

COMPARAÇÃO DA INCIDÊNCIA DE FUNGOS OCRATOXIGÊNICOS E OCRATOXINA A EM CAFÉ COM BROCA E SEM BROCA

J. Bueno¹; M. H. Taniwaki¹, ¹Instituto de Tecnologia de Alimentos – ITAL, Campinas, SP.

A infestação da broca-do-café, *Hypotenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae), é uma das principais pragas pré-colheita, que atacam o fruto cafeeiro em todas as fases de maturação.

A colheita mal feita, os cafezais abandonados, a falta de monitoramento da população da broca-do-café na entressafra e durante a colheita, são fatores que podem elevar o ataque da broca-do-café. O principal inseticida usado no controle do inseto, Endosulfan, foi banido pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) em 2013, pois seu uso foi considerado tóxico para humanos e animais. Apenas em 2016, alguns inseticidas foram introduzidos no mercado, porém sem eficácia comprovada, dificultando o controle do inseto pelos cafeicultores.

A perfuração causada pela broca, além de gerar a queda e perda de peso dos frutos e diminuir a qualidade na classificação por tipo, ainda pode facilitar a entrada de fungos ocratoxigênicos no interior dos grãos. Estudos relatam a associação de defeitos, como grãos brocados, e níveis altos de ocratoxina A (OTA) nos mesmos. Esta toxina é nefrotóxica e a *International Agency Research on Cancer* (IARC) a classifica no grupo 2B, ou seja, possivelmente carcinogênica em humanos.

O presente trabalho teve os seguintes objetivos: 1- Identificar a microbiota dos grãos sadios (sem presença de defeitos) e grãos brocados à nível de gênero/espécie; 2- Identificar os fungos ocratoxigênicos nos grãos sadios e brocados; 4- Determinar a presença de ocratoxina A (OTA) nos grãos sadios e brocados.

Até o momento, um total de 79 amostras de café cru foram coletadas das seguintes regiões: Sul de Minas (n=27), Cerrado Mineiro (n=21), São Paulo (n=16), Espírito Santo (n=12) e Bahia (n=3). Estas amostras foram coletadas do armazenamento, durante as safras de 2016/17 e 2017/18.

Após a separação dos grãos sadios dos brocados, uma amostra de aproximadamente 100 grãos foi desinfetada superficialmente, em solução de hipoclorito de sódio 0,4% por 2 minutos. Após a desinfecção, 30 grãos de cada amostra foram plaqueados separadamente em placas de petri contendo Dicloran 18% Glicerol. Seguiu-se a incubação a 25°C/ 7 dias. A identificação fúngica foi feita através da morfologia dos mesmos. Os isolados *Aspergillus section Circumdati* e *A. section Nigri* foram testados quanto à produção de OTA pelo método de ágar *plug*, em cromatografia de camada delgada, com padrão de OTA.

A OTA foi extraída do café com solução metanol: bicarbonato de sódio 3% (50:50), passando por uma purificação em coluna de imunoafinidade. A detecção e quantificação da OTA foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) de fase reversa com detector de fluorescência. O limite de detecção e quantificação do método foi de 0,2 µg/kg e 0,6 µg/kg, respectivamente.

A média da atividade de água variou de acordo com as regiões analisadas: Sul de Minas (0,546), Cerrado Mineiro (0,510), São Paulo (0,496), Espírito Santo (0,611) e Bahia (0,737). A baixa atividade de água das amostras demonstrou o predomínio de fungos como *A. section Circumdati*, *A. section Nigri* e *Eurotium sp.* Quanto aos fungos potencialmente produtores de ocratoxina A, nas regiões de clima mais quentes, como Espírito Santo e Bahia na qual foi coletado o *Coffea canephora*, houve maior incidência de *A. section Nigri*. Já nas demais regiões que cultivam o *Coffea arabica*, houve maior incidência de *A. section Circumdati*.

Foram isoladas 1597 cepas do gênero *Aspergillus* com potencial de produção de OTA, sendo 1170 de *A. section Circumdati* e 427 *A. section Nigri*. Para os grãos sadios, foram testadas 563 cepas, destas, 47% de *A. section Circumdati* e 1,4% de *A. section Nigri* foram produtores de OTA. Quanto aos grãos brocados, foram testadas 937 cepas, sendo que 52% de *A. section Circumdati* e 0,6% de *A. section Nigri* foram ocratoxigênicos.

A análise da microbiota dos grãos sadios e brocados demonstrou que na maioria das amostras, os grãos brocados apresentaram uma maior infecção fúngica comparada aos grãos sadios. Contudo, nas amostras coletadas do Espírito Santo e Bahia, os grãos sadios foram mais infectados com fungos do que os brocados, possivelmente, pelo tipo de processamento pós-colheita empregado ao café conilon destas regiões, o qual difere das demais. O processamento por via-seca é o mais utilizado no café conilon, e consiste na secagem de todos os frutos imediatamente após a colheita, geralmente, em secadores rotativos ou verticais com altas temperaturas. Após esta secagem, o café é encaminhado para o beneficiamento, armazenamento e expedição.

Quanto à presença de OTA no café, das 27 amostras analisadas até o momento, nas frações dos grãos sadios, a concentração de OTA variou de não detectado (ND) a 20,36 µg/kg. Para os grãos brocados, a variação foi de ND a 63,37 µg/kg. No Brasil, a RDC nº 7 de 2011, estabelece os limites máximos tolerados para OTA em torrado (moído ou em grão) e café solúvel de 10 µg/Kg. Para café cru, não existem limites. Porém, altos níveis de ocratoxina A na matéria-prima, pode não degradar toda a toxina durante o processo de torra para se obter níveis seguros tolerados por esta legislação. Além disso o café cru é exportado para vários países que restringem o café com altos níveis de ocratoxina A.

Até o momento as seguintes conclusões puderam ser tiradas: 1) a presença de broca no café não significa que o café contém OTA; 2) a presença de grãos brocados pode favorecer a infecção por fungos ocratoxigênicos e produção de OTA no café, se os processos de secagem e armazenagem não forem adequados; 3) a OTA pode ser produzida mesmo em cafés sem broca se houver condições dos fungos ocratoxigênicos se desenvolver e produzir a toxina. Desta forma, as Boas Práticas Agrícolas que incluem o controle da broca e prevenção da formação de toxinas, pode melhorar a qualidade e sanidade do café e reduzir as perdas econômicas.