

# IDENTIFICAÇÃO DE ESPÉCIES DE FUNGOS DA SECÇÃO *Nigri* (GRUPO *Aspergillus niger*) ASSOCIADOS A GRÃOS DE CAFÉ VERDES E AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE PRODUÇÃO DE OCRATOXINA A

Luís Roberto BATISTA<sup>(2)</sup>, Sára Maria CHALFOUN<sup>(3)</sup>, Guilherme PRADO<sup>(4)</sup>; <sup>(2)</sup> Departamento de Ciência de Alimentos-Universidade Federal de Lavras - LTFLA-MG (luisrb@ufla.br); <sup>(3)</sup> EPAMIG-CTSM/EcoCentro; <sup>(4)</sup> Fundação Ezequiel Dias - FUNED - Belo Horizonte-MG

**RESUMO:** Os fungos *Aspergillus* spp. do Secção *Nigri* (Grupo *Aspergillus niger*) são as espécies mais comuns que ocorrem em toda parte do mundo, e um grande número de espécies e variedades tem sido descritas. A maioria dos isolados são diagnosticados de *A. niger*, porém isolados fora desta espécie, tem sido reconhecidos em países. Os fungos pertencentes à Secção *Nigri* tem sido frequentemente encontrados em grãos de café verde, e muitas vezes são predominantes na microbiota fúngica analisada. Alguns estudos estão alertando para o risco de ocratoxina A proveniente das espécies desta Secção em alimentos e no café. Neste sentido amostras de café verde oriundas da Região Sul do Estado de Minas Gerais foram avaliadas quanto à presença da microbiota fúngica, das quais até o momento foram isolados 24 fungos da Secção *Nigri*. Dos 24 isolados identificados, 54,16% pertencem à espécie *Aspergillus niger* var *awamori*, 33,33% à espécie *Aspergillus niger* var *niger* e 12,5% a espécie *Aspergillus foetidus*. Na avaliação do potencial toxigênico nenhuma das espécies foi produtora de ocratoxina A. Porém as espécies *Aspergillus niger* var *niger* e *Aspergillus foetidus* já foram citados como produtores da toxina, demonstrando que estudos deste gênero devem prosseguir, visando avaliar o eventual risco de ocratoxina A proveniente da Secção *Nigri* para o café brasileiro.

**PALAVRAS-CHAVE:** Secção *Nigri*, grãos de café verde.

**ABSTRACT:** Section *Nigri* of in the *Aspergillus* (Group *Aspergillus niger*) include are the most common species that occur around the world, and a great number of species and varieties has been described. Most of the isolates agrees well with the diagnosis of *A. niger*, even so, isolates other than this has been recognized in tropical countries. The fungi of the Section *Nigri* has frequently been found in grains of green coffee, and in many times are the predominant fungi microbiota. Some studies pointed out risk of ochratoxin A due to species of this Section in foods and coffee. Samples of green coffee beans from the South Area of Minas Gerais State were evaluated for the presence of the fungi microbiota. Until the moment, 24 fungi of Section *Nigri*. Were isolated 24 isolates identified, 54,16% belong to the species *Aspergillus niger* var *awamori*, 33,33% among *Aspergillus niger* var *niger* and 12,5% to *Aspergildus foetidus*. In the evaluation of the potential toxigenic, none of the species produced ochratoxin A. However, the species *A. niger* var *niger* and *A. foetidus* were already mentioned as produces of the toxin. Studies in this area should be continue to evaluate the eventual ochratoxin A risk coming from Section *Nigri* fungi the Brazilian coffee.

## INTRODUÇÃO

Dentre os fungos mais comuns relatados em alimentos, *A. niger* prevalece em locais de clima quente, em ambas as situações no campo e nos produtos estocados (Pitt & Hocking, 1997). Os fungos pertencentes à Secção *Nigri* tem ocupado importante papel na indústria de biotecnologia, sendo utilizados na produção de enzimas como glucoamilase, lactase, catalase e muitas outras (Sansom, 1994). Devido a sua fisiologia similar à de *A. flavus* alguns estudos tem sugerido o uso de *A. niger* no campo como um competidor do *A. flavus*. Entretanto, *A. niger* é muito destrutivo para ser utilizado para este fim, sendo a espécie mais comum dos *Aspergillus* responsáveis pela decomposição pós-colheita de frutos (Pitt & Hocking, 1997). Trabalhos realizados no Sul de Minas Gerais mostraram com frequência a presença de *A. niger* em grãos e frutos do café (Alves, 1996; Meirelles, 1990; Freitas, 2000). Relatos também reportam a presença de ocratoxina em grãos de café verde produzidas por espécies pertencentes a esta Secção (Nakajima *et al.*, 1997; Tsubouchi *et al.*, 1994). Este estudo teve como objetivo identificar as espécies pertencentes à Secção *Nigri* isoladas de grãos de café verde e avaliar o potencial ocratoxigênico dos isolados identificados.

## MATERIAL E MÉTODOS

Os fungos utilizados neste experimento foram isolados de grãos de café verde, em amostras provenientes da Região do Sul do Estado de Minas Gerais. Para o isolamento foi utilizada a técnica de Plaqueamento Direto de acordo com Samson et al (1995). A identificação das espécies foi realizada utilizando meios padronizados e a metodologia seguida por Klich e Pitt (1988). Para a identificação de possíveis produtores de ocratoxina A, foi utilizada a técnica de Plug Agar descrita por Fíltenborg e Frisvad (1980).

## RESULTADO E DISCUSSÃO

A Tabela 1 apresenta os resultados obtidos até o presente momento. Dos 24 isolados identificados, 54,16% pertencem à espécie *Aspergillus niger* var *awamori*, 33,33% à espécie *Aspergillus niger* var *niger* e 12,5% à espécie *Aspergillus foetidus*. Para a diferenciação das espécies, as características microscópicas foram as que mais auxiliaram, com destaque para a textura dos conídios. Contudo as demais características descritas por Klich & Pitt (1988) também foram necessárias. Alguns trabalhos mencionam o grupo *A. Niger* como predominante nas amostras de grãos de café analisadas (Nakajima et al., 1997; Tsubouchi et al., 1994). Sendo assim, estas espécies que pertencem a este Grupo podem fazer parte da micoflora dos ambientes da lavoura de café. O que pode afetar o resultado das espécies identificadas é o manual utilizado na identificação. Ao incluir três referências de identificação de *Aspergillus* em uma tabela, Sansom (1994) demonstra que *A. niger* identificado por Raper & Fennell (1995) pode ser identificado como *A. niger* var *niger* utilizando o método de identificação descrito por Al-Musallam (1980) e como *A. niger* utilizando uma outra metodologia descrita por Kusters-Van Someren et al (1990, 1991), dentro do mesmo grupo *A. awamori* segundo Raper & Fennell (1965), é o *A. niger* var. *awamori* de acordo com Al-Musallam (1980) e *A. niger* utilizando Kusters- Van Someren et al (1990, 1991).

Os fungos da Secção *Nigri* são contaminantes de inúmeros produtos e em café eles estão relacionados com a redução na qualidade da bebida, por estarem associados a produtos de padrão inferior, o que não ocorre em cafés com bebidas de boa qualidade. Por outro lado, Paster et al (1992) demonstraram o efeito inibidor de *A. niger* sobre o crescimento de *A. ochraceus* e *A. flavus* e também na formação de aflatoxina em meio sintético. O importante agora é determinar qual o papel de cada espécie deste grupo sobre os produtos, ou benéficos atuando como um agente protetor ou maléfico reduzindo a qualidade dos produtos e/ou produzindo micotoxinas.

Espécies da Secção <i>Nigri</i>	Total de isolados	Teste ("Plug Agar") para produtores de ocratoxina A
<i>Aspergillus niger</i> var <i>nigri</i>	<b>08</b>	<b>0(0,0%)</b>
<i>Aspergillus niger</i> var <i>awamori</i>	<b>13</b>	<b>0(0,0%)</b>
<i>Aspergillus foetidus</i>	<b>03</b>	<b>0(0,0%)</b>

Tabela 1. Espécies da Secção *Nigri* isolados de grãos de café verde e o resultado em percentagem do teste para avaliar os possíveis produtores de ocratoxina A

Nenhum dos isolados testados foram produtores de ocratoxina A. O *A. niger* var *niger* foi relatado por ser produtor de ocratoxina A, em meio YES por Abarca et al (1994). Nakajima et al (1997) indica a possibilidade da presença de ocratoxina A nas amostras de grãos de café verdes associadas aos membros do grupo *A. niger*, chegando a citar *A. foetidus* como produtor da toxina em meio de cultura contendo arroz. Durante o levantamento bibliográfico para a execução deste trabalho, em nenhum estudo o *A. niger* var *awamori* foi citado por ser produtor de ocratoxina A.

## CONCLUSÃO

Dentro da Secção *Nigri* são encontradas como pertencentes a micoflora dos grãos de café verdes as espécies *Aspergillus niger* var *awamori*, *Aspergillus* var *niger* *Aspergillus foetidus*.

A presença das espécies *Aspergillus niger* var *awamori*, *Aspergillus niger* var *niger* e *Aspergillus foetidus* não apresenta um risco para a presença de ocratoxina A nas amostras nos grãos de café verdes analisadas.

**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).
- FILTENBORG, O. & FRISVAD., L. C., A simple Screening- Method for Toxigenic Moulds in pure Cultures, **Lebensmittel Wissenschaft und Technologie**, n.13, p. 128-130, 1980.
- 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).
- KLICH, M. A. & PITT, J. I. **A Laboratory Guide to Common *Aspergillus* species and their Teleomorphs**, North Ryde, 1997.
- 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).
- 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 Immunoaffinity Chromatography. **Food and Agricultural Immunology**. n. 9, p. 77-83. 1997.
- ONIONS, A. H. S., ALLSOPP, D. E EGGGÜNS H. O. W. *Aspergillus*, In: **Smith's Introduction to Industrial Mycology**, 7<sup>a</sup> edição, Edward Arnold Ltd. 1995, p.168-210
- PASTER, N., PUSHINSKY, A; MENASHEROV, M. E CHET, I. Innibitory Efeict of *Aspergillus niger* on the Growth of *aspergillu ochraceus* and *Aspergillus flavus*, and on Aflatoxin Formation. **Journal Science Food Agricultural**, n. 58, p. 589 591, 1992
- PITT, J. I. E HOCKING, A. D. **Fungi and Food Spoilage**, 2<sup>a</sup> edição, Cambridge: Chapman &Hall, 1997.
- RAPER, K.B., E FENNELL, D. I. **The Genus *Aspergillus***. Baltimore, ed Williams and Wilkins Co., 1965.
- SAMSON, R. A., HOEKSTRA, E. S., FRISVAD, J. C. E FILTENBORG, O. **Introdution to food-borne Fungi**, 4a edição, Centraalbureau Voor Schimmelcultures Baarn Delft.1995. p.322
- SANSOM, R. A. Taxonomy - Current Concepts of *Aspergillus* Systematics, In: Smith, J. E. (ed) **Biotechnology Handbook 7 - *Aspergillus***, Plenum Publishing Corporation, New York 1994 p. 1-18
- 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