

FUNGOS TOXIGÊNICOS EM GRÃOS DE CAFÉ ARMAZENADOS

Josiane Gonçalves Borges²; Elisângela de Fátima Rezende³; Fabiana Aparecida Couto⁴; Daiani Maria da Silva⁵; Luís Roberto Batista⁶

¹ Projeto financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais – FAPEMIG

² Bolsista de Iniciação Científica da FAPEMIG, UFLA-MG; josianejgb@yahoo.com.br

³ Mestranda em Ciência dos Alimentos, UFLA-MG; rezende.e@gmail.com

⁴ Mestranda em Microbiologia Agrícola, UFLA-MG; fapcouth@yahoo.com.br

⁵ Doutoranda em Microbiologia Agrícola, UFLA-MG; daiiai0905@yahoo.com.br

⁶ Professor adjunto, UFLA-MG; luisrb@ufla.br

RESUMO: Algumas espécies de fungos filamentosos, principalmente dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium*, são potenciais produtores de micotoxinas, que são metabólitos secundários, tóxicos ao homem e animais, mesmo em baixas concentrações. Este trabalho avaliou a presença de fungos do gênero *Aspergillus* produtores de ocratoxina A e aflatoxinas em grãos de café armazenado. Foram testados 115 isolados para o potencial ocratoxigênico e 14 para o potencial aflatoxigênico. Foram identificados como produtores de ocratoxina A as espécies *A. ochraceus* (27), *A. ostianus* (7), *A. westerdijkiae* e como produtores de aflatoxina B1 e B2 as espécies *A. flavus* (11). A presença de espécie toxigênica não indica necessariamente a presença de micotoxinas nas amostras, mas que existe um risco em potencial. O conhecimento das espécies toxigênicas são essenciais para adoção de medidas de controle fitossanitárias e de segurança do café.

Palavras-chave: micotoxina, *Aspergillus*, café, cromatografia.

TOXIGENIC FUNGI IN STORED GRAINS OF COFFEE

ABSTRACT: Some species of fungi, especially of the genera *Aspergillus*, *Penicillium* and *Fusarium* are potential producers of mycotoxins, which are secondary metabolites, toxic to humans and animals, even at low concentrations. This study evaluated the presence of fungi of the genus *Aspergillus* producing ochratoxin A and aflatoxins in stored grains of coffee. 115 isolates were tested on the production potential of ochratoxin and 14 isolated as the potential for production of aflatoxin. Were identified as producers of ochratoxin A the species *A. ochraceus* (27), *A. ostianus* (7), *A. westerdijkiae* and producers of aflatoxin B1 and B2 species *A. flavus* (11). The presence of toxigenic species does not necessarily indicate the presence of mycotoxins in the samples, but there is a risk in potential. Knowledge of toxigenic species are essential for adoption of phytosanitary control and security of coffee.

Key words: mycotoxin, *Aspergillus*, coffee, chromatography.

INTRODUÇÃO

As exigências no controle de qualidade e nas condições higiênico-sanitárias dos produtos são fundamentais, e estão se tornando cada vez mais rigorosas, especialmente para os produtos destinados à alimentação humana e animal, atraindo cada vez mais a atenção e preocupação dos consumidores. A exposição humana a micotoxinas pelo consumo de alimento contaminado é questão de saúde pública no mundo todo. As micotoxinas são compostos com reconhecida atividade tóxica em animais e seres humanos, produzidas por algumas espécies de fungos filamentosos, que podem estar presentes em alimentos. Como são contaminantes naturais, não é possível eliminar a sua presença dos alimentos por completo, mas podem e devem ser reduzidos a níveis que não apresentem risco para as populações.

Diversos fungos encontram-se associados aos frutos e grãos de café durante todo o ciclo produtivo e podem, sob condições específicas, causar perdas de qualidade produzindo odores e sabores desagradáveis e em alguns casos podem produzir metabólitos tóxicos (micotoxinas), comprometendo a característica de segurança do produto final. A micotoxina mais comumente presente no café é a ocratoxina A (OTA), seguida pela aflatoxina (CHALFOUN, S. M.; PARIZZI, F. C.). Além de representar um perigo potencial à saúde do consumidor, o rechaço de um carregamento de café contaminado por essas micotoxinas pode significar uma substancial perda econômica.

A OTA é um metabólito secundário altamente tóxico, produzido principalmente por espécies de fungos dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*. Os fungos potencialmente produtores de aflatoxina são *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus*. Atualmente existe uma preocupação séria por parte dos grandes países importadores quanto ao controle da contaminação por fungos toxicogênicos conseqüentemente quanto a presença de micotoxinas (Silva et al., 2003). A OTA é uma micotoxina com ação nefrotóxica e nefrocarcinogênica (Joosten et al., 2001; Batista et al., 2003), teratogênica e carcinogênica (Batista et al., 2003; Mühlencoert, et al., 2004 e Jonsson et al. 2003), sendo detectada em diversos produtos alimentícios, incluindo cereais, nozes, grãos de café, cacau, frutas secas, temperos, vinho, cerveja (Joosten et al.; 2001, Mühlencoert, et al., 2004) e derivados de porco (Jonsson et al. 2003).

Como a maioria dos fungos produtores de toxinas faz parte da microbiota associada é essencial programas de monitoramento dos níveis de contaminação de alimentos por micotoxinas são essenciais para estabelecer prioridades em

ações de vigilância sanitária. Uma das formas de detectar OTA é através de métodos cromatográficos que tem como objetivo principal a purificação, detecção e quantificação de várias substâncias. A cromatografia é um método físico-químico de separação. Ela está fundamentada na migração diferencial dos componentes de uma mistura, que ocorre devido a diferentes interações, entre duas fases imiscíveis, a fase móvel e a fase estacionária. A grande variedade de combinações entre fases móveis e estacionárias a torna uma técnica extremamente versátil e de grande aplicação.

Conhecer e entender os fungos contaminantes de grãos é de extrema importância para aqueles que lidam com grãos armazenados. A contaminação desses microorganismos depende dos cuidados de manuseio pré e pós-colheita, importantes para a manutenção da qualidade exigida no mercado cafeeiro internacional e, conseqüentemente para a obtenção de melhores preços (Corrêa et al., 2003; Silva et al., 2003 e Pimenta & Vilela, 2003).

Este estudo teve como objetivo avaliar o potencial micotoxigênicos de espécies de *Aspergillus* isoladas de grãos de café armazenados.

MATERIAL E MÉTODOS

Todos os 129 fungos filamentosos utilizados neste estudo foram isolados de grãos de café e fazem parte da Coleção de Microrganismos do Laboratório de Microbiologia de Alimentos/DCA UFLA-MG.

A identificação dos fungos testados foi realizada conforme Klich (2002) observando suas características macroscópicas e microscópicas em meios de cultura e temperatura padronizados.

Para determinação do potencial de produção de OTA, os isolados fúngicos testados foram inoculados em meio YES (Yeast Extract Sucrose Agar) e CYA (Czapek Yeast Agar) a 25-26°C, conforme Filtenborg & Frisvad (1980). Foi utilizado o padrão de OTA (Sigma-Aldrich), Placas de Cromatografia de Camada Delgada (Merk-Sílica Gel 60, 20x20) e como Fase móvel TEF-Tolueno Acetato de Etila e Ácido Fórmico 90% (50:40:10).

Após a eluição, as placas foram secas em capela de fluxo de ar. A confirmação quanto a produção de micotoxinas foi feita em luz ultravioleta com comprimento de onda entre 264nm e 366nm em um cromatovisor CAMAG (UF-BETRACHTER). Os isolados considerados como produtores de ocratoxina A apresentaram um RF (fator de retenção) e um spot de fluorescência semelhante ao do padrão da ocratoxina A e da aflatoxina B1, B2, G1 e G2.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados quanto a produção de ocratoxina A estão expressos na Tabela 1. Dos 115 isolados testados 38 foram produtores de ocratoxina A, com destaque ao *A. ochraceus* e *A. ostianus* que 100% dos isolados testados foram produtores de ocratoxina A. Conforme descrito por Batista et al (2009) *A. ochraceus* é uma das principais espécies ocratoxigênicas isolados de frutos e grãos de café. *A. ostianus* e *A. westerdijkiae* podem ser produtoras de ocratoxina A e serem isoladas de grãos de café (Batista et al 2003, Fisvad et al 2004)

Tabela 1: Espécies de fungos produtores de ocratoxina A.

Espécie	Espécies Analisadas	OTA
<i>Aspergillus aculeatus</i>	1	-
<i>Aspergillus foetidus</i>	37	-
<i>Aspergillus lacticoffeatus</i>	1	-
<i>Aspergillus Níger</i>	18	-
<i>Aspergillus niger Agregado</i>	2	-
<i>Aspergillus ochraceus</i>	26	26(100%)
<i>Aspergillus ostianus</i>	7	7 (100%)
<i>Aspergillus sclerotiorum</i>	1	-
<i>Aspergillus SP</i>	1	-
<i>Aspergillus tubingensis</i>	16	-
<i>Aspergillus westerdijkiae</i>	4	4(100%)
<i>Aspergillus westerdijkiae/A. ochraceus</i>	1	1(100%)

Dos 14 isolado de *Aspergillus flavus* testados 11 foram produtores de aflatoxinas B1 e B2. Resultados semelhantes foram obtidos por Batista et al (2003), onde forma isolados e identificadas fungos produtores de aflatoxina em café.

A presença destas espécies produtoras de micotoxinas não indicam necessariamente a presença de ocratoxina e aflatoxinas nas amostras de grãos de café. Um série de fatores estão envolvidas na síntese de metabólitos secundários de fungos filamentosos, como composição química do café, atividade de água, fatores culturais e ambientais. A identificação das espécies produtoras de micotoxinas é essencial para serem adotadas medidas de controle fitosanitárias e garantir a segurança do produtos.

CONCLUSÕES

Foram identificadas como espécies produtoras de ocratoxina A *A. ochraceus*, *A. ostianus* e *A. westerdijkiae* e como produtor de aflatoxina *A. flavus*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BATISTA, L. R.; CHALFOUN, S. M.; PRADO, G.; SCHWAN, R. F.; & WHEALS, A. E. (2003). Toxigenic fungi associated with processed green coffee beans (*Coffea Arabica* L.). **International Journal of food Microbiology**, v. 85, p. 293-300. 2008.
- CORRÊA, P.C.; JÚNIOR, P.C.A.; da SILVA, F.S.; RIBEIRO, D.M. Qualidade dos grãos de café (*Coffea arábica* L.) durante o armazenamento em condições diversas. **Revista Brasileira de Armazenamento**, Viçosa – Especial Café, MG, n. 7, p. 136-147, 2003.
- Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1413-70542007000300030&script=sci_arttext. Acessado em 04 abr. 2009.
- FRISVAD, J. C.; FRANK, J. M.; HOUBRAKEN, J. A. M. P.; KUIJPERS, A. F. A.; & SAMSON, R. A. (2004). New ochratoxin A – producing species of *Aspergillus* Section *Circumdati*. **Studies in Mycology**, v. 50, p. 23-43.
- PIMENTA, C.J.; VILELA, E.R. Composição microbiana e ocratoxina A no café (*Coffea arábica* L.) submetido a diferentes tempos de espera antes da secagem. **Ciênc. Agrotec.**, Lavras. v. 27, n. 6, p. 1315-1320, 2003.
- SILVA, C.F.; BATISTA, L.R.; SCHWAN, R.F. Incidência de *Aspergillus* produtores de micotoxinas em frutos e grãos de café (*Coffea Arabica* L.). **Revista Brasileira de Armazenamento**, Viçosa – Especial Café, MG, n. 7, p. 30-36, 2003.
- SILVA, C.F.; BATISTA, L.R.; SCHWAN, R.F. Incidence and distribution of filamentous fungi during fermentation, drying and storage of coffee (*Coffea Arabica* L.) beans. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 39, p. 521-526. 2008.