

MICROBIOTA E INCIDÊNCIA DE OCHRATOXINA A NOS CAFÉS COM DEFEITOS

Marta H. Taniwaki¹ E-mail: mtaniwak@ital.sp.gov.br; Aldir A. Teixeira²; Ana Regina R. Teixeira²; Beatriz T. Iamanaka¹ & Maria Lígia N. Freitas¹

¹ Instituto de Tecnologia de Alimentos – ITAL – Av. Brasil, 2880 – Campinas-SP – CEP 13070-178

² Assicafé Assessoria e Consultoria Agrícola Ltda, São Paulo-SP

Resumo

Os objetivos desse trabalho foram avaliar a microbiota e a presença da ocratoxina A nas duas principais espécies comercializadas atualmente, *Coffea arabica* e *Coffea canephora* (robusta) com e sem a presença de grãos defeituosos. O café robusta apresentou-se mais contaminado por black aspergilli do que o arábica. As porcentagens de infecção foram de 65,3% e 4,7%, respectivamente. A presença de defeitos aumentou a infecção por black aspergilli somente no café arábica (17,3%), no robusta a porcentagem de infecção manteve-se constante (57,3%). Os níveis de ocratoxina A em café arábica, arábica com defeitos, café robusta e robusta com defeitos foram: < 0,2, 0,62, 1,56 e 9,01 µg/kg, respectivamente. Os grãos defeituosos ardidos apresentaram uma maior concentração de ocratoxina A do que os outros defeitos (11,35 µg/kg).

Palavras chaves: café, microbiota, ocratoxina A, cafés com defeitos.

MYCOBIOTA AND OCHRATOXIN A INCIDENCE IN COFFEE WITH DEFECTS

Abstract

The objectives of this work were to evaluate the mycobiota and the presence of ochratoxin A in the two principal coffee species: *Coffea arabica* and *Coffea canephora* (robusta), with or without defects. Robusta coffee presented more contamination by black aspergilli than arabic. The percentage infections were 65.3% and 4.7%, respectively. The presence of defects increased the infection by black aspergilli only in arabic coffee (17.3%); in robusta, the percentage infection was the same (57.3%). The levels of ochratoxin A in arabic, arabic with defects, robusta and robusta with defects were: < 0.2, 0.62, 1.56 and 9.01 µg/kg, respectively. The coffee beans with sour defect had higher ochratoxin A concentration than those with other defects (11.35 µg/kg).

Key words: coffee, mycobiota, ochratoxin A, coffee with defects.

Introdução

O Brasil é o maior produtor de café, com cerca de 36% da produção mundial. Infelizmente o ótimo desempenho em termos quantitativos da produção de café não está relacionado com o aspecto qualitativo. As diferenças climáticas entre as regiões produtoras, as características genéticas diferenciadas e principalmente as técnicas de preparo, colheita e secagem dos grãos, são os fatores que interferem diretamente na qualidade final do café e, conseqüentemente, na presença de grãos defeituosos e impurezas.

Os defeitos podem ser tanto de natureza intrínseca como extrínseca aos grãos. Os primeiros são os denominados grãos alterados e são decorrentes da aplicação inadequada dos processos agrícolas e industriais (ardidos, verdes, preto verde, verde escuro, chochos, etc), ou então são originados de modificações fisiológicas ou genéticas do grão (mal granado, concha, moka). Os defeitos de natureza extrínseca são aqueles representados pelos elementos estranhos ao café beneficiado, como coco, cascas, paus, pedras. Todos esses defeitos desvalorizam o café durante sua comercialização, interferindo negativamente na sua colocação no mercado, além de acarretar em prejuízos de ordem econômica por pesarem menos que os grãos normais. Além disso, esses defeitos alteram as características sensoriais da bebida do café, produzindo uma bebida com elevada acidez e de qualidade inferior.

A Organização Internacional do Café (OIC), Resolução nº 407 de 01 de fevereiro de 2002, reduziu o número de café com defeitos destinados à exportação em: arábica até 86 defeitos/300g e robusta até 150 defeitos/300g (OIC, 2002). Esta resolução irá afetar, adversamente, os países produtores de café, pois resultará num acúmulo de defeitos no mercado doméstico.

Sendo a presença de grãos defeituosos nos lotes de café um fato real, um estudo mais detalhado desses defeitos adquire importância, não somente em termos econômicos, mas principalmente, em termos de saúde pública.

Com exceção dos defeitos de origem fisiológica ou genética, os demais são decorrentes da aplicação inadequada de práticas agrícolas. Dentre estas, encontra-se a prática da permanência prolongada dos grãos em contato com o chão, o

que implica na contaminação desses grãos por microrganismos presentes no solo e a formação do defeito preto e ardido. Estes microrganismos, além de serem deterioradores e causadores de defeitos, podem ainda produzir toxinas. Uma toxina que tem sido bastante pesquisada em café é a ocratoxina. É produzida principalmente pelo fungo *Aspergillus ochraceus*, e mais recentemente, tem sido verificada a sua produção por *Aspergillus niger* e *Aspergillus carbonarius*, conhecidos como black aspergillii (Urbano et al., 2001; Joosten et al., 2001; Taniwaki et al., 2003). Já foi comprovada que a ocratoxina é nefrotóxica, teratogênica e mutagênica em vários animais. É uma micotoxina que vem sendo detectada em diferentes lotes de cafês, no Brasil e no mundo (Studer-Rohr et al., 1995; Patel et al., 1997; van der Stegen et al., 1997; Bucheli & Taniwaki, 2002; Taniwaki et al., 2003). Alguns países da Europa já estabeleceram limites máximos de ocratoxina A em café que vai de 5 a 20 µg/kg.

Levando em consideração esses fatos torna-se de vital importância a investigação da ocratoxina nos grãos defeituosos, principalmente nos defeitos preto, verde e ardido bem como a microbiota dos cafês com defeitos e sem defeitos.

Os objetivos do presente trabalho são: (i) Verificar a presença de ocratoxina nos grãos de cafês com defeitos, tanto do café arábica como do robusta; (ii) verificar a presença de ocratoxina A nos defeitos: preto, verde e ardido do café arábica; (ii) verificar a microbiota dos cafês com defeitos e sem defeitos.

Material e Métodos

Amostras

- Café arábica tipo 3, bebida mole, de Patrocínio-Minas Gerais;
- Resíduo de café arábica, bebida dura, de Patrocínio-Minas Gerais;
- Café robusta, tipo 6, bebida neutra, de Rondônia;
- Resíduo de café robusta, bebida neutra com sabor de palha, de Rondônia

Análise micológica

Um total de 50 grãos de cafês foram desinfetados superficialmente com hipoclorito de sódio 0,4% por 1 min e plaqueados em meio agar Dicloran 18% de glicerol (Pitt & Hocking, 1997). As placas foram incubadas a 25°C por 5 a 7 dias, e a porcentagem de infecção foi calculada. As colônias foram identificadas de acordo com Klich & Pitt (1988) e Pitt & Hocking (1997).

Ocratoxina A

Ocratoxina A foi analisada de acordo com o método de Vargas et al. (1999), com a limpeza da amostra em coluna de imunoafinidade Vicam Ochratest e detecção por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), utilizando detector de fluorescência. As análises foram realizadas em triplicata.

Separação dos defeitos

Os defeitos dos cafês foram separados manualmente em: meio preto, verde escuro, verde, preto-verde, preto e ardido pela equipe de classificação da Assicafé.

Resultados e Discussão

O café robusta apresentou a maior contaminação, tanto por fungos quanto por ocratoxina A, em relação ao café arábica. Mesmo o café robusta considerado bom, apresentou alta contaminação por black aspergilli, com 65,3% dos grãos infectados. Aparentemente, os defeitos foram responsáveis pelo aumento da contaminação por black aspergilli no café arábica de 4,7% a 17,3% e por *A. ochraceus* de 0% a 4,0%, como mostra a Tabela 1. As Tabelas 1 e 2 apresentam os valores de porcentagem de infecção fúngica e os níveis de ocratoxina A nas amostras analisadas, respectivamente. Apenas o café robusta com defeitos apresentou contaminação elevada por ocratoxina A (9,01 µg/kg). Os demais, café arábica e arábica com defeitos e mesmo o robusta, apresentaram níveis reduzidos.

Tabela 1. Porcentagem de infecção fúngica nas amostras de café arábica e robusta com e sem defeitos.

Fungos	Porcentagem de infecção (%)			
	Arábica	Arábica com defeitos	Robusta	Robusta com defeitos
Black aspergilli	4,7	17,3	65,3	57,3
<i>Aspergillus ochraceus</i>	-	4,0	8,0	2,0
<i>Eurotium spp</i>	0,7	4,0	4,0	4,0
<i>Rhizopus spp</i>	-	-	0,7	-
Outros	1,3	-	-	-

Tabela 2. Teores de ocratoxina A ($\mu\text{g}/\text{kg}$) nas amostras de café arábica e robusta, com e sem defeitos.

Amostras	Ocratoxina A ($\mu\text{g}/\text{kg}$)			
	Arábica	Arábica com defeitos	Robusta	Robusta com defeitos
1	ND ¹	0,62	1,36	8,83
2	ND	0,63	2,34	9,18
3	ND	0,62	0,97	9,03
Média	ND	0,62	1,56	9,01

¹ ND: não detectado pelo método. Limite de detecção = 0,2 $\mu\text{g}/\text{kg}$

A Tabela 3 apresenta o teor de ocratoxina A em nas amostras dos defeitos preto, verde e ardido do café arábica. O defeito ardido apresentou a maior concentração de ocratoxina A (11,35 $\mu\text{g}/\text{kg}$), enquanto em outros defeitos o conteúdo da toxina foi menor que 0,5 $\mu\text{g}/\text{kg}$.

Tabela 3. Teores de ocratoxina A ($\mu\text{g}/\text{kg}$) nos defeitos preto, verde e ardido do café arábica.

Defeitos de café	Ocratoxina A ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
Controle (defeitos retirados)	ND ¹
Meio preto	0,45
Verde escuro	ND
Verde	ND
Preto verde	0,39
Preto	0,49
Ardido	11,35

¹ ND: não detectado pelo método. Limite de detecção = 0,2 $\mu\text{g}/\text{kg}$.

Conclusões

Com os defeitos houve um aumento na concentração de ocratoxina A tanto no café arábica como no robusta. O café robusta apresentou infecção maior por black aspergilli e maior teor de ocratoxina A do que o café arábica.

Referências Bibliográficas

- Bucheli, P. & Taniwaki, M.H. 2002. Research on the origin, and the impact of postharvest handling and manufacturing on the presence of ochratoxin A in coffee. **Food Addit. Contam.** **19:** 655-665.
- Joosten, H.M.L.J., Goetz, J., Pittet, A., Schellenberg, M. & Bucheli, P. 2001. Production of ochratoxin A by *Aspergillus carbonarius* on coffee cherries. **Intern. J. Food Microbiol.** **65:** 39-44.
- Klich, M.A. & Pitt, J.I. 1988. **A Laboratory Guide to Common Aspergillus species and their Teleomorphs**. Sydney: Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization, 115p.
- Organização Internacional do Café. 2002. Resolução nº 407/02. Londres, 3p., 01 fevereiro 2002.
- Patel, S.; Hazel, C. M.; Winterton, A. G. M. & Gleadle, A.E. 1997. Survey of ochratoxin A in UK retail coffees. **Food Additives and Contaminants**, **14:** 217-222.
- Pitt, J.I. & Hocking, A.D. 1997. **Fungi and Food Spoilage**. Blackie Academic & Professional: London, 593p.
- Studer-Rohr, I., Dietrich, D. R., Schlatter, J. & Schlatter, C. 1995. The occurrence of ochratoxin A in coffee. **Food. Chem. Toxic.** **33:**341-355.
- Taniwaki, M.H., Pitt, J.I., Teixeira, A.A. & Iamanaka, B.T. 2003. The source of ochratoxin A in Brazilian coffee and its formation in relation to processing methods, **Int. J. Food Microbiol.** **82:** 173-179.
- Van der Stegen, G; Jorissen,U.; Pittet, A.; Saccon, M.; Steiner, W.; Vincenzi, M.; Wlinkler, M.; Zapp, J. & Schaltter, C. 1997. Screening of European coffee final products for occurrence of ochratoxin A (OTA). **Food Addit. Contam.** **14:** 211-216.
- Vargas, E. A., Santos, E. A., Pittet, A. 1999. Collaborative study Submitted for consideration by AOAC International: D-2 Protocol-determination of ochratoxin A in green coffee by immunoaffinity column clean-up and HPLC. **Ministério da Agricultura e do Abastecimento, Laboratório de micotoxinas/LAV-MG**, Brasil. 28p.
- Urbano, G.R., Taniwaki, M.H., Leitão, M.F.F. & Vicentini, M.C. 2001. Occurrence of ochratoxin A producing fungi in raw Brazilian coffee. **J. Food Prot.** **64:** 1226-1230.