

## FUNGOS ASSOCIADOS A GRÃOS CRUS E OCORRÊNCIA DE OCRATOXINA A EM DIFERENTES CULTIVARES DE CAFÉ

Liliana Auxiliadora Avelar Pereira PASIN<sup>(1)</sup>·Mário Sobral de ABREU<sup>(2)</sup>;  
Departamento de Fitopatologia – Universidade Federal de Lavras –UFLA-MG  
(msabreu@ufla.br)

**RESUMO:** A ocratoxina A tem sido relatada como a toxina de maior ocorrência em café, sendo produzida por fungos dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*, dentre eles: *A.ochraceus* e *P.variable* (Scussel,1998). Diversos trabalhos relatam a predominância dos fungos *Fusarium*, *Penicillium*, *Aspergillus* e *Cladosporium* em grãos de café beneficiado em diversas localidades produtoras. Entretanto, a avaliação da incidência destes fungos em diferentes cultivares comumente plantadas ainda não foi investigada, assim como a produção de OTA. Desta forma, este trabalho objetivou determinar os fungos presentes em 5 cultivares de café distintas, sendo: Acaiaí, Mundo Novo, Catuaí, Rubi e Icatu e a produção de OTA através de HPLC. Dentre as amostras processadas por via seca, a cultivar Acaiaí foi a que apresentou maior incidência de *A.ochraceus*18%; seguida pelas cultivares Rubi 16% e Catuaí 12% e nas amostras processadas por via úmida, a cultivar Icatu 50%,seguidas pelas cultivares Rubi,19% e Acaiaí 17 %. A maior incidência de *P. variable*, para as amostras processadas por via seca foi observada na cultivar Acaiaí 95 %, seguida pelas cultivares Mundo Novo,72% e Catuaí 37% e pela via úmida, observou-se a incidência de 96 % para a cultivar Acaiaí, seguida pelas cultivares, Catuaí e Mundo Novo, com 54 e 30%, respectivamente. A presença OTA foi detectada apenas na cultivar Rubi (1,86µg/Kg) evidenciando que a presença do fungo produtor de OTA nos grãos beneficiados não implica necessariamente na ocorrência da toxina.

**PALAVRA CHAVE:** Ocratoxina A, fungos toxigênicos, grãos de café verde.

**ABSTRACT:** The ocratoxina A has been related as the toxin of larger occurrence in coffee. It is produced by the fungi of the genus *Aspergillus* and *Penicillium*. The most common species named are *A. ochraceus* and *P. variable* (Scussel, 1998). Several investigations describe the predominance of *Fusarium*, *Penicillium*, *Aspergillus* and *Cladosporium* genus, in coffee beans processing at several producing places, however, the incidence of these fungi in different cultivars commonly planted was not still investigated, as well as the production of OTA. This investigations, aimed as to determine the present fungi on five different coffee, cultivars, Acaiaí, Mundo Novo, Catuaí, Rubi and Icatu and the production of OTA through HPLC. Of the analyzed samples, Acaia was one of the varieties presented larger incidence of *A.ochraceus*18%; followed for the cultivar Ruby 16%, Catuaí 12%, the largest incidence of *P. variable* was observed in cultivating Acaiaí 95%, followed by the cultivar Mundo Novo,72% and Catuaí 37%, OTA was just detected in cultivar Ruby (1,86µg/Kg) evidencing that the presence of the fungi producing of OTA in the processing grains doesn't necessarily implicate in the occurrence of the toxin.

**KEY WORD:** Ocratoxina A, Fungi toxigenics, coffee beans green.

### INTRODUÇÃO

Aproximadamente 300 micotoxinas já foram isoladas, dentre elas destacam-se a aflatoxina, ocratoxina A. No café, a toxina de maior ocorrência é a ocratoxina A (OTA), seguida pela aflatoxina e esterigmatoxina. (Nakajima et al, 1994). A OTA, constitui-se um sério problema de saúde pública mundial, desde que foi associada com a nefropatologia dos Balcãs, a partir de então, muitos trabalhos tem sido desenvolvidos para registrar sua produção em alimentos. (Freitas, 2000). Regulamentações para a presença de OTA em alimentos foram propostas e adotadas por 11 países, sendo os limites de tolerância variáveis de 1 a 50µg/Kg. Para o café, a União Européia propôs o limite máximo de tolerância de 5µg/Kg. (Freitas, 2000). Espécies toxigênicas podem ser encontradas em todos os principais grupos de fungos, sendo que os gêneros

**Fonte financiadora:** CONSÓRCIO BRASILEIRO DE PESQUISA E DESENVOLVIMENTO DO CAFÉ

*Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium* são os maiores produtores. A OTA é produzida por fungos dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* dentre eles: *A.ochraceus*, *A.melleus*, *A.sulphureus*, e *P.viridicatum*, *P.*

*commune*, *P. cyclopodium* e *P. variable*. (Scussel,1998). A ocorrência de OTA em cafés beneficiados tem sido relatada por vários autores, em concentrações que variam de 0,2 a 360 µg/Kg (Tsubouchi et al.,1984;Abarca, et al.1994; Nakajima, et al., 1997). O crescimento de fungos toxigênicos, associados aos grãos e conseqüentemente a produção de micotoxinas, resulta de uma interação complexa de vários fatores, que incluem umidade do grão, temperatura, injúrias, composição do substrato, microflora fúngica, predomínio de linhagens toxigênicas, interação entre populações de microorganismos, variabilidade genética das cultivares produtoras de grãos, entre outros. (Scussel, 1998). Os fungos micotoxigênicos podem crescer em vários tipos de substratos, que apresentam em sua constituição química compostos que podem estimular ou inibir a produção de micotoxinas . Micco, et al.(1992) citam que a cafeína pode atuar como agente protetor contra a produção de aflatoxina B1 em grão de café, embora as mudas de café cresçam em condições favoráveis ao crescimento de *Aspergillus*, a constituição química pode variar dentro de uma mesma espécie, nas diferentes cultivares. A variabilidade genética também pode exercer influencia direta na morfologia e anatomia da planta, Scussel (1998) ressalta que algumas variedades de grãos apresentam o pericarpo mais resistente à invasão e a proliferação por fungos, o que dificulta a produção de toxinas. Em se tornando necessário elucidar alguns pontos importantes no patossistema estudado, o presente trabalho objetivou avaliar a incidência fúngica a presença de OTA em grãos de café de diferentes cultivares.

## MATERIAL E MÉTODOS

As amostras de café, utilizadas neste trabalho foram provenientes da fazenda experimental da EPAMIG, localizada no município de Lavras-MG. Foram utilizadas 5 cultivares, sendo: Acaíá, Catuaí, Icatu, Mundo Novo e Rubi, todas conduzidas sob as mesmas condições de manejo. Cada amostra foi composta de 30 Kg de café, sendo metade processada via úmida, constituindo , café despolpado e a outra metade , via seca. Após o beneficiamento , realizou-se o teste de sanidade dos grãos, utilizando 4 placas de petri de 15 cm de diâmetro, contendo 3 folhas de papel de filtro, esterilizadas para cada amostra. Em cada placa foram semeadas 25 sementes, as quais foram incubadas durante 7 dias a 23 ° C e 12 horas de luminosidade alternadas com 12 horas de escuro, segundo recomendação de Tempe (1963). Os fungos foram identificados através da forma e coloração das colônias e esporos ao microscópio estereoscópico, A porcentagem média dos fungos das quatro repetições de 25 grãos constituiu o resultado médio de cada amostra. A determinação da OTA foi realizada por, HPLC , com limite de 0,2 µg/Kg .

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Através dos resultados apresentados nas Tabelas 1, 2 podemos observar que a incidência de fungos nos grãos beneficiados foi variável em função das cultivares avaliadas, isso possivelmente devido a características intrínsecas à cada variedade, já que as condições climáticas e os tratamentos culturais foram os mesmos para todas as cultivares. A incidência de *Penicillium variable*, fungo produtor de OTA, foi maior na cultivar Acaíá, tanto para o café despolpado quanto para o café seco no terreiro, nas cultivares Icatu e Rubi, não se detectou a presença deste fungo. A incidência de *Aspergillus ochraceus* foi evidente em todas as cultivares analisadas, entretanto a cultivar Icatu, apresentou uma maior porcentagem de grãos infectados quando processado via úmida, diferindo consideravelmente das demais, no entanto, esta mesma cultivar, quando processada pela via seca, apresentou a menor incidência deste fungo , possivelmente, devido a alta incidência do fungo *Cladosporium* . Mislivec et al. (1983) relata haver um efeito inibitório exercido por certos fungos em detrimento de outros, esta inibição pode ser atribuída a presença de alguns metabólitos estáveis produzidos por certos fungos. Paster et al (1996) também cita em seu trabalho o efeito inibitório exercido por *Aspergillus niger* e *Aspergillus ochraceus* sobre o crescimento de *Aspergillus flavus* refletindo na produção de aflatoxina.

Tabela 1 – Porcentagem (%) de fungos associados aos grãos de café processados por via seca, em diferentes cultivares

<b>Cultiv.</b>	<i>Fusarium semitectum</i>	<i>F.equiseti</i>	<i>Penicillium rugulosum</i>	<i>P.variable</i>	<i>P.funiculosum</i>	<i>Aspergillus ochraceus</i>	<i>A.niger</i>	<i>Cladosporium</i>
Acaiaá	0	57	0	95	0	18	2	87
MN	83	0	0	72	0	9	4	92
Icatu	0	87	0	0	79	8	2	92
Catuaí	0	77	0	37	0	12	12	86
Rubi	0	74	82	0	0	16	2	87

Tabela 2 – Porcentagem (%) de fungos associados aos grãos de café despulpado(via úmida), em diferentes cultivares

<b>Cultivares</b>	<i>Fusarium semitectum</i>	<i>F.equiseti</i>	<i>Penicillium rugulosum</i>	<b>P.variable</b>	<i>P.funiculosum</i>	<i>Aspergillus Ochraceus</i>	<i>A.niger</i>	<i>Cladosporium</i>
Acaiaá	0	66	0	96	0	17	0	92
MN	97	0	0	30	0	5	0	79
Icatu	0	74	0	0	90	50	3	15
Catuaí	0	76	0	54	0	14	5	72
Rubi	0	99	49	0	0	19	0	92

Várias citações indicam a relação dos fungos associados aos grãos com os cafés classificados como bebida de pior qualidade. (Carvalho et al,1989; Meirelles ,1990; Alves,1996), entretanto a apesar da incidência de certos fungos influenciarem diretamente na qualidade da bebida, o mesmo não ocorre para a produção de micotoxinas por fungos produtores. Pelos resultados apresentados na tabela 3, podemos verificar a ocorrência da Ocratoxina A em apenas uma cultivar analisada, em concentração bem abaixo do limite estabelecido pela União Européia, para o café. A toxina foi detectada apenas para a cultivar Rubi processada por via úmida. Apesar da constatação do *P. variable*, produtor de OTA em 96 % dos grãos despulpados analisados na cultivar Acaiaá e 50 % dos grãos de café despulpado da cultivar Icatu estarem contaminados por *A.ochraceus* , não se detectou a ocorrência de OTA nas cultivares citadas. Estes resultados confirmam o que foi relatado por vários autores em que a ocorrência e a concentração desta toxina é dependente de diversos fatores(Paster et al. 1992, Pitt et al.1997,Scussel,1998) entre eles a composição química dos grãos, já que certas substâncias como a cafeína podem inibir substancialmente a produção de micotoxinas. (Micco et al. 1992) citam que a cafeína pode atuar como agente protetor contra a produção de aflatoxina B1 em grãos de café, mesmo em condições climáticas favoráveis ao crescimento do fungo produtor. O mesmo pode ter ocorrido para a OTA, no presente trabalho.

Tabela 3 – Ocorrência de OTA em diferentes cultivares de café verde beneficiado, processado por via seca e úmida ( café – despulpado/D)

Cultivar	HPLC µg/mL	µg/Kg
Acaiaá	ND	ND
Catuaí	ND	ND
Icatú	ND	ND
Mundo Novo	ND	ND
Rubi	ND	ND
Acaiaá / D	ND	ND
Catuaí / D	ND	ND
Icatú /D	ND	ND
Mundo Novo /D	ND	ND
Rubi /D	0,0031	1.86

**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- Abarca, M. L., Bragulat, M. R., Castellá, G. e Cabanes, F. J. Ochratoxin A Production by Strains of *Aspergillus niger* var *niger*. **Applied and Environmental Microbiology**. vol 60, n. 7, p. 2650- 2652, 1994.
- Alves, E. **População fúngica associada ao café (*Coffea arabica* L.) beneficiado e as fases pré e pós colheita relação com a bebida e local de cultivo**. Lavras: UFLA, 1996, 48 p. (Dissertação - Mestrado em Fitopatologia).
- Chalfoun, S.M.; **O café (*Coffea arabica* L.) na região Sul de Minas Gerais-Relação da qualidade com fatores ambientais, estruturais e tecnológicos**. Lavras: UFLA, 1996.154p. (tese - Doutorado em Fitotecnia)
- Freitas, R. F. **Fungos Associados a Grãos de café (*Coffea arabica* L.) beneficiado em Diversos Municípios da Região Sul de Minas Gerais**. Lavras: UFLA, 2000, 72 p. (Dissertação - Mestrado em Ciência dos Alimentos).
- Meirelles, A.M.A. **Ocorrência e controle da microflora associada aos frutos de café (*Coffea arabica* L.) provenientes de diferentes localidades do estado de Minas Gerais**. Lavras: UFLA, 1990. 71p. (Dissertação – Mestrado em Fitotecnia).
- Mislivec, P.B.; Bruce,V.R.; GibsoN,R. Incidence of toxigenic and other molds in green coffee beans. **Journal of Food Protection**, Washington, v.46, n.11, p.969-973,1983.
- Nakajima, M., Tsubouchi, H. Yamamoto, Miyabe, M. e Ueno, Y. Survey of Aflatoxin B 1 and Ochratoxin A In Commercial Green Coffee Beans by HighPerformance Liquid Chromatography Linked with Immunoaffmity Chromatography. **Food and Agricultural Immunology**. n. 9, p. 77-83. 1997.
- Paster, N., Pushinsky, A; Menasherov, M. e Chet, I. Innibitory Efect of *Aspergillus niger* on the Growth of *Aspergillu ochraceus* and *Aspergillus flavus*, and on Aflatoxin Formation. **JournalScience Food Agricultural**, n. 58, p. 589 591, 1992
- Pitt, J. I. e Hocking, A. D., **Fungi and Food Spoilage**, 2ª edição, Cambridge: Chapman &Hall, 1997.
- Scussel,V.M. **Micotoxinas em Alimentos**. Florianópolis: Insular,1998 144p.
- Tempe, J. de. The blotter method for seed health testing. **Proceeding International of the Seed Testing Association**. Copenhagen, v.28,n.1, p.133-151.1963
- Tsubouchi, H. Yamamoto, K. Hisada, K. e Sakabe. A Survey occurence of mycotoxins and toxigenic fungi in imported green coffee beans. **Proc. Jpn. Assoc. Mycotoxicol**. n. 19, p. 16-21. 1984.

## **AVISO**

ESTA PUBLICAÇÃO PODE SER ADQUIRIDA NOS  
SEGUINTE ENDEREÇOS:

### **FUNDAÇÃO ARTHUR BERNARDES**

Edifício Sede, s/nº. - Campus Universitário da UFV  
Viçosa - MG  
Cep: 36571-000  
Tels: (31) 3891-3204 / 3899-2485  
Fax : (31) 3891-3911

### **EMBRAPA CAFÉ**

Parque Estação Biológica - PqEB - Av. W3 Norte (Final)  
Edifício Sede da Embrapa - sala 321  
Brasília - DF  
Cep: 70770-901  
Tel: (61) 448-4378  
Fax: (61) 448-4425