

DINÂMICA DO DESENVOLVIMENTO DE FUNGOS POTENCIALMENTE PRODUTORES DE OCRATOXINA A EM FRUTOS DE CAFÉ COM PERMANÊNCIA PROLONGADA NA PLANTA E NO SOLO EM PATROCÍNIO-MG

Roberto Alexandre COSTA^{1*}, Otniel FREITAS-SILVA¹(ofreitas@ctaa.embrapa.br), Antonio Xavier de FARIAS¹, Maria de Lourdes Mendes de SOUZA¹, Tânia Barretto Simões CORRÊA², Marcelo Elias FRAGA³,

¹Embrapa Agroindústria de Alimentos Av. das Américas, 29501 CEP 23020-470, Rio de Janeiro-RJ, ²Consultora Embrapa café, ³Universidade 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. *Bolsista Embrapa café

Resumo

Determinadas práticas culturais predisõem as cerejas e grãos de café ao ataque de microrganismos, ressaltando ainda, a presença de micotoxinas. A ocratoxina A (OTA) tem se destacado como importante risco à segurança alimentar por apresentar evidência de efeitos carcinogênico e neurotóxico, mesmo em baixas concentrações. Para avaliar o efeito do atraso da colheita dos frutos no campo, tanto dos frutos secos no pé quanto dos frutos do tipo varrição, foram montados dois experimentos na fazenda experimental da Epamig em Patrocínio-MG. A contaminação por *Aspergillus ochraceus* e *A. niger* nos frutos secos no pé mostrou-se decrescente ao longo do tempo, enquanto que *A. flavus* apresentou taxas crescentes. Já para os cafés do tipo varrição, a contaminação por *A. ochraceus* mostrou-se crescente ao longo do tempo enquanto que para os fungos *A. niger* e *A. flavus* taxa de contaminação mostrou-se decrescente.

Palavras chaves: Ocratoxina A, manejo, *Coffea arabica*

Key words: Ochratoxin A, field management, food safety, *Coffea arabica*

Introdução

As técnicas de cultivo do cafeeiro e os procedimentos de pós-colheita aliadas às condições climáticas, são práticas que favorecem o desenvolvimento de microrganismos responsáveis pelo processo fermentativo nos grãos (Bartholo et al., 1988; Carvalho & Chalfoun, 1985; Bitancourt, 1957) e a possibilidade de contaminação por micotoxinas. A ocratoxina A (OTA) (Viani, 1996), é um risco à segurança alimentar devido a fortes evidências do seu efeito carcinogênico e neurotóxico em baixas concentrações. As principais espécies produtoras de OTA são *Aspergillus ochraceus* e *Aspergillus carbonarius*, já relatados em cafés no Brasil, e *Penicillium verrucosum*, mais comum em regiões temperadas.

O desenvolvimento do fruto durante um período de tempo relativamente longo no qual o fruto é exposto a condições climáticas adversas, levanta a hipótese de que a contaminação pelos fungos e consequente produção de micotoxinas, ocorra ainda na fase de pré-colheita estando relacionada com o tempo de permanência dos frutos aderidos na planta ou em contato com o solo (Bartholo et al., 1988; Carvalho & Chalfoun, 1985; Bitancourt, 1957). Os cafés que permanecem aderidos à planta após o estágio de cereja são denominados cafés tipo “seco no pé” e, quando em contato com o solo, “cafés de varrição”. Há indícios que esses tipos de café podem constituir em importante fonte de contaminação por aflatoxinas e OTA.

O fruto do café pode permanecer na planta após a completa maturação passando pelos estágios de passa e seco. O período de permanência do fruto no campo pode se estender por até 300 dias em algumas regiões. Durante este período ocorre uma exposição a condições climáticas variáveis que podem ser próximas ao ideal para uma grande proliferação de microrganismos potencialmente toxigênicos. Isto pode comprometer a qualidade do produto, principalmente se condições ideais de temperatura e umidade forem propícias para a produção de OTA. Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi estudar o efeito da permanência prolongada dos cafés na planta e no solo sobre o nível de contaminação microbiológica e a produção de OTA. Os frutos de café foram caracterizados quanto às suas características microbiológicas, destacando os fungos de risco e produção de OTA, estabelecendo um período crítico limite de permanência do fruto no campo após o estágio de cereja

Materiais e Métodos

Para avaliação do café seco no pé, foi montado, durante a safra de 2004, um ensaio na área experimental da EPAMIG no município de Patrocínio / MG, com delineamento experimental de blocos casualizados com 4 repetições e 5 tratamentos, sob condições de cultivo representativos para a região. Quando as plantas apresentaram aproximadamente 75% de frutos no estágio de cereja, todos os frutos secos e verdes foram removidos em todas as plantas. Este procedimento garantiu a uniformidade do ponto de maturação de todos os frutos do experimento, sendo

considerado o ponto inicial do experimento (t=0). As parcelas foram colhidas de forma escalonada conforme a Tabela 1.

Tabela 1 – Cronograma das colheitas nos experimentos de avaliação de café seco no pé ⁽¹⁾ e de café de varrição ⁽²⁾

Tratamento	Época de coleta	Parcelas coletadas ⁽¹⁾	Parcelas coletadas ⁽²⁾
Tempo 0 (T=0)	após a colheita seletiva ⁽¹⁾ / após a deposição no solo ⁽²⁾	1ªcol:Blocos 1, 2, 3 e 4	Tempo 0* A, B e C
Tempo (T30)	30 Coletar 30 dias após T0	2ªcol:Blocos 1, 2, 3 e 4	Tempo 30 A, B e C
Tempo (T60)	60 Coletar 30 dias após T30	3ªcol:Blocos 1, 2, 3 e 4	Tempo 60 A, B e C
Tempo (T90)	90 Coletar 30 dias após T60	4ªcol:Blocos 1, 2, 3 e 4	Tempo 90 A, B e C
Tempo (T120)	120 Coletar 30 dias após T90	5ªcol:Blocos 1, 2, 3 e 4	—

* Parcela depositada no chão e imediatamente processada, representando o tempo de contato mínimo com o solo.

Após a coleta dos frutos de cada bloco separadamente foram realizadas análises para determinação da porcentagem de frutos bóia, verde e cereja. Para tanto, 2 litros de café foram colocados em um recipiente com água suficiente para formar uma lâmina de aproximadamente 30 cm, sob leve agitação. Dessa forma, os frutos os cafés do tipo bóia foram separados dos do tipo cereja, possibilitando assim se determinar o percentual de cada tipo de café em cada parcela do experimento avaliadas.

Nas parcelas do tipo bóia foi determinada o teor de umidade conforme o método oficial brasileiro de análise de sementes.

Para análise das comunidades de fungos dos frutos do tipo bóia estes foram descascados e 400 grãos por parcela plaqueados em meio DG18 para análise de fungos. Os frutos do tipo cereja foram processados para verificar as comunidades presentes na parte externa, do mesocarpo e interna dos grãos. A avaliação da camada externa foi feita lavando-se a superfície de 50 frutos do tipo cereja e posteriormente agitados em 100mL de diluente estéril em um Erlenmeyer, seguido de diluições seriadas e plaqueadas em DG18.

Para a avaliação do mesocarpo as cerejas do procedimento anterior foram esterilizadas por imersão em solução de NaHClO 2% por 10 minutos com agitação constante e então enxaguadas em água estéril. Feita a esterilização, os grãos foram separados do mesocarpo e macerados em 50 mL de diluente estéril por 3min até o mesocarpo pectináceo ser rompido completamente, seguida de diluições seriadas e plaqueadas em DG18.

Para a avaliação da comunidade interna, os grãos provenientes da avaliação da comunidade do mesocarpo foram tratados de acordo com o procedimento anterior, em solução alcalina por 10 minutos, enxaguados e plaqueados em DG18. As 40 amostras obtidas foram submetidas às análises para determinação da atividade de água e teor de ocratoxina A.

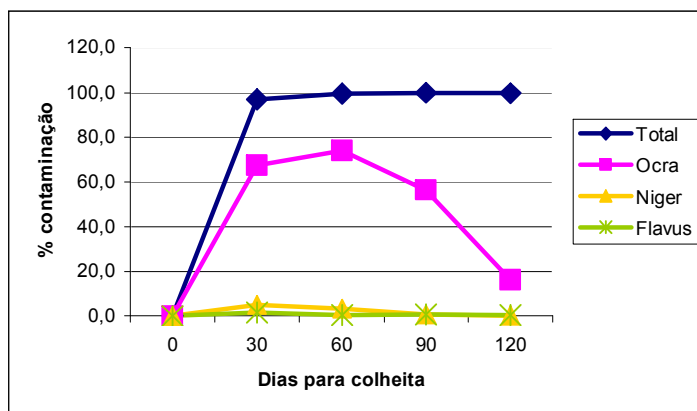
Para execução do experimento de avaliação de café do tipo varrição foi selecionada outra área na mesma estação experimental da EPAMIG, com as mesmas condições de cultivo do experimento anterior. Foram coletados 240L de café do tipo bóia e depositados sob a projeção da copa do cafeeiro de modo que todos os frutos entrassem em contato com o solo, dividindo-se a área utilizada em 12 parcelas. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados com 3 repetições e 3 tratamentos, sendo que cada parcela do experimento foi coletada conforme o cronograma apresentado na Tabela 1. As análises realizadas foram as mesmas realizadas para o café do tipo bóia.

Resultados e Discussão

De acordo com as análises realizadas para o experimento de café seco no pé foi observado que os grãos do tipo cereja apresentaram contaminação baixa não sendo detectado em todas as camadas do frutos (superfície, mesocarpo e grão) a presença de *Aspergillus ochraceus*. Para a superfície dos frutos, a taxa de contaminação variou de 560 para 415 ufc/fruto entre a primeira e segunda coleta. No mesocarpo a taxa de contaminação variou significativamente da primeira para segunda coleta, indo de 85 para 820 UFC/fruto. O mesmo foi observado para a contaminação interna dos grãos que na primeira coleta apresentou valores próximos de zero chegando a 10% de contaminação na segunda coleta mostrando que no caso das cerejas a contaminação avança das camadas mais externas do fruto em direção ao grão ao longo do tempo.

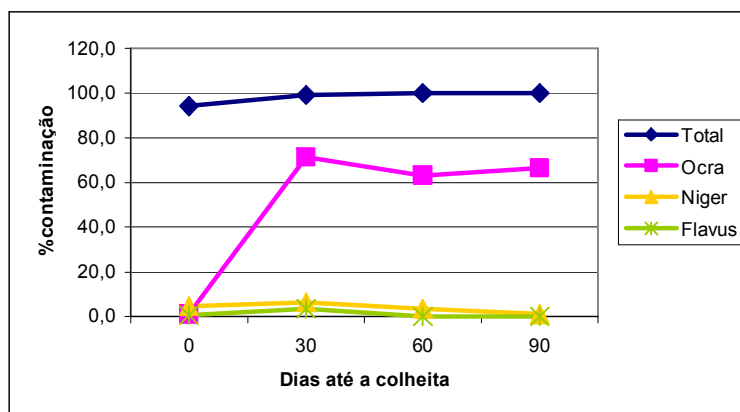
Na análise dos frutos já secos no pé (Figura 1) todos os grãos secos apresentavam alguma contaminação a partir da segunda colheita, sendo a contaminação por *A. ochraceus* e *A. niger* mostrou-se decrescente ao longo do tempo, e *A. flavus* que apresentou taxas crescentes. As taxas de contaminação destes fungos variaram de 67,5 - 16%, 5 - 0,3% e 1,5 - 0,5%, respectivamente.

Figura 1 – Efeito do atraso da colheita de frutos de café secos no pé na evolução da contaminação fúngica nos grãos.



Para o experimento de avaliação de café do tipo varrição (Figura 2) foi constatada que todos os grãos de café apresentavam alguma contaminação total. A contaminação por *A. ochraceus* mostrou-se pequena na primeira colheita (1,2%), na segunda colheita apresentou um pico de 75% de contaminação com uma pequena tendência de queda ao longo das demais colheitas. Para os fungos *A. niger* e *A. flavus* a taxa de contaminação mostrou-se decrescente e variou de 6,4 – 1,2% e 3,5 – 0%, respectivamente.

Figura 2 – Efeito do atraso da colheita de frutos de café caídos no chão (varrição) na evolução da contaminação fúngica nos grãos.



Conclusões

- A contaminação por *Aspergillus ochraceus* e *A. niger* nos frutos secos no pé foi decrescente ao longo do tempo, enquanto que *A. flavus* apresentou taxas crescentes.
- Nos cafés do tipo varrição, a contaminação por *A. ochraceus* foi crescente ao longo do tempo enquanto que a contaminação por fungos das espécies *A. niger* e *A. flavus* decresceu.
- No experimento de avaliação do café do tipo varrição, o atraso na colheita foi determinante para contaminação por espécies de *A. ochraceus*.

Agradecimentos: CBP&D café pelo suporte a realização deste trabalho

Referências Bibliográficas

BARTHOLO, G.F. et al. Cuidados na colheita, no preparo e no armazenamen to do café. Inf. Agropec. Belo Horizonte, 14 (162): 33-44, 1988.

BITANCOURT, A. A. As fermentações e podridões da cereja de café. Bol. Sup. dos Serviços do Café 32 (359): 7-14, 1957.

CARVALHO, V.D.; CHALFOUN, S.M. Aspectos qualitativos do café. **Informe Agropecuário**, v.11, p.79-92, 1985

VIANI, R. Fate of ochratoxin A (OTA) during processing of coffee. *Food Additives and Contaminants*, 13, 29-33, 1996.