL-MAGHRABY, O. M. O. Fungal flora and aflatoxin associated with cocoa, roasted coffee and tea powders in Egypt. **Cryptogamie Mycology**, Paris, v. 13, p. 31-45, 1992.
- ABRAMSON, D.; SINHA, R. N.; MILLS, J. T. Mycotoxin formation in HY-320 wheat during granary storage at 15 and 19 % moisture content. **Micopathologia**, v. 111, p. 181-189, 1990.
- ALVES, E. **População fúngica associada ao café (*Coffea arabica* L.) beneficiado e às fases pré e pós-colheita: relação com a bebida e local de cultivo**. 1996. 48 p. Dissertação de (Mestrado) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, Minas Gerais.
- ALVES, E.; CASTRO, H. A. Fungos associados ao café (*Coffea arabica* L.) e sua

relação com a bebida. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 26., 1993, Aracajú. **Resumo...** Aracajú: SBF 1993. ref. 329).

AMORIM, H. V.; CRUZ, A. R.; DIAS, R. M.; GUTIERREZ, L. E.; TEIXEIRA, A. A.; MELLO, M. Transformação químicas e estruturais durante a deterioração da qualidade do café. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEIRAS, 26., 1997, Guarapari. **Resumo...** Guarapari: 1977. p. 15-18.

ANUÁRIO ESTATÍSTICO DO CAFÉ 2002/2003. Disponível em: www.coffeebusiness.com.br. Acesso em fev. 2003.

BATISTA, L. R.; CHALFOUN, S. M.; PRADO, G. Avaliação do potencial ocratoxigênico de espécies da seção Circundati isoladas de grãos de café beneficiado na região sul do estado de Minas Gerais. In: CONGRESSO DE MICOLOGIA, 3., 2001, Águas de Lindóia, São Paulo. **Resumos...** Águas de Lindóia: Sociedade Brasileira de Micologia, 2001. Ref. AL.009.

BATISTA, L. R.; CHALFOUN, S. M.; PRADO, G. Identificação de espécie de fungos da seção Nigri (Grupo *Aspergillus niger*) associados a grãos de café verde avaliação do potencial de produção de ocratoxina A. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 1., 2000, Poços de Caldas, Minas Gerais. **Resumos...** Poços de Caldas: Embrapa Café, 2000. p. 205-207.

BLANC, M.; PITTET, A.; MUNOZ-BOX, VIANI, R. Behavior of ochratoxin A during coffee roasting and soluble coffee manufacture. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, D.C., v. 46, p. 673-675, 1998.

BULLERMAN, L. B. Significance of mycotoxins to food safety and human health. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 42, p. 65-86, 1979.

CABANES, F. J.; ACCENSI, F.; BRAGULAT, M. R.; ABARCA, M. L.; MINGUEZ, S.; PONS, A. *Aspergillus carbonarius* is a source of ochratoxin A contamination in wine. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM – BIOACTIVE FUNGAL METABOLITES: IMPACT AND EXPLOITATION, 2001, Swansea, England. [**Abstracts...**] Swansea : British Mycological Society, 2001.

CHALFOUN, S. M.; BATISTA, L. R.; RIBEIRO, L. L. Avaliação do potencial toxigênico de cepas dos fungos *Aspergillus* e *Penicillium* associados ao café (*Coffea arabica* L.). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEIRAS, 25., 1999, Franca, São Paulo. [**Resumos...**]. Franca, 1999. p. 117.

CHALFOUN, S. M.; CARVALHO, V. L.; CHAGAS, S. J.; COSTA, L. Controle da microflora associada a frutos e grãos de café (*Coffea arabica* L.) nas fases de pré e pós-colheita. **Informe Fegatex**, São Paulo, n. 1, p. 4-10, 1994.

EIROA, M. N. U. Atividade da água: influência sobre o desenvolvimento de microrganismos e métodos de determinação em alimentos. **Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 18, p. 283-252, 1981.

FRANK, J. M. Handbook of mycological methods, enhancement of coffee quality project. 2001. 17 p. (não publicado)

FRANK, J. M.; FRISVAD, J. C. Mycological considerations of coffee production consequential to a HACCP plan for mould prevention. In: INTERNATIONAL SCIENTIFIC COLLOQUIUM ON COFFEE, 18., 1999. Helsinki: ASIC, 1999.

FREITAS, R. F. **Fungos associados a grãos de café (*Coffea arabica* L.) beneficiado de diversos municípios da região sul de Minas Gerais.** 2000. 72 p (Dissertação de (Mestrado) - Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais)

FRISVAD, J. C. High-performance liquid chromatographic determination of profiles of mycotoxins and other secondary metabolites, **Journal of Chromatography**, Amsterdam, v. 392, p. 333-347, 1987.

FRISVAD, J. C.; FILTENBORG, O. Terverticillate *Penicillia*: chemotaxonomy and mycotoxin production. **Mycologia**, New York, v. 81, p. 837-861, 1989.

FURLANI, R. P. Z.; OLIVEIRA, P. L. C.; SOARES, L. M. V. Ocratoxina A em cafés verdes brasileiros: diferenças com relação a espécie. In: SEMINÁRIO INTRODUÇÃO SOBRE BIOTECNOLOGIA NA AGROINDÚSTRIA CAFEIRA – SIBAC, 3., 1999, São Paulo. [**Resumo...**]. São Paulo, 1999. p. 24-28.

FURLANI, R. P. Z.; SOARES, L. M. V. Revisão: ocratoxina A em café. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 2, p. 1-6, 1999.

HEENAN, C. N.; SHAW, K. J.; PITT, J. I. Ochratoxin A production by *Aspergillus carbonarius* and *A. niger* isolates and detection using coconut cream agar. **Journal of Food Mycology**, Columbus, Ohio, v. 1, p. 67-72, 1998.

HESELTIME, C. W.; VANDEGRAFT, E. E.; FENNELL, D. I. *Aspergillus* ochratoxin producers. **Mycologia**, New York, v. 64, p. 539-550, 1972.

JORGENSEN, K. Survey of pork, poultry, coffee, beer and pulses for ochratoxin A. **Food Additives and Contaminants**, London, v. 15, p. 550-554, 1998.

LAI, M.; SEMENIUK, G.; HESSELTIME, C. W. Nutrients affecting ochratoxin A production by *Aspergillus* spp. **Phytopathology**, Saint Paul, MN, v. 58, p. 1058, 1968.

LEE, H. B.; MAGAN, N. impact of environment and interspecific interactions between spoilage fungi and *Aspergillus ochraceus* on growth and ochratoxin production in maize grain. Intern. **Journal of Food Microbiology**, Amsterdam., v. 61, p. 11-16, 2000.

LEONI, L. A.; SOARES, L. M. V.; OLIVEIRA, P. L. C. Ochratoxin A in Brazilian roasted and instant coffees. **Food Additives and Contaminants**, London, v. 17, p. 867-870, 2000.

LEVI, C. P.; TRENK, H. L.; MOHR, H. K. Study of the occurrence of ochratoxin A in green coffee beans. **Journal of the Association of Official and Analytical Chemistry**, Arlington, v. 57, p. 866-870, 1974.

LOPES, L. M. V.; PEREIRA, F. A.; MENDOÇA, J. M. A.; MENDES, A. N. G. Variação de ocorrência de fungos em grãos de sete cultivares de café (*Coffea arabica* L.) em três épocas durante a colheita. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEIRAS, 25-1999, Franca, SP. **Resumo...** Franca, 1999. 144 p.

MICCO, C.; GROSSI, M.; MIRAGLIA, M.; BRERA, C. A study of the contamination by ochratoxins A of green and roasted coffee beans. **Food Additives and Contaminants**, London, v. 6, p. 333-339, 1989.

MILANEZ, T. V. **Influência da atividade de água na produção de ocratoxina A por *Aspergillus alutaceus* em Feijão e efeito da cocção nos teores da micotoxina.** 1993. 116 p.. (Dissertação de (Mestrado) - Universidade de São Paulo.

MISLIVEC, P. B., R. B. VERNEAL and R. GIBSON. Incidence of toxigenic and other molds in green coffee beans. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 46, p. 969-973, 1983.

NAIDU, R. Mycotoxins in coffee. **Indian Coffee**, Bangalore, v. 60, p. 9-11, 1996.

NAKAJIMA, M.; TSUBOUCHI, H.; MIYABE, M.; UENO, Y. Suevey of aflatoxin B1 and ochratoxin A in commercial green coffee beans by high-performance liquid chromatography linked with immunoaffinity chromatography. **Food and Agricultural Immunology**, Norwich, v. 9, p. 77-83, 1997.

NORTHOLT, M. D.; VAN EGMOND, H. P.; PAULSCH, W. E. Ochratoxin A production by some fungal species in relation to water activity and temperature. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 42, n. 6, p. 4585-490, 1979.

OTTENEDER, H.; MAJERUS, P. Ochratoxin A (OTA) in coffee: nation-wide evaluation of data collected by German Food Control 1995-1999. **Food Additives and Contaminants**, London, v. 18, p. 431-435, 2000.

PASIN, L. A. A. P. **Efeito de micronutrientes e cultivares sobre a população fúngica em grãos de café.** 2000. 158 p. Tese de (Doutorado) - Universidade Federal de Lavras. Lavras, Minas Gerais,

PATEL, S.; HAZEL, C. M.; WINTERTON, A. G. M.; GLEADLE, A. E. Survey of ochratoxin A in UK retail coffees. **Food Additives and Contaminants**, London, v. 14, p. 217-22, 1997.

PATERSON, R. R.; KOZAKIEWICZ, Z. *Penicillium* and *Aspergillus* mycotoxins diagnostic characters and quantitative data from commodities and cultures. **Cereal Research Communications**, Szeged, v. 25, p. 271-275, 1997.

PITT, J. I. *Penicillium viridicatum*, *P. verrucosum*, and production of ochratoxin A. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, D.C., v. 53, p. 266-269, 1987.

PITT, J. I.; HOCKING, A.D. **Fungi and food spoilage.** 2 ed., London, Blackie Academic & Professional, 1997. 593 pp

PITTET, A.; TORNARE, D.; HUGGET, A.; VIANI, R. Liquid chromatographic determination of ochratoxin A in pure and adulterated soluble coffee using an immunoaffinity column cleanup procedure. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, D.C., v. 44, p. 3564-3569, 1996.

PRADO, G.; OLIVEIRA, M. S.; ABRANTES, F. M. Incidência de ocratoxina A em café torrado e moído e em café solúvel consumido na cidade de Belo Horizonte, MG. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 20, p. 192-196, 2001.

ROSA, C. A. R. **Micobiota toxígena e ocratoxinas em uvas e produtos derivados.** Seropédica, Rio de Janeiro, 1999. 130 p. (Tese de (Doutorado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro).

SANCHIS, V.; VINHAS, I.; JIMENES, CALVO, M.A. HERNANDEZ, E. Mycotoxin producing fungi isolated from bin stored corn. **Mycopathologia**, v. 80, p. 89-93, 1988.

SCOTT, P. M.; WALBEEK, W.; KENNEDY, B.; ANYETI, D. Mycotoxins (ochratoxin A, citrinin, and sterigmatocystin) and toxigenic fungi in grains and other agricultural products. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, D.C., v. 20, p. 1103-1109, 1972.

SCUSSEL, V. M. **Micotoxins em alimentos.** Florianópolis: Insular, 1998. 144p.

SILVA, C. F. **Diversidade microbiana em grãos de café (*Coffea arabica* L.) processados por via seca nas fases pré e pós-colheita.** 2000. 105 p. (Dissertação de (Mestrado), Universidade Federal de Lavras, MG)

SILVA, C. F.; SCHWAN, R. F.; DIAS, E. S.; WHEALS, A. E. Microbial diversity during maturation and natural processing of coffee cherries of *Coffea arabica* in Brazil. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 60, p. 251-260, 2000.

STUDER-ROHR, I.; DIETRICH, D. R.; SCHLATTER, J.; SCHLATTER, C. The occurrence of ochratoxin A in coffee. **Food and Chemical Toxicology**, Imsford,.v. 33, p. 341-355, 1995.

SWEENEY, M. J.; DOBSON, D. W. Mycotoxin production by *Aspergillus*, *Fusarium* and *Penicillium* species. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 43, p. 141-158, 1998.

TANIWAKI, M. H.; IAMANAKA, B. T.; VICENTINI, M. C. Fungos produtores de ocratoxina e ocratoxina A em cafés brasileiros. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 26., Poços de Caldas, MG. [Resumos...]Poços de Caldas, 2000. p. 720-722.

TANIWAKI, M. H.; PITT, J. I.; TEIXERIA, A. A.; IAMANAKA, B. T. The source of ochratoxin A in Brazilian coffee and its formation in relation to processing methods. . **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 82, n. 2, p. 173-179, 2003

TEIXEIRA, A. R. R.; PIMENTEL, C. V.; TEIXEIRA, A. A.; MORAES, W. B. C. Observação sobre a flora micológica e bacteriológica de frutos de café coletados e processados de diferentes maneiras. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 1987, Campinas. **Resumo...** Campinas, 1987. p. 122-125.

TEREN, J.; VARGA, J.; HAMARI, Z.; RINYU, E.; KEVEI, F. Imunochemical detection of ochratoxin A in black *Aspergillus* strains. **Mycopathologia**, v. 134, p. 171-176, 1996.

TSUBOUCH, H.; TERADA, H.; YAMAMOTO, K.; HISADA, K.; SAKABE, Y. Caffeine degradation and increased ochratoxin A production by toxigenic strains of *Aspergillus ochraceus* isolated from green coffee beans. **Mycopathologia**, v. 90, p. 181-186, 1985.

TSUBOUCH, H.; TERADA, H.; YAMAMOTO, K.; HISADA, K.; SAKABE, Y. Ochratoxin A found in commercial roast coffee. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, D.C., v. 36, p. 540-542, 1988.

TSUBOUCH, H.; UDAGAWA, S. A survey of occurrence of mycotoxins and toxigenic fungi in imported green coffee beans. **Proceedings of the Japanese Association of . Mycotoxicology**, v. 19, p. 14-21, 1984.

TSUBOUCH, H.; YAMAMOTO, K.; HISADA, K.; SAKABE, Y.; UDAGAWA, S. Effect of roasting on ochratoxin A level in green coffee beans inoculated with *Aspergillus ochraceus*. **Mycopathologia**, v. 97, p. 111-115, 1987.

VARGA, J.; KEVEI, E.; RINYU, E.; TEREN, J.; KOZAKIEWICZ, Z. Ochratoxin production by *Aspergillus* species. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, D.C., v. 62, p. 4461-4464, 1996.

WALBEEK, W.; SCOTT, P. M.; HARWIG, J.; LAWRENCE, J. W. *Penicillium viridicatum* westling: a new source of ochratoxin A. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa v. 15, p. 1281-1285, 1969.

WICKLOW, D. T.; DOWD, P. F.; ALFATAFTA, A. A.; GLOER, J. B. Ochratoxin A: an antiinsectan metabolite from the sclerotia of *Aspergillus carbonarius* NRRL 369. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa v. 42, p. 1100-1103, 1996.



Agroindústria de Alimentos

CGPE 3749

MINISTERIO DA AGRICULTURA,
PECUÁRIA E ABASTECIMENTO