

MICRO-ORGANISMOS EM CAFÉ (*Coffea arabica*) COM CASCA E BENEFICIADOS CULTIVADOS EM DIFERENTES ALTITUDES

Larissa Compri¹; Ana Letícia Caproni Bonilha²; Ligiane Aparecida florentino³; José Messias Miranda⁴

¹Aluna do Curso de Agronomia, UNIFENAS Câmpus de Alfenas-MG, Bolsista de Iniciação Científica- CNPq/PIBIC. larissacompri@hotmail.com

²Aluna do Curso de Agronomia, UNIFENAS Câmpus de Alfenas-MG. ana93.le@gmail.com

³Prfa. Dra., Faculdade de Agronomia, UNIFENAS, Câmpus de Alfenas-MG. ligiane.florentino@unifenas.br

⁴Prof. Dr., Faculdade de Agronomia, UNIFENAS, Câmpus de Alfenas – MG. Orientador jose.miranda@unifenas.br

RESUMO: O objetivo desse trabalho foi verificar a diversidade de micro-organismos presente em amostras de café (*Coffea arabica* L.) bica corrida beneficiados e sem beneficiamento, de duas localidades e relacionar o ambiente em seu desenvolvimento. Foram utilizadas amostras de café de duas propriedades, sendo a primeira localizada no município de Cabo Verde a uma altitude de aproximadamente 900 metros e a segunda, localizada as margens da Represa de Furnas no município de Alfenas, a uma altitude de aproximadamente 800 metros. As amostras foram coletadas no campo, secas nas respectivas propriedades e divididas em duas partes: uma permanecendo com casaca e a outra submetida ao beneficiamento e em seguida encaminhadas ao laboratório. Das amostras de cada propriedade foram retirados aleatoriamente 200 frutos (com casca) e 200 sementes (beneficiados) para distribuição de 25 sementes e 25 frutos em placas de Petri em condições assépticas. A desinfestação foi realizada com 100 frutos (com casca) e 100 sementes (beneficiados) e o restante dos frutos e sementes não foram submetidos à desinfestação, em seguida foi feito o plaqueamento e os frutos e sementes foram incubados em câmara com fotoperíodo. Para o isolamento dos fungos foi utilizada a técnica de plaqueamento direto em meios seletivos. Os isolados foram identificados morfológicamente e quanto sua estrutura em microscópio ótico. Para a avaliação da diversidade de colônias fúngicas de frutos e sementes de café nas diferentes altitudes foi usado o Índice de diversidade de Shannon-Weaver. Nas condições do experimento foi observada maior diversidade de micro-organismos nas amostras coletadas na altitude de 800 m em café em coco. O beneficiamento do fruto contribui para a diminuição da incidência de micro-organismos. A ocorrência total de micro-organismos nas duas amostras de café em coco foram maiores do que nas amostras de café beneficiados.

PALAVRAS CHAVE: Diversidade, fungos, clima

MICROORGANISMS IN COFFEE (*Coffea arabica*) WITH BARK AND BENEFITEDED CULTIVATED IN DIFFERENTS HEIGHTS

ABSTRACT: The objective of this study was to assess the diversity of micro-organisms present in samples of coffee (*Coffea arabica* L.) spout benefited race and unprocessed, two locations and relate the environment in its development. Two properties Coffee samples were used, the first being located in Cabe Verde municipality at an altitude of approximately 900 meters and the second, on the shores of Furnas Dam in Alfenas, at an altitude of approximately 800 meters. The samples were collected in the field, dry in its properties and divided into two parts: one staying with coat and the other submitted to processing and then sent to the laboratory. Property of each of the samples were randomly taken 200 fruits (with bark) and 200 seeds (benefited) 25 for distributing seeds and fruits in 25 Petri dishes under aseptic conditions. The pest was conducted with 100 fruit (with bark) and 100 seeds (benefited) and the rest of the fruits and seeds did not undergo disinfection, then was made plating and the fruits and seeds were incubated in a chamber with photoperiod. For the isolation of fungi was used to direct plating technique in selective media. The isolates were identified morphologically and its structure as an optical microscope. To assess the diversity of fungal colonies and fruit coffee beans at different altitudes was used Shannon-Weaver diversity index. The experimental conditions was a greater diversity of microorganisms in samples collected at an altitude of 800 m in coffee beans. The processing of the fruit contributes to reducing the incidence of micro-organisms. The total incidence of micro-organisms in the two samples of coffee beans were higher than in samples processed coffee.

KEYWORDS: Diversity, fungi, climate

INTRODUÇÃO

O café é um produto agrícola, cujo preço baseia-se em parâmetros qualitativos e varia significativamente em função da qualidade apresentada. Diante da exigência por parte dos clientes, tanto nacionais quanto do exterior, que procuram um alimento seguro, o cafeicultor brasileiro tem buscado obter maior lucratividade produzindo cafés com qualidade superior. Frutos e grãos de café estão sujeitos à contaminação em diferentes fases de desenvolvimento, inclusive na pós-colheita e alguns micro-organismos como bactérias, leveduras e, principalmente os fungos filamentosos são

responsáveis pela redução da qualidade da bebida, por alterarem o sabor e o aroma do café (PASIN et al., 2002 e KRUG, 1940). As espécies de fungos encontradas em cafés brasileiros pertencem principalmente aos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium* e *Fusarium* (MARTINS et al., 2003; PASIN et al., 2009) e algumas espécies de *Aspergillus* e *Penicillium* estão associadas à produção de micotoxinas (CHALFOUN & BATISTA, 2003), como a ocratoxina A (OTA), sintetizada pela espécie *A. ochraceus* (CAMPOS et al., 2009; CHALFOUN & BATISTA, 2003). A espécie *C. arabica* é potencialmente produtora de cafés com qualidade excepcional, entretanto, assim como outros produtos de origem agrícola está sujeito à contaminação microbiana durante todas as etapas de produção (BOKHARI, 2007). Atualmente práticas que antes eram corriqueiras passaram a ser pesquisadas descobrindo um complexo sistema de ação microbiana que interfere diretamente na qualidade do produto final, sendo influenciado diretamente pelo ambiente. Os municípios de Alfenas e Cabo Verde em Minas Gerais fazem parte da mesma Mesorregião do Sul e Sudoeste de Minas e estudos demonstram que há, nessa região, grande correlação entre temperatura e altitude (ROLDÃO et al., 2012), ou seja, locais mais elevados possuem temperaturas inferiores quando comparados a locais mais baixos que possuem temperaturas mais elevadas, como observado para o município de Cabo Verde. Condição oposta pode ser observada para o município de Alfenas, localizado às margens do Lago de Furnas. Estudos feitos demonstram que em outras localidades as construções de lagos artificiais alteraram temperaturas máximas e mínimas além de pluviosidade na região (GRIMM, 1988 e CAMPOS, 1990). Considerando que nestes dois municípios a cafeicultura constitui a principal atividade econômica, o objetivo desse trabalho foi identificar a diversidade micro-organismos presente em amostras de café bica corrida beneficiados e sem beneficiamento, pertencentes a duas localidades distintas com altitude de 800 e 900 metros e relacionar a influência do clima no desenvolvimento dos mesmos.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido com amostras de café bebida dura bica corrida de duas propriedades: a primeira no município de Cabo Verde - MG. A lavoura situada em uma altitude de 880 a 900 metros constituída da cultivar Catuaí Vermelho plantados em espaçamento de 3,0 x 2,0 m com duas plantas por cova. A segunda propriedade, localizada às margens do Lago de Furnas no município de Alfenas - MG, com a lavoura situada em uma altitude entre 783 a 813 metros, constituída da cultivar Catuaí Vermelho plantados em espaçamento de 2,80 x 0,80 m com uma planta por cova. As amostras das duas localidades foram coletadas no campo na primeira quinzena do mês de julho de 2013 por meio de derriça no pano. Os frutos permaneceram em terreiro concretado nas respectivas propriedades, até atingirem o teor de umidade de aproximadamente 12%. Durante a secagem dos frutos no terreiro, o índice pluviométrico da região de Alfenas foi de 26,4mm e a temperatura média do ar foi de 17,5°C, e na região de Cabo Verde, o índice pluviométrico foi de 19,5mm e temperatura média do ar de 15°C, de acordo com estações meteorológicas de Alfenas- UNIFENAS e do Instituto Federal de Muzambinho, respectivamente. Posteriormente, as amostras foram separadas em duas partes: uma parte foi beneficiada e outra permaneceu com casca. Da amostra beneficiada foram retirados 300 g de sementes, para a degustação e classificação, de acordo com o Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2003) e o restante das amostras foram acondicionadas em sacos de papel duplo e armazenadas no laboratório de Microbiologia da Universidade José do Rosário Vellano – UNIFENAS. De cada saco foram retirados aleatoriamente 200 frutos e sementes (com casca e beneficiados, respectivamente) para posterior distribuição de 25 sementes em placas de Petri em condições assépticas, conforme a técnica *Blotter Test* (TEMPE, 1963). A assepsia foi feita com 100 frutos e sementes (com casca e beneficiados respectivamente) usando hipoclorito de sódio a 5%, durante 5 minutos, seguido de três lavagens com água destilada e esterilizada. O restante dos frutos e sementes não foram submetidos à desinfestação com hipoclorito de sódio (ABREU, et al., 2011). Após plaqueamento, os grãos foram incubados a 25 °C ± 2 °C em câmara com fotoperíodo de 12 horas durante oito dias. Para o isolamento dos fungos foi utilizada a técnica de plaqueamento direto em meio Dicloran Rosa de Bengala Cloranfenicol (DRBC) por sete dias a 25°C. Após o período de incubação, os isolados foram purificados em meio Malte Agar (MA) a 25° C por sete dias. Em seguida as culturas puras foram transferidas para placas de Petri contendo Czapeck Yeast Agar (CYA) as temperaturas 25°C e 37°C e MEA (Agar Extract Malt) a 25°C por um período de sete dias. (COUTO et. al., 2009). Os isolados foram identificados morfológicamente e quanto sua estrutura em microscópio ótico (SAMSON et al., 2004). Para a avaliação da diversidade de colônias fúngicas de frutos e sementes de café nas diferentes altitudes foi usado o Índice de diversidade de Shannon-Weaver. (H'), que considera a riqueza e o número de indivíduos de cada espécie, comumente usado em estudo de ecologia de comunidades (MAGURRAN, 1988).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas condições do presente experimento foi observada maior diversidade de micro-organismos nas amostras coletadas no município de Alfenas, na altitude de 800 m em café com casca como apresentado na Tabela 1. Esses resultados podem estar relacionados às condições climáticas de cada região, nesse sentido observa-se que com a diminuição da altitude, as condições climáticas são mais favoráveis a proliferação de micro-organismos (ALTOÉ et al., 2004), indicando a necessidade de técnicas de manejo na pós-colheita, como revolvimento dos frutos durante a secagem, dimensionamento correto de terreiros para o volume de café colhido diariamente. O beneficiamento do fruto contribui

para a diminuição da incidência de micro-organismos, havendo maior infestação na parte externa do fruto sugerindo que a presença de nutrientes e diferentes fontes de carbono presentes na casca e na mucilagem servem como substrato para o desenvolvimento dos micro-organismos. Como evidenciado nesse trabalho a ocorrência total de micro-organismos nas duas amostras de café com casca foram maiores do que nas amostras de café beneficiados, concordando com PIMENTA e CHAUFON (2001). Alguns dos gêneros encontrados nesse trabalho também foram observados, em outros estudos, que sua incidência está relacionada à secagem no terreiro e podem contribuir e acelerar o processo de fermentação (CHALFON E CARVALHO, 1997). Concordando com ABREU et al., 2011, o uso do hipoclorito não foi eficiente para o gênero *Fusarium*. É possível observar grande diversidade de micro-organismos em sementes e frutos de café sendo maior na amostra coletada na altitude de 800m. Nesse trabalho o beneficiamento e dos frutos de café reduziu a incidência de micro-organismos.

Tabela 1: Diversidade de micro-organismos em amostras de café bica corrida bebida dura tipo 7, dos municípios de Alfenas e Cabo Verde.

Identificação das amostras /Desinfestação	Alfenas com casca		Alfenas beneficiado		Cabo Verde com casca		Cabo Verde beneficiado	
	Sem	Com	Sem	Com	Sem	Com	Sem	Com
<i>Aspergillus</i>	8,75%	8,75%	5%	1,25%	2,50%	0%	2,50%	0%
<i>Penicilium</i>	0%	0%	0%	0%	1,25%	0%	0%	0%
<i>Fusarium</i>	0%	1,25%	3,75%	0%	3,75%	0%	0%	1,25%
<i>Rhizopus</i>	0%	0%	0%	0%	1,25%	1,25%	0%	0%
<i>Absidia</i>	1,25%	1,25%	1,25%	0%	0%	0%	0%	0%
<i>Mucor</i>	2,50%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
<i>Nigorspora</i>	1,25%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
Hifas septadas ¹	7,50%	3,75%	3,75%	0%	2,50%	0%	1,25%	0%
Hifas não septadas ²	2,50%	1,25%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
Bactérias e Leveduras ³	6,25%	1,25%	5%	0%	8,75%	0%	3,75%	2,50%
Total	30,00%	17,50%	18,75%	1,25%	20,00%	1,25%	7,50%	3,75%
Índice Shannon	1,71	1,43	1,53	0,00	1,54	0,00	1,01	0,63

CONCLUSÕES

- 1- Há diferença na ocorrência de micro-organismos quando comparamos duas altitudes distintas (800 e 900 metros).
- 2- Produtores que possuem suas lavouras em altitudes próximas a 800 metros no município de Alfenas devem ter maiores cuidados em relação ao manejo de pós-colheita, pois a diversidade e a população de micro-organismos nas condições do trabalho foram mais elevadas quando comparado ao município de Cabo Verde na altitude de 900 metros.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABREU L. A., ROSA, S.D.V.F., CHAUFON S.M., SILVA, V.N., VILELA F.L. e FERREIRA, I.A. **Qualidade sanitária de sementes de café produzidas sob manejo orgânico**. VII Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil. 2011.
- ALTOÉ, Marcus; MOREIRA, Sarah Ola; OLIVEIRA, Regina Gonçalves dos Santos; RODRIGUES, Celson; MARTINS FILHO, Sebastiao. **Incidência de fungos em grãos de café conilon produzidos em diferentes locais e altitudes no estado do Espírito Santo**. In: 8 Encontro Latino Americano de Iniciação Científica e 4 Encontro Latino Americano de Pós-Graduação, 2004, São José dos Campos. UNIVAP, 2004. v. 1. p. 576-578.
- BOKHARI, F.M. Mycotoxins and toxigenic fungi arabic coffe beans in Saudi Arabic. **Advances in Biological Research**, Varanasi, v. 1, n. ½, p. 56-66, Jan./Apr.2007.
- CAMPOS, F. S. **Estudo da variabilidade de precipitação**. 1990. 36p. Monografia (Trabalho Final de Graduação) - Instituto Tecnológico da Aeronáutica, São José dos Campos, 1990.
- CAMPOS, R. da S et al. **Fungos micotoxigênicos e ocratoxina A em cafés com permanência prolongada na planta e no solo, colhidos nas regiões do cerrado mineiro e baiano**. *Coffee Science*, v.4, n.2, p.136-148. 2009
- CHALFON, S. M.; CARVALHO, V. L. **Efeito de microrganismos na qualidade da bebida do café**. Informe Agropecuário, Belo Horizonte, v.18, n.1, p.21-26, 1997.
- CHALFON, S.M. & BATISTA, L.R. **Fungos associados a frutos e grãos de café *Aspergillus* & *Penicillium***. Brasília, DF: Embrapa, p. 69. 2003.
- COUTO, F. A.; RESENDE, E. F. BORGES, J. G.; SILVA, D. M.; PASSAMANI, F. R. F.; Batista, L.R. **Biodiversidade de fungos filamentosos isolados em grãos de café (*Coffea arabica*)**. In: VI Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil, 2009, Vitória. VI Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil, 2009.

- GRIMM, Alice Marlene. Verificação de variações climáticas na área do lado de Itaipú. In: Congresso Brasileiro de Meteorologia, 5. 1988. Anais... Rio de Janeiro, 1988.
- MAGURRAN, A. E. **Ecological diversity and its measurements**. Sydney: Croom Helm, 1988. 179p.
- MAPA; IN n° 8, de 11 de junho de 2003. Disponível em:<http://www.abic.com.br/publico-media/CONS_leg_instnormativa08-03.pdf> Acesso em 14 de set. de 2014.
- MARTINS, M.L. et al. **Incidence of microflora and of ochratoxin A in green coffee beans (*Coffea arabica*)**. Food Additives and Contaminants. v.20, n.12, p.1127–1131, 2003.
- PASIN, L.A.A.P. et al. **Fungos associados a grãos de cinco cultivares de café (*Coffea arabica* L.)**. Acta Botanica Brasilica, v.23, n.4, p.1129-1132. 2009.
- PIMENTA, C. J.; CHALFOUN, S. M. **Composição microbiana associada ao café em coco e beneficiado colhido em diferentes estádios de maturação**. Ciência agrotecnologia, Lavras, v.25, n.3, p.677-682, 2001.
- ROLDÃO, Aline de Freitas; SANTOS, Juliana Gonçalves; OLIVEIRA, Luiz Antônio. **Correlação Entre As Variáveis Climáticas (Altitude, Temperatura e Precipitação) na Mesorregião Sul e Sudoeste de Minas Gerais – MG**. Revista Geonorte, Edição Especial 2, V.1, N.5, p.515 – 525, 2012.
- SAMSON R.A., JOS A.M.P., KUIJPERS A.F.A., FRANK J.M e FRISVAD J.C. **New ochratoxin A or sclerotium producing species in *Aspergillus* section *Nigri***. Studies in Mycologi. v. 50, p45 – 61, 2004.
- TEMPE, J. de. The blotter method for seed health testing. *Proceeding International of the testing Association, Copenhagen*. v.28, n.1, p133-151, 1963.