

## COMPOSIÇÃO MICROBIANA E OCHRATOXINA A NO CAFÉ (*Coffea arabica* L.) MANTIDO ENSACADO POR DIFERENTES TEMPOS À ESPERA DA SECAGEM

PIMENTA, C.J.<sup>1</sup>; VILELA, E.R.<sup>2</sup> e CARVALHO Jr., C.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> UNIFENAS, Rod. MG, km 0, CP. 23, CEP. 37130000, <www.campimenta@uol.com.br>; <sup>2</sup> UFLA.

**RESUMO** - Cafés (*Coffea arabica* L) da cultivar Catuaí vermelho foram colhidos em 1/7/1998 na região de Carmo do Rio Claro, no Estado de Minas Gerais, onde se utilizaram frutos de um mesmo talhão, contendo, em média, 53,89% de cereja, 23,14% seco/passa e 22,96% de frutos verdes. Após colhidos, os frutos foram separados em lotes com 180 litros de frutos para cada tempo de espera e divididos em três repetições com 60 litros de frutos cada uma; esses frutos foram ensacados em sacos de polietileno trançado e dispostos no terreiro por diferentes tempos, variando em 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 e 7 dias, após o que se procedeu à secagem no próprio terreiro até os grãos atingirem de 11 a 13% de umidade. Em seguida, retirou-se quantidade suficiente de amostra para análises químicas e microbiológicas. A composição microbiana, com a elevação no tempo de espera para secagem, caracterizou-se por aumento na infecção por *Fusarium* sp., *Aspergillus niger* e *Aspergillus ochraceus* nos frutos antes da secagem, diminuição da infecção por *Cladosporium* sp. nos frutos e grãos, e por *Penicillium* sp. e *Fusarium* sp. nos grãos, com *Penicillium* sp. *Aspergillus niger* e *Aspergillus ochraceus* não mostrando variação definida nos grãos, porém com valores elevados em ambos. Considerando-se os níveis de ocratoxina A, não foi detectada presença em nenhum dos tempos de espera para secagem analisados.

**Palavras-chave:** café, qualidade, avaliação sensorial, composição química, fermentações.

### MICROBIAL COMPOSITION AND OCHRATOXIN A IN COFFEE FRUITS (*Coffea arabica* L.) MAINTAINED IN BAGS FOR DIFFERENT TIMES BEFORE DRYING

**ABSTRACT:** Coffees (*Coffea arabica* L) of the Catuaí Vermelho cultivar were harvested on 1/7/1998, in the region of Carmo do Rio Claro in the state of Minas Gerais, where fruits from a same planting field, containing, on the average, 53.89% coffee cherries, 23.14% dry raisin and 22.96% green beans were utilized. After harvest, the fruits were separated in lots with 180 liters of fruits for each waiting time and divided into three replicates with 60 liters each. These fruits were bagged in braided polyethylene bags and put on a flat open terrace for different periods of time, varying in 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 and 7 days,

afterwards the coffee was dried on the same terrace until the beans reached a moisture content of 11% to 13%. Then, an enough quantity of samples was taken for chemical and microbiological analyses. The microbial composition with the rise in the waiting time for drying was characterized by an increase in the infection by *Fusarium sp*, *Aspergillus niger* and *Aspergillus ochraceus* in the fruits before drying, decrease in the infection by *Cladosporium sp* in the fruits and beans, *Penicillium sp* and *Fusarium sp* in the beans; with *Penicillium sp*, *Aspergillus niger* and *Aspergillus ochraceus* not showing definite variation in the beans, but with increased values in both. By considering the levels of ochratoxin A, its presence was not detected in any analyzed waiting times for drying.

**Key words:** coffee, quality, sensory evaluation, fermentations, chemical composition.

## INTRODUÇÃO

A cafeicultura é uma das principais atividades agrícolas do Brasil, e para a sua sobrevivência, acredita-se que o País precisa seguir o caminho da qualidade. A bebida do café é fator importante na comercialização do produto e a sua caracterização é feita por degustadores (prova de xícara). O café brasileiro é classificado em tipo e bebida. O tipo se refere aos defeitos existentes no café, como grãos deteriorados, pretos, ardidos, verdes, quebrados, conchas, chochos, cocos marinheiros, cascas, torrões, pedras, etc. A classificação por bebida se faz classificando-o em estritamente mole, mole, apenas mole, dura, riada e rio, em ordem decrescente de valor.

A qualidade do café é determinada por fermentações favoráveis ou desfavoráveis e as reações enzimáticas podem ser responsáveis pela obtenção de boa ou má qualidade da bebida. O desenvolvimento de microrganismos, fungos e bactérias nos grãos de café afeta a qualidade da bebida, e, associada a essas fermentações, existe uma série de microrganismos que podem contribuir de forma positiva ou negativa, quando se referir à qualidade do produto (Krug, 1940).

A incidência de microrganismos nas fases de pré e pós-colheita tem sido um dos fatores envolvidos na qualidade do café, principalmente na modalidade de colheita e preparo mais adotados no Brasil, que são colheita através de derraça, obtendo-se uma mistura de frutos com diferentes estádios de amadurecimento, e preparo “via seca”, ao contrário de outros países, como Colômbia, em que o processo de colheita é seletivo (colheita a dedo) e os frutos são despolidos. Trabalhos realizados por Carvalho et al. (1989) e Meirelles (1990) demonstraram elevada taxa de infecção por fungos nos cafés de pior qualidade (rio e riado). Constatou-se também que nesses cafés a umidade dos grãos beneficiados achava-

se em teores superiores a 10%, valor esse, segundo Moreau (1979), favorável ao desenvolvimento de *Aspergillus flavus e niger*, que são produtores de aflatoxinas. O perigo de contaminação se agrava, uma vez que essa umidade do grão já pode favorecer o desenvolvimento desses fungos durante a fase de armazenamento.

Conhecer os fungos e entender como, onde e por que eles crescem é necessário para aqueles que lidam com grãos e sementes armazenados, pois um dos principais requisitos para um bom armazenamento é a prevenção de crescimento dos fungos. Os fungos de campo, que invadem as sementes antes da colheita, diferem, quanto à predominância, de acordo com a cultura, região ou localização geográfica e clima. Esses fungos podem afetar a aparência e a qualidade das sementes e grãos para quase todos os propósitos para os quais sementes e grãos são utilizados. Os fungos de armazenamento compreendem cerca de uma dúzia de *Aspergillus* e várias espécies de *Penicillium* (Christensen e Kaufmann, 1969).

Carvalho et al. (1997) relatam que no preparo de café natural (sem despulpamento), ou via seca, o fruto é seco integral. Durante a secagem, a mucilagem é digerida e liquidificada, constituindo material alimentar para semente, propiciando continuação do seu metabolismo e respiração. Essas mudanças químicas modificam o sabor do café, o qual poderá ser prejudicado ou melhorado de acordo com a presença ou ausência de microrganismos contaminantes. A contaminação desses microrganismos está na dependência de cuidados no manuseio pré e pós-colheita. O café despulpado e o café natural estão expostos ao acesso de uma diversidade de microrganismos, como leveduras, fungos e bactérias, que, encontrando condições favoráveis para se desenvolverem, infectam os grãos. Esses microrganismos, em seu desenvolvimento, produzem suas próprias enzimas, que agem sobre os componentes químicos da mucilagem, principalmente sobre os açúcares, fermentando-os e produzindo álcool, com este transformando-se em ácido acético, láctico, butírico e outros ácidos carboxílicos superiores. Ao se iniciar a produção de ácido butírico e propiônico, começa a haver prejuízos na qualidade do café. Quando a fermentação é prolongada, a infecção por microrganismos torna-se acentuada e começa a produção de compostos responsáveis pelos sabores indesejáveis.

Pimenta e Vilela (2000), trabalhando com cafés lavados e submetidos a diferentes tempos de amontoa no terreiro antes da secagem, constataram haver aumento na infecção por *Aspergillus* sp., *Cladosporium* sp. e *Fusarium* sp. com a elevação no tempo de amontoa, com o *Penicillium* sp. não mostrando tendência definida de variação.

As ocratoxinas são substâncias tóxicas produzidas por várias espécies de fungos (*Aspergillus ochraceus e Penicillium*), compreendendo uma família de sete compostos, com apenas a ocratoxina A, que se mostra contaminante de alimentos, recebendo maior atenção (Soares, 2000). Essa atenção se estende ao

café, onde existe ameaça mais imediata de barreira ao comércio do produto, em função da imposição de limites quanto aos níveis de ocorrência dessa micotoxina.

Diante do fato de serem freqüentes as práticas de amontoa do café no terreiro à espera da secagem ou de serem ensacados na própria lavoura até a coleta, ficando, dessa forma, os frutos sujeitos ao ataque de microrganismos e conseqüentes alterações, é que o presente trabalho foi conduzido, visando verificar o efeito na infecção microbiológica e ocorrência de ocratoxina A, quando o café colhido é mantido ensacado por diferentes tempos à espera da secagem.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Caracterização e localização do experimento

O experimento foi iniciado em 1/7/1998 na fazenda Rancho Alegre (45°58' W GR, 21°08' LS e altitude média de 780 m, no município de Carmo do Rio Claro-MG (sul de Minas Gerais). Amostras de café (*Coffea arabica* L.) foram colhidas por meio de derriça no pano, utilizando-se um mesmo talhão, onde os frutos apresentavam-se com os seguintes estádios de maturação: 53,89% dos frutos-cereja; 23,14%, secos/passa, e 22,96%, verdes. Após serem colhidos, foram separados em lotes de 180 litros para cada tratamento, com três repetições de 60 litros cada uma, as quais passaram por diferentes tempos de repouso, dentro de sacos de polietileno trançado, dispostos em terreiro de cimento. Após cada tempo de repouso desses frutos, foram retiradas amostras dos frutos para se proceder a análise da composição microbiana antes de ser efetuada a secagem no próprio terreiro, fazendo-se o revolvimento da massa de grãos 10 vezes ao dia, cobrindo com lona durante a noite, até os grãos atingirem a faixa ideal de umidade, que é de 11 a 13%. Durante o período experimental, efetuou-se o monitoramento diário e em dois horários de temperatura e umidade relativa do ambiente às 10 e às 14 horas. Essas medições foram realizadas usando-se um termoigrógrafo instalado no local de condução do experimento (terreiro de secagem). Após essa etapa, foram retiradas amostras contendo 10 kg de frutos em coco em cada repetição, as quais foram beneficiadas e preparadas, para posteriores análises químicas e microbiológicas. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com oito tratamentos (tempo de permanência dos frutos em sacos de polietileno trançado: T1= 0 dia, T2=1 dia, T3= 2 dias, T4= 3 dias, T5= 4 dias, T6= 5 dias, T7= 6 dias e T8= 7 dias) e três repetições, contendo um saco de 60 kg cada uma, sendo mantidas separadas no terreiro em todas as etapas.

### Metodologia analítica

A composição microbiana foi realizada utilizando o método de “blotter test”, que consiste na incubação dos frutos em placas de Petri de 10,5 cm de diâmetro, contendo duas folhas de papel-filtro esterilizadas e umedecidas com água destilada e esterilizada, sob condições de temperatura controlada (23°C) e 12 horas de luminosidade. Cada placa de Petri recebeu 10 frutos de café. Após sete dias de incubação, foi feita a leitura dos fungos utilizando-se microscópio estereoscópio. Os fungos foram identificados pela visualização da forma e coloração das colônias e dos esporos. No caso de dúvida quanto à identificação, prepararam-se lâminas dos fungos para observação ao microscópio óptico. Já a ocorrência de ocratoxina A foi determinada no Instituto Ezequiel Dias, por meio de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Composição Microbiana

Na Tabela 1 são apresentados os valores médios (%) de ocorrência dos fungos *Cladosporium* sp. *Penicillium* sp. *Fusarium* sp. *Aspergillus ochraceus* e *Aspergillus niger* em “frutos de café” submetidos a diferentes tempos dos frutos ensacados no terreiro antes da secagem.

Observou-se haver tendência de variação na infecção dos fungos dos diferentes gêneros constatados, em que os fungos dos gêneros *Fusarium* sp. aumentaram até quatro dias; *Aspergillus ochraceus* e *Aspergillus niger* aumentaram de forma expressiva sua infecção com a elevação no tempo dos frutos ensacados no terreiro antes da secagem. Esses resultados podem ser indicativos de maior participação dos fungos desses gêneros na intensificação dos processos fermentativos, à medida que esses frutos permanecem ensacados no terreiro antes de sua respectiva secagem. Esse fator pode-se tornar preocupante, tendo em vista o fato de serem fungos considerados produtores de micotoxinas e de comum ocorrência durante o armazenamento do produto (Christensen e Kaufmann, 1969).

Os fungos do gênero *Penicillium* sp. mantiveram infecção semelhante até os seis dias, diminuindo de forma acentuada aos sete dias dos frutos ensacados no terreiro antes da secagem. Já o gênero *Cladosporium* sp. diminuiu de forma progressiva à medida que os frutos foram mantidos ensacados por mais tempo. Resultados semelhantes com relação ao *Cladosporium* sp. foram observados por Pimenta e Vilela (2000), que, trabalhando com frutos de café (*Coffea arabica* L.) lavados e amontoados por diferentes tempos antes da secagem, constataram também diminuição na infecção dos fungos desse gênero com a elevação no tempo de amontoa. Reforça-se, dessa forma, a hipótese dos autores de que

possivelmente existem metabólitos dos processos fermentativos que podem estar inibindo os fungos do gênero *Cladosporium* sp.

**Tabela 1** - Valores (%) dos fungos *Cladosporium* sp. *Penicilium* sp. *Fusarium* sp. *Aspergillus ochraceus* e *Aspergillus niger* em frutos de café submetidos a oito diferentes tempos dos frutos ensacados no terreiro antes da secagem

Fungos (%)					
Tempo de repouso (dias)	<i>Cladosporium</i> sp.	<i>Penicilium</i> sp.	<i>Fusarium</i> sp.	<i>A. ochraceus</i>	<i>A. niger</i>
0 (Test.)	87,50	37,50	8,33	0	41,66
1	83,33	20,83	54,16	12,5	16,66
2	79,16	29,16	62,50	0	16,66
3	62,50	41,66	83,33	12,50	20,83
4	58,33	33,33	91,66	25,00	62,50
5	50,00	37,50	70,83	50,00	62,50
6	41,66	41,66	87,50	65,00	76,66
7	20,83	16,66	66,66	87,50	95,83

Na Tabela 2 encontram-se as porcentagens de infecção dos fungos dos gêneros *Cladosporium* sp. *Penicilium* sp. *Fusarium* sp. *Aspergillus ochraceus* e *Aspergillus niger*, em “grãos beneficiados de café”, submetidos a diferentes tempos dos frutos ensacados no terreiro antes da secagem. Observa-se comportamento bastante variado quanto aos índices de infecção dos diferentes gêneros de fungos nos grãos. Esse comportamento mostrou-se diferenciado daquele dos frutos, com os fungos dos gêneros *Penicillium* sp. diminuindo sua infecção de forma gradativa à medida que se elevou o tempo dos frutos ensacados antes da secagem, diferentemente do acontecido com os frutos, nos quais o *Penicillium* sp. diminuiu apenas aos sete dias e o *Fusarium* sp. diminuiu gradativamente com o tempo dos frutos ensacados, inversamente ao ocorrido nos frutos. Esse comportamento mostra que pode haver nos frutos, graças à presença da casca e mucilagem, melhores condições para o desenvolvimento dos fungos do gênero *Fusarium* sp. mesmo se elevando o tempo dos frutos ensacados, induzindo a fermentações e mostrando, dessa forma, a participação dos fungos desse gênero na intensificação dos processos fermentativos.

Os gêneros *Aspergillus ochraceus* e *Aspergillus niger* não mostraram variações definidas com o tempo dos frutos ensacados, porém apresentaram altos índices de infecção em todos os tempos. Já o *Cladosporium* sp. aumentou a infecção até 4 dias, abaixando aos 5, 6 e 7 dias.

Verifica-se também comportamento diferenciado quando se relacionam os índices de infecção nos frutos após cada tempo dos mesmos ensacados e nos grãos beneficiados após secagem de cada tempo. Os fungos dos gêneros *Fusarium* sp. e *Cladosporium* sp. apresentaram maior infecção nos frutos, mostrando, dessa forma, maior ocorrência na casca e mucilagem; os gêneros *Penicillium* sp. *Aspergillus ochraceus* e *Aspergillus niger* apresentaram maior infecção nos grãos beneficiados, sendo gêneros preocupantes no armazenamento do produto (Christensen e Kaufmann, 1969).

Torna-se importante ressaltar que, mesmo com ocorrências diferenciadas entre os tempos dos frutos ensacados, os níveis de infecção foram bastante elevados tanto nos frutos quanto nos grãos. Resultados semelhantes foram observados por Pimenta e Vilela (2000), em trabalhos realizados com frutos-cereja e verdes, amontoados após serem retirados do lavador, ficando a preocupação com o armazenamento desses grãos, os quais estavam excessivamente contaminados. Esse comportamento pode ser atribuído ao fato de que tanto o trabalho realizado por Pimenta e Vilela (2000) quanto o experimento do presente trabalho foram realizados com cafés de lavouras às margens da represa de furnas, em que o microclima no interior destas pode favorecer esses altos índices de infecção, até mesmo em cafés que não foram ensacados antes da secagem. Dessa forma, tornam-se necessários estudos direcionados à composição microbiana de café das diferentes regiões do Estado.

Os resultados obtidos reforçam as afirmativas de Bitancourt (1957), que fez diversos isolamentos e observou que esses fungos desenvolvem-se em diferentes fases de preparo no cafezal e no terreiro de secagem, como também as de Carvalho e Chalfoun (1985), segundo os quais a presença desses microrganismos está na dependência dos cuidados no manuseio pré e pós-colheita. Já Pimenta e Vilela (2000) observaram em seus estudos que a amontoa dos frutos no terreiro não contribuiu para aumento gradativo na incidência dos fungos *Penicillium* sp. *Fusarium* sp. *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus niger* e *Cladosporium* sp., que, possivelmente, foi inibido por processos fermentativos, diminuindo sua ocorrência. Os autores observaram em seus trabalhos que, mesmo não havendo aumento gradativo na infecção dos gêneros anteriormente citados, os índices foram elevados praticamente em todos os gêneros, em experimento realizado com café retirado de lavador da região do Carmo do Rio Claro – MG, submetido a diferentes tempos de amontoa no terreiro antes da secagem.

**Tabela 2** - Valores (%) dos fungos *Cladosporium* sp. *Penicilium* sp. *Fusarium* sp. *Aspergillus ochraceus* e *Aspergillus niger* em grãos beneficiados de café (*Coffea arabica*. L) submetido a oito diferentes tempos dos frutos ensacados no terreiro antes da secagem

Tempo de repouso (dias)	<i>Cladosporium</i> sp	<i>Penicilium</i> sp	<i>Fusarium</i> sp	<i>A. ochraceus</i>	<i>A. niger</i>
0 (Test.)	50,00	73,33	66,66	56,66	83,33
1	43,33	73,33	60,00	33,33	86,66
2	63,33	90,00	56,66	50,00	100,00
3	66,66	56,66	63,33	60,00	80,00
4	73,33	40,00	20,00	86,66	100,00
5	66,66	16,66	30,00	83,33	90,00
6	26,66	20,00	43,33	36,66	66,66
7	3,33	60,00	23,33	70,00	93,33

### Ocratoxina A

Pelos resultados obtidos, há indícios da não-deteção de ocorrência da presença de ocratoxina A em grãos de frutos de café submetidos a diferentes tempos em repouso antes da secagem. Esses resultados mostram que, apesar de se manter os frutos ensacados até sete dias antes de se proceder à secagem, não foi detectada a presença de ocratoxina A em nenhuma das amostras analisadas. Segundo Soares (2000), o café brasileiro não tem se mostrado com contaminações significativas desses metabólitos, e, quando apresenta, os valores são muito baixos.

### CONCLUSÕES

Pelos resultados obtidos, nas condições experimentais, conclui-se que, nos frutos, os gêneros *Penicillium* sp. e *Cladosporium* sp. diminuíram sua infecção de forma gradativa; *Fusarium* sp. *Aspergillus ochraceus* e *Aspergillus niger* aumentaram com a elevação no tempo. Já nos grãos, *Penicillium* sp. e *Cladosporium* sp. e *Fusarium* sp. diminuíram e *Aspergillus ochraceus* e *Aspergillus niger* variaram de forma indefinida, com altas taxas de infecção em todos os tempos avaliados e não-deteção de Ocratoxina A em nenhum desses tempos dos frutos mantidos ensacados antes da secagem.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BITANCOURT, A.A. As fermentações e podridões da cereja de café. **Boletim da Superintendência dos Serviços do Café**, São Paulo, v.32, p.7-14, jan. 1957.



- CARVALHO, V.D.; CHALFOUN, S.M.; CHAGAS, S.J.R. Relação entre classificação do café pela bebida e composição físico-química, química e microflora do grão beneficiado. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEIRAS, 15., 1999, Maringá. **Resumos...** Rio de Janeiro: MIC/IBC, 1989. p.25-26.
- CARVALHO, V.D.; CHALFOUN, S.M.; CHAGAS, S.J.R. Fatores que afetam a qualidade do café. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.18, n.187, p.5-20, 1997.
- CARVALHO, V.D.; CHALFOUN, S.M. Aspectos qualitativos do café. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.11, n.126, p.79-92, jun. 1985.
- CHRISTENSEN, C.M.; KAUFMANN, H.H. **Grain storage the role of fungi in quality loss.** Minneapolis: University of Minnesota Press, 1969. 153p.
- KRUG, H.P. Cafés duros: II – um estudo sobre a qualidade dos cafés de varrição. **Revista do Instituto do Café**, São Paulo, v.27, n.163, p.1393-1396, set. 1940.
- 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).
- MOREAU, C. **Moulds, toxins and food.** New York: John Wiley, 1979. 477p.
- PIMENTA, C. J.; VILELA, E.R. Qualidade do café (*Coffea arabica* L), lavado e submetido a diferentes tempos de amontoa no terreiro. **Revista Brasileira de Armazenamento**, Viçosa , v.2, p.3-10, 2000. Especial.
- SOARES, L.V. Ocratoxinas e Aflatoxinas em cafés brasileiros. In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL SOBRE BIOTECNOLOGIA NA AGROINDÚSTRIA CAFEIRA, 3., 2000, Londrina – PR. **Anais...** IAPAR/IRD, 2000. p.447-452.