

FERNANDA REIS ROCHA

RISCOS DE OCRATOXINA A EM GRÃOS DE CAFÉ TORRADOS E MOÍDOS

LAVRAS – MG 2021

FERNANDA REIS ROCHA

RISCOS DE OCRATOXINA A EM GRÃOS DE CAFÉ TORRADOS E MOÍDOS

Monografia apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do curso de Engenharia de Alimentos, para obtenção do título de Bacharel.

Prof. Dr. Luís Roberto Batista Orientador

FERNANDA REIS ROCHA

RISCOS DE OCRATOXINA A EM GRÃOS DE CAFÉ TORRADOS E MOÍDOS OCRATOXIN A RISKS IN ROASTED AND GROUND COFFEE BEANS

Monografia apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do curso de Engenharia de Alimentos, para obtenção do título de Bacharel.

APROVADO em 11 de junho de 2021.

Prof. Dr. Luís Roberto Batista UFLA

Dra. Fabiana Reinis Franca Passamani UFLA

Dr. Felipe Furtini Haddad UFLA

Prof. Dr. Luís Roberto Batista Orientador

RESUMO

O presente trabalho tem como objetivo a realização de uma revisão de literatura a respeito das principais espécies de fungos produtores de ocratoxina A em frutos e grãos de café, e o risco da presença desta toxina em café torrado e moído, assim como as consequências da presença dessa micotoxina na qualidade e segurança final do produto. A produção de ocratoxina A está associada aos fungos dos gêneros Penicillium spp. e Aspergillus, com destaque às espécies pertencentes a Seção Circumdati e Nigri. Abordou-se a temática em relação à legislação brasileira, que estabelece o limite máximo tolerado de 10 µg/Kg de ocratoxina A em café torrado (moído ou em grão) e café solúvel. Em relação ao efeito da torra e a quantidade de ocratoxina A presente no café, conclui-se através dos estudos analisados que a realização da torra contribui para a redução nos níveis de ocratoxina A no produto. Os defeitos do café também foram relacionados à presença e quantidade de ocratoxina A, sendo diretamente associada aos mesmos. Por fim, abordou-se a importância da realização de medidas preventivas que evitam a contaminação dos frutos de café e geram um produto de qualidade, como a Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC), Boas Práticas Agrícolas (BPA), Boas Práticas de Fabricação (BPF) e Boas Práticas de Higiene (BPH). Conclui-se através do trabalho realizado que a presença de ocratoxina A está diretamente relacionada à cafés de baixa qualidade, podendo, portanto, ser evitada ou reduzida com o uso de medidas preventivas.

ABSTRACT

The present work aims to carry out a literature review regarding the main species of fungi that produce ochratoxin A in coffee fruits and beans. And also show the risks of the presence of its toxin in roasted and ground coffee and the consequences on the quality and safety of the final product. The production of ochratoxin A is associated with fungi of the genus *Penicillium* spp. and Aspergillus, mainly from species belonging to Section Circumdati and Nigri. The theme is based on Brazilian legislation, which limits the maximum tolerated limit of 10 µg / Kg of ochratoxin A in roasted coffee (ground or beans) and in instant coffee. Regarding the effect of roasting and the amount of ochratoxin A present in coffee, studies conclude that roasting contributes to the reduction of ochratoxin A levels in the product. Coffee defects were also related to the presence and amount of ochratoxin A, being directly associated with them. Finally, the importance of carrying out preventive measures that avoid contamination of coffee fruits and generate a quality product was addressed. Such as Hazard Analysis and Critical Control Points (HACCP), Good Agricultural Practices (GAP), Good Manufacturing Practices (GMP), and Good Hygiene Practices (GHP). It is concluded from the work carried out that the presence of ochratoxin A is directly related to low quality coffee and can therefore be avoided or reduced with the use of preventive measures.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Modalidades de preparo do café	7
Figura 2- Estruturas das ocratoxinas e seus análogos.	
Figura 3- Fluxograma geral de produção de café mostrando os principais pontos críticos de	e
controle (PCC)	30

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- A evolução da participação do café brasileiro no mundo	2
Tabela 2- Comparação de atividade de água mínima para crescimento e produção	
de ocratoxina A (OTA) das principais espécies produtores	14
Tabela 3- Determinação do potencial toxigênico dos gêneros Aspergillus e Penicillium	
associados ao café (Coffea arabica L.)	15
Tabela 4- Porcentagem de infecção por fungos ocratoxigênicos nos defeitos de cafés de	
Patrocínio e Piraju	25
Tabela 5- Teores de ocratoxina A (µg/kg) nos defeitos de café de Patrocínio e Pirajú	25

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1- Produção de ocratoxina A por A. ochraceus em função de projeções de vari	iações
de temperatura em três diferentes regiões de Minas Gerais.	18
Gráfico 2- Produção de ocratoxina A por A. carbonarius em função de projeções de va	ariações
de temperatura em três diferentes regiões de Minas Gerais	19

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
2	REFERENCIAL TEÓRICO	2
2.1	PRODUÇÃO NACIONAL E MUNDIAL DE CAFÉ	2
2.2	MÉTODOS DE PRODUÇÃO	5
	FUNGOS EM FRUTOS É GRÃOS DO CAFÉ	
2.4	FUNGOS DO GÊNERO ASPERGILLUS PRODUTORES DE OCRATOXINA A I	EM
CAF	É 11	
2.5	OCRATOXINA A EM CAFÉ TORRADO E MOÍDO	20
2.5.1	LEGISLAÇÃO BRASILEIRA	20
2.5.2	EFEITO DA TORRAÇÃO	21
2.6	OCRATOXINA A, DEFEITOS DO CAFÉ E SUA INFLÊNCIA NA QUALIDADE.	23
2.7	MEDIDAS PREVENTIVAS	27
2.7.1	APPCC	27
	CONSIDERAÇÕES FINAIS	
4	REFERÊNCIAS	32

1 INTRODUÇÃO

O café é um dos produtos agrícolas de maior importância comercial para o Brasil e diversos países do mundo. O Brasil é o maior produtor e exportador de café mundial, o que o torna líder no mercado global de café. O país é reconhecido no mercado internacional pela qualidade do produto e pela produção de diferentes tipos de café (SOUSA et al., 2018). O estado de Minas Gerais é líder em produção e exportação nacional de café, sendo responsável, no ano de 2018, por 54% de tudo que se colheu no país (KIST; BELING, 2020).

Uma das grandes preocupações dos produtores de café no Brasil está relacionada à qualidade do produto, fator que influi diretamente em seu preço de venda. A contaminação por fungos é um dos principais fatores associados à perda de qualidade dos frutos do café (BATISTA, 2000). A contaminação dos grãos por esses microrganismos pode ocorrer durante toda a cadeia produtiva, sendo dependente de condições como temperatura, pH, umidade e atividade de água e podendo causar alterações como descoloração, perda de rendimento, redução do valor nutricional e contaminação por micotoxinas, em especial, a ocratoxina A (FRAGA et al., 2003).

A ocratoxina A é produzida principalmente por fungos dos gêneros Aspergillus e Penicilium (FUTAGAMI et al., 2011). Entre as espécies de Aspergillus produtoras de ocratoxina A, a maior parte delas pertencem às seções Circundati, com destaque às pertencentes aos Grupos Ochraceus (Aspergillus ochraceus, Aspergillus sulphureus, Aspergillus petrakii e outros), e Nigri (Aspergillus cabonarius, Aspergillus foetidus e Aspergillus niger var niger) (BATISTA, 2000, HAYAT et al., 2012). O gênero Penicilium é representado pela espécie Penicillium verrucosum (BATISTA; CHALFOUN; PRADO, 2001).

Embora a presença dessa micotoxina seja identificada em pequenas quantidades, a ocratoxina A é a de maior relevância em relação às micotoxinas presentes em grãos de café. representando uma ameaça imediata a seu consumo e comércio (PASIN; ALMEIDA; ABREU, 2009).

O trabalho apresentado possui como objetivo a realização de uma revisão de literatura a respeito das principais espécies de fungos produtores de ocratoxina A em frutos e grãos de café, e o risco da presença desta toxina em café torrado e moído, assim como as consequências da presença dessa micotoxina na qualidade e segurança final do produto.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 PRODUÇÃO NACIONAL E MUNDIAL DE CAFÉ

O Brasil é país líder em produção e exportação de café, ocupando também a posição de segundo maior consumidor. Apesar de ter tido uma redução na área de cultivo, o país aumentou nos últimos anos a produção e participação no contexto mundial de café do setor cafeeiro. Em 1997, a produção brasileira correspondia a 19% da produção global. Já no ano de 2020, ano de bienalidade positiva da planta, a produção brasileira pode chegar a corresponder em 34% do volume global. Esses números nos mostram a relevância da pesquisa no desenvolvimento da atividade, visto que a área de cultivo foi reduzida em 20% e, ainda assim, o país ainda se mantém como maior produtor e segue em crescimento de participação global. A tabela 1 ilustra a evolução da participação do café brasileiro no mundo (KIST; BELING, 2020).

Tabela 1- A evolução da participação do café brasileiro no mundo

Ano	1997	2019	2020
Produção	19	29	34
Exportação	21	32	-

Fonte: Do autor (2021)

Os países consumidores e importadores de café são, em grande maioria, países desenvolvidos. Os principais países importadores do café brasileiro são Estados Unidos, responsáveis por 17,6% da parcela de exportação, Alemanha, com 16,0%, Itália, com 8,9%, Japão, com 6,8%, e Bélgica, com 6,7% (KIRST et al., 2019). No ano de 2018, a Alemanha se configurava como país com maior consumo per capta de café, o equivalente a 7,31 kg/habitante/ano (CARVALHO et al. 2018). No Brasil, em 2019, o consumo per capta de café foi de 4,76 kg/habitante/ano (KIST; BELING, 2020).

A safra comercial do ano de 2019/20 foi destinada a 125 países. Houve um acréscimo de vendas para os principais mercados (Estados Unidos e Alemanha) e para outros, como México (11,8%), Federação Russa (24,9%) e Espanha (6,7%). O Cecafé (Conselho dos Exportadores de Café do Brasil) enfatizou ainda, o aumento da venda de café em mais de 41,8% para países produtores em relação ao período anterior. Entre os exportadores

brasileiros, se encontram 260 empresas, 22 cooperativas e 21 produtores. São utilizados 25 portos de embarque, sendo o principal deles, localizado na cidade de Santos, que corresponde a 79,2% do total de produto embarcado para exportação (KIST; BELING, 2020).

Nas diversas regiões de plantação de café no Brasil, produzem-se as variedades arábica e conilon. O café arábica é a variedade mais cultivada no Brasil e no mundo. Em área, ocupa 81% de todo o espaço destinado ao plantio de café no Brasil. O café conilon representa cerca de 24% da produção brasileira de café. A variedade apresenta vantagens sobre o arábica, sendo mais resistente a pragas e doenças, à variação de temperatura, disponibilidade de água e a períodos de bienalidade negativa (CARVALHO et al. 2018).

No ano safra 2019/20, ano de bienalidade negativa, o Brasil colheu 49,3 milhões de sacas de café, sendo a maior parte produzida grãos do tipo arábica (81% da área produzida). A bienalidade negativa somada a fatores climáticos, resultaram em uma safra 20% menor que a safra anterior, quando obteve-se o recorde de 61,6 milhões de toneladas conforme a Companhia Nacional de Abastecimento (Conab). Houve também um decréscimo de 2,8% a área de produção, interferindo no volume colhido. Por outro lado, o volume de cafezais em formação aumentou em 8,4%. O rendimento médio físico por hectare plantado apresentou uma queda de 17,8% em relação ao ano anterior (KIST; BELING, 2020).

De acordo com o órgão oficial, a variedade arábica se mantém estável em relação a área de plantação de café nas últimas 10 safras, sendo aproximadamente de 1,7 milhões de hectares plantados, dos quais 70% estão localizados em Minas Gerais. Já a variedade conilon, vem apresentando um decréscimo na extensão de áreas em produção, mantendo estável a extensão de áreas em formação. Esse decréscimo está vinculado à importante tendência na otimização do manejo da cultura e de utilização de material genético mais produtivo (KIST; BELING, 2020).

O levantamento atualizado do ciclo de produção e vendas referentes ao período de julho de 2020 a junho de 2021 realizado pela Companhia Nacional de Abastecimento (Conab) foi afetado pela epidemia da Covid 19, porém os números iniciais estavam entre 57 e 62 milhões de toneladas, representando um incremento médio de 21%. Já o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) previa uma produção de 59 milhões de toneladas. Isso se deve a fatores como a bienalidade positiva e boas condições climáticas, com chuvas abundantes, de acordo com o IBGE (KIST; BELING, 2020).

Em análise realizada por Djalma Fernandes de Aquino, da Conab, previa-se que os preços internacionais de café tenderiam a ficar mais pressionados devido à maior produção brasileira e superávit inflado do mercado mundial. Mencionou-se também que alguns fatores

poderiam contribuir para a alta dos preços, como a aceleração das vendas brasileiras, que já chegavam a 40% da safra, baixos aumentos produtivos em outros países produtores, incluindo o Vietnã, e alta no consumo do produto (1,45%). Dirigentes de entidades do setor cafeeiro atribuem o fato da sustentabilidade do café brasileiro à possível valorização do mesmo. Nelson Carvalhaes, presidente do Cecafé, atribui a boa safra em curso e a boa qualidade do café como fatores a manter o bom desempenho do país no comércio internacional (KIST; BELING, 2020).

Minas Gerais é o estado líder em produção e exportação nacional de café, sendo responsável por mais da metade de tudo que se colhe no país. O estado é seguido por Espírito Santo, São Paulo, Bahia e Rondônia que se enquadram no ranking de segundo, terceiro, quarto e quinto, respectivamente, maiores produtores de café do Brasil, os quais têm a atividade cafeeira como uma das fontes de desenvolvimento social e econômico (KIST; BELING, 2020).

No ano de 2018, a produção do estado de Minas Gerais representava 54% da produção nacional. As regiões Sul e Centro-Oeste do estado constituem a maior região produtora de Minas Gerais e do Brasil, correspondendo em 2019 a 57% do total do produto e a 50% da área colhida de café do estado. A produção é composta em sua quase totalidade por café arábica (98,8%), sendo a variedade conilon restrita às regiões Sul e Centro-Oeste. Em 2019, ano de bienalidade negativa, a produção total do estado foi de 24,6 milhões de sacas. Em relação às áreas de cultivo, desde 2005, os números têm se mantido estáveis, porém, a produção cresceu em 62% (KIST; BELING, 2020).

O estado do Espírito Santo se destaca em relação à produção do café conilon, sendo responsável pela produção de cerca de 70% da produção nacional e 17% da produção mundial da variedade. A produção dessa variedade se encaixa como a principal atividade do estado, representando, de acordo com o Incaper (Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural), 38% do Produto Interno Bruto (PIB) Agrícola. Desde a década de 1980, O Espírito Santo é tido como referência nacional e internacional nesta cultura, apresentando excelentes resultados obtidos através de pesquisa, ensino, assistência técnica e extensão rural (KIST; BELING, 2020).

Em balanço realizado entre 13 e 17 de julho de 2020, o Conselho Nacional do Café confirmava, em conjunto com cooperativas associadas e entidade de extensão rural mineira, que a qualidade dos frutos colhidos era alta, não havendo incidência de broca. Outro fator levantado a respeito dos cafés produzidos no Brasil é a sustentabilidade, sobre a qual Silas Brasileiro afirma que o país possui a cafeicultura mais sustentável do mundo, citando

profissionalismo e zelo dos cafeicultores nos processos pré e pós colheita como responsáveis pelo posto (KIST; BELING, 2020).

Projeções sobre o café brasileiro feitas pelo MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento) em 2019 indicam um crescimento de 25,2% da produção do grão entre os anos de 2019 e 2029. É previsto também um aumento de 24,3% no consumo da bebida. Em relação à exportação, prevê-se um aumento de 16,8%. Baseado nessas estimativas, o volume a ser produzido em 2029 chegaria a pelo menos 64 milhões de sacas, com limite superior estendido até 80 milhões de sacas. Considerando-se a bienalidade positiva do ano de 2028, o volume atingido pode chegar à 71 milhões de sacas (KIST; BELING, 2020).

2.2 MÉTODOS DE PRODUÇÃO

Assim como outros produtos agrícolas, o café possui seu preço de venda diretamente influenciado por sua qualidade. Seu valor de venda aumenta significativamente com a melhoria da qualidade, além de ser um importante fator para a exportação. A qualidade final do café está associada a seus fatores intrínsecos e ao processamento pelo qual o grão passa após sua colheita. Os dois métodos mais empregadas na produção são: via seca e via úmida, sendo a segunda subdivida nas categorias do grão despolpado e descascado (SARAIVA et al. 2010).

No método de preparo por via seca, a secagem do café ocorre em terreiro, imediatamente após a colheita, ou em secadores mecânicos, resultando em um café natural (SARAIVA et al. 2010). O café produzido através desse método possui como características acidez moderada a baixa, corpo, aroma e doçura acentuados (MESQUITA et al. 2016).

O método de processamento por via seca é mais simples em relação ao de via úmida, visto que requer menor controle durante a colheita e gera menores custos operacionais. Entretanto, sua eficiência pode ser afetada por fatores climáticos locais, condição que leva a alterações na qualidade do produto devido a ação de fungos e bactérias. O processamento por via seca resulta em um produto de qualidade diferente do café lavado, principalmente em características relacionadas à acidez, aroma e corpo (SARAIVA et al. 2010).

Na produção do café natural, o fruto é seco de forma integral, tendo sua mucilagem digerida e liquidificada no processo, gerando material alimentar para a semente, o que propicia a continuação do metabolismo e respiração dela. Essas mudanças provocam alterações na qualidade do produto final, podendo elas serem benéficas ou maléficas, a

depender da presença ou ausência de microrganismos contaminantes. A presença de microrganismos é resultante dos cuidados no manuseio pré e pós colheita. Se realizados de forma indevida, associado a altas temperaturas e umidade relativa do local de cultivo, resultam no desenvolvimento de microrganismos (SARAIVA et al. 2010). Consequentemente ao desenvolvimento, irá ocorrer a produção de compostos químicos, o que acarretará na deterioração e perda de qualidade do café (CARVALHO et al. 1997).

O processamento por via úmida pode incluir a retirada da casca, produzindo o café cereja descascado, e a retirada da casca e da mucilagem, gerando o café cereja descascado e despolpado (SARAIVA et al. 2010). A secagem por via úmida com remoção da mucilagem vem caindo em desuso nos últimos anos. O produto gerado no processamento por via úmida possui característica de maior acidez, tendo corpo e aroma menos pronunciados (MESQUITA et al, 2016).

O processo de descascamento é realizado por fricção em descascadores mecânicos. O método de secagem por via úmida com café descascado surgiu após a década de 90, tornando possível a obtenção de um produto final com as características semelhantes às do café natural. No caso de despolpamento a mucilagem é retirada por processo fermentativo, no qual o café descascado fica imerso em tanques de água por tempo suficiente à remoção da mucilagem (MESQUITA et al, 2016).

O método por via úmida requer maior controle do grau de maturação dos frutos devido às condições da mucilagem do fruto. A mucilagem do grão só é formada no estágio cereja, fase na qual o fruto está quase maduro. Em grãos verdes, não ocorre a formação da mucilagem e quando despolpados, a semente fica desprotegida e sem lubrificação, tornando-a passível de esmagamento e corte, o que prejudica o sabor do produto. No caso de frutos muito maduros, ainda macios, a mucilagem é fermentada dentro do grão, provocando seu desaparecimento. A consequência desse processo é a mesma que ocorre em grãos verdes, visto que a semente fica desprotegida e sem lubrificação (SARAIVA et al. 2010).

O método de produção por via úmida possui como vantagem a redução da massa e do volume de café a ser seco e beneficiado, além de reduzir o risco de fermentações indesejadas, fator limitante do método por via seca (SARAIVA et al. 2010). A produção por via úmida, se realizada da forma correta, resulta em boa bebida, independente da região de produção (MATIELLO 2002).

A imagem 1 nos mostra o fluxograma de diferentes métodos de preparo do café e seus respectivos produtos:

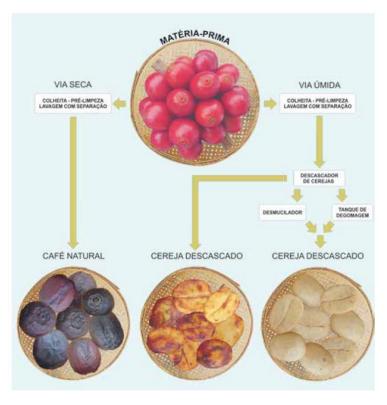


Figura 1- Modalidades de preparo do café

Fonte: Mesquita et al (2016)

2.3 FUNGOS EM FRUTOS E GRÃOS DO CAFÉ

Frutos e grãos de café, assim como outras culturas, estão sujeitos a contaminações microbianas em todas as fases do ciclo produtivo (BATISTA, 2000). A atuação desses microrganismos em relação à qualidade e segurança do produto final é dependente das condições ambientais e de manejo da cultura e produto final (BATISTA, 2000). A presença e o desenvolvimento de infecções microbianas nos grãos de café podem levar a alterações tanto no aspecto visual, quanto no sabor e aroma, reduzindo a sua qualidade (PASIN; ALMEIDA; ABREU, 2009).

As alterações geradas devido à presença de fungos nos grãos de café que levam à perda de qualidade nos mesmos estão associadas a transformações químicas, de natureza enzimática, envolvendo polifenoloxidase, glicosidades, lipases e proteases. As enzimas responsáveis por essas alterações podem ser de origem dos microrganismos contaminantes ou constituintes do próprio grão (AMORIM et al., 1997).

O grupo de fungos filamentosos se encontra entre os maiores causadores de danos aos frutos e grãos de café, fator associado ao amplo potencial enzimático apresentado por eles (CHALFOUN; CORRÊA, 2002). *Aspergillus ochraceus* e *Penicillium spp.* são os maiores causadores de danos em grãos de café, alterando características de cor e qualidade da bebida, em alguns casos após o segundo mês de estocagem (LOPES GARAY, BATISTA ROMERO, MORENO GONZÁLEZ, 1987; BUCHELLI et al., 1998).

Algumas espécies fúngicas podem ser produtoras de toxinas, enquanto outras podem atuar ainda como protetoras contra a invasão de outros fungos (CHALFOUN; CORRÊA, 2002). Em relação a alterações físicas e bioquímicas, os maiores tipos de danos provocados pelo crescimento de fungos em grãos estocados são o decréscimo na germinação, perda da coloração, aquecimento dos grãos, várias alterações bioquímicas, perda de peso e produção de micotoxinas (BATISTA, 2000).

Visando a preservação da qualidade do café, diversos estudos de melhoramento genético têm sido desenvolvidos, de forma a reduzir danos que possam ocorrer nas etapas de produção e processamento. Além disso, para a obtenção de um produto de qualidade, é necessária a avaliação da microbiota associada aos grãos em diferentes cultivares (PASIN; ALMEIDA; ABREU, 2009).

A identificação das espécies de fungos associadas ao café é de suma importância, e visa avaliar o papel da interação destas comunidades entre si, sob condições ambientais específicas, com o grão de café, que atua como substrato para o desenvolvimento dos mesmos. A partir dessas informações é possível prever os prováveis efeitos dessas interações sobre a qualidade do produto final, atentando-se também ao aspecto de segurança (CHALFOUN; CORRÊA, 2002).

Krug (1940a) foi responsável pelo desenvolvimento dos primeiros estudos sobre fungos envolvidos na qualidade do café. Seus estudos constataram que uma ou mais espécies de fungos foram responsáveis pela produção de mau gosto no café, principalmente aqueles provenientes de varrição. Concluiu ainda, que os fatores de calor e umidade foram de extrema importância para o desenvolvimento desses microrganismos (BATISTA, 2000).

A preocupação relacionada à presença de fungos associados ao café vai além da depreciação qualitativa, se estendendo também a questão da produção de metabólitos tóxicos, que comprometem a segurança do produto final (PASIN; ALMEIDA; ABREU, 2009). Segundo Wosiacki (1977) as principais espécies de fungos presentes em café produzido no Brasil são as do gênero *Colletotrichum*, *Rhizopus*, *Cladosporium*, *Aspergillus*, *Fusarium* e

Penicillium, sendo os três últimos produtores de micotoxinas (BATISTA; CHALFOUN; PRADO, 2001).

Em 1989, Chalfoun e Carvalho desenvolveram estudos que avaliavam a ocorrência da microbiota presente em frutos do café produzidos em diferentes locais de Minas Gerais, tipos de colheita e etapas de produção. Observou-se a contaminação superficial em frutos cereja de fungos dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium*. A intensificação de ataque desses fungos se deu nas etapas de secagem e beneficiamento, indicando que o beneficiamento do produto não foi eficaz na redução e eliminação desses microrganismos.

Meirelles (1990), em trabalho similar ao anteriormente mencionado, identificou presença elevada de fungos do gênero *Cladosporium*, além dos já identificados por Chalfoun e Carvalho (1989). A autora correlacionou a presença de fungos dos gêneros *Aspergillus* (principalmente *Aspergillus ochraceus* e *Aspergillus niger*) e *Fusarium* com cafés de baixa qualidade. Os cafés contaminados pelo gênero *Cladosporium*, apresentaram qualidade superior. Fungos do gênero *Penicillium* ocorreram com a mesma frequência em bebidas de diferentes qualidades.

Silva et al. (2000) avaliaram a presença de fungos em diferentes estágios de maturação dos frutos. *Penicillium crustosun* e *Fusarium stilboids* foram identificados em todos os estágios de maturação, já *Aspergillus niger* foram observados a partir do fruto passa. Algumas outras espécies foram identificadas, como *Penicillium citrinum*, *P. restrictun*, *P. implicatum* e *Fusarium semitectum*, sendo todos eles citados em literatura como produtores de ocratoxina A.

Em trabalho realizado por Pasin, Almeida e Abreu (2009), foram analisadas cinco cultivares de café: Catuí Amarelo, Mundo Novo, Acaiá, Rubi e Icatú, com o intuito de se verificar a microbiota associada interna e externamente aos grãos. Todas as plantas foram mantidas sob as mesmas condições de manejo e os grãos receberam o mesmo tratamento pós colheita.

Nas análises realizadas, foram detectadas nos grãos das diversas cultivares, oito espécies de fungos dos gêneros *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium* e *Cladosporium*. Verificou-se alta incidência de *Fusarium equiseti* na parte externa dos grãos de praticamente todas as cultivares, com exceção apenas da Mundo Novo. Apesar da presença de fungos do gênero *Fusarium*, nenhuma das cultivares apresentaram sintomas associados ao fungo, o que indica que a contaminação possivelmente ocorreu por conídios recém-germinados do fungo, disseminados por fatores físicos como vento, chuva ou insetos (PASIN; ALMEIDA; ABREU, 2009).

Pasin, Almeida e Abreu (2009) constataram ainda que a microbiota externa dos grãos é significativamente maior que a interna. De acordo com Krug (1940b), uma maior incidência de fungos no interior do grão de café possui influência direta em sua qualidade. Os resultados sugerem que a associação de espécies produtoras de ocratoxina A externamente a grãos não implica na síntese da mesma (PASIN; ALMEIDA; ABREU, 2009).

A ocorrência de contaminações internas está relacionada a danos causados por insetos, fungos fitopatogênicos, ácaros, condições climáticas adversas e a ruptura das estruturas de parede celular. No último caso, ocorrem alterações nas pectinas, celulose, hemicelulose e lignina nos frutos, compostos que conferem uma estrutura mais rígida aos frutos do café. Aos serem degradadas, os frutos do café ficam mais suscetíveis à ocorrência fúngica (PASIN; ALMEIDA; ABREU, 2009).

Em estudos realizados, Batista & Chalfoun (2007) evidenciaram a associação de espécies do gênero *Penicillium* em grãos de café, sendo que identificaram em grãos de café coletados no Sul de Minas Gerais as espécies *P. brevicompactum Dierckx*, *P. citrinum* Thom, *P. commune* Thom, *P. minioluteum* Dierckx, *P. variabile* Sopp, *P. expansum* Link e *P. corylophilum* Dierckx. Nos estudos realizados por Pasin, Almeida & Abreu (2009), *Penicillium variable* foi detectado nas amostras obtidas das cinco cultivares analisadas. Na cultivar Itacu, verificou-se a ocorrência de *Penicillium funiculosum* Thom. A cultivar Rubi, apresentou ocorrência de *Penicillium rugulosum* Thom.

As espécies de *Penicillium* e *Aspergillus* são normalmente associadas a grãos armazenados ou danificados, visto que "são adaptados a ambientes com baixa umidade e podem crescer em qualquer matéria orgânica que contenha grau de umidade em equilíbrio com a umidade do ambiente entre 65 e 90%" (PASIN, ALMEIDA; ABREU, 2009). Vários trabalhos relatam a ocorrência de *Aspergillus niger* Tiegh e *Aspergillus Ocharaceus* G. Wilh. (CARVALHO et al. 1997; PIMENTA; VILELA, 2003; BATISTA; CHALFOUN, 2007; PASIN; ALMEIDA; ABREU, 2009).

De forma geral, o desenvolvimento de fungos e a produção de micotoxinas estão relacionados a características físicas e químicas do substrato (LE BARS, 1982). Fujii et al. (2004) evidenciaram que a cafeína é um composto que exerce ação inibitória no crescimento de vários gêneros fúngicos. Segundo Buchanan et al. (1983), a cafeína possui ainda efeito antimicotoxigênico associado a atividade fungistática. Isso decorre devido à similaridade estrutural entre purinas e cafeína, ambos compostos cíclicos nitrogenados. A inibição competitiva entre os compostos, reduziria a síntese de ácidos nucléicos, afetando consequentemente o desenvolvimento fúngico (FUJII et al. 2004). Entretanto, o potencial

inibitório da cafeína não se aplica a todos as linhagens de fungos, sendo sua atividade altamente específica (TSUBOUCHI et al., 1983). O ácido tânico, outro constituinte químico do café também tem apresentado potencial inibidor das micotoxinas (HASAN, 1996).

2.4 FUNGOS DO GÊNERO ASPERGILLUS PRODUTORES DE OCRATOXINA A EM CAFÉ

Diferentes tipos de fungos filamentosos são relatados por crescerem em café verde, causando perda de qualidade, com a geração de odores e sabores desagradáveis e, em alguns casos, a produção de micotoxinas. A ocratoxina A (OTA) é a toxina mais comumente presente em grãos de café, sendo encontrada normalmente em baixas quantidades (NAIDU, 1996). Essa micotoxina pertence ao grupo de metabólito secundário, produzido na fase exponencial tardia ou início da fase estacionária de desenvolvimento fúngico (FUJII; ONO; HIROOKA, 2002). A figura 2 apresenta a estrutura das ocratoxinas e seus análogos.

Figura 2- Estruturas das ocratoxinas e seus análogos.

Fonte: Kawamura et al. (1989)

A ocratoxina A possui propriedades toxicológicas associadas a efeitos nefrotóxicos e ação teratogênica, citotóxica, imunotóxica, genotóxica, imunossupressora e possivelmente carcinogênica (FINK-GREMMELS; JAHM; BLOM, 1995; CREPPY, 1999). A nefrotoxidade ligada à ocratoxina A foi sustentada após um episódio de nefropatia endêmica disfunção crônica degenerativa que atingiu a população adulta da região dos Balcãs (STUDER-ROHR et al.,1995; PLESTINA,1996; STOEV, 1998). No ano de 2002, o envolvimento da ocratoxina A com casos de câncer testicular passou a ser sustentado pelo alto consumo de alimentos considerados como possíveis fontes da toxina (SCHWARTZ, 2002).

Diversas metodologias são utilizadas para a detecção e quantificação de ocratoxina A em café. A metodologia oficial atualmente aceita se baseia na extração com solventes

orgânicos, purificação da toxina com coluna de imunoafinidade e a detecção e quantificação por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) (SHARMAN et al., 1992).

A ocratoxina A é produzida principalmente por fungos dos gêneros Aspergillus e Penicilium. As espécies de Aspergillus predominam em regiões quentes e temperadas, enquanto os isolados de Penicilium são frequentes em áreas mais frias (FUTAGAMI et al., 2011). Entre as espécies de Aspergillus produtoras de ocratoxina A, a maior parte delas pertencem às seções Circundati, com destaque as pertencentes ao Grupos Ochraceus (Aspergillus ochraceus, Aspergillus sulphureus, Aspergillus petrakii e outros), e Nigri (Aspergillus cabonarius, Aspergillus foetidus e Aspergillus niger var niger) (BATISTA, 2000, HAYAT et al., 2012).

A espécie Aspergillus ochraceus já foi considerada como a principal fonte de ocratoxina A em regiões mais quentes, entretanto Aspergillus westerdijkiae, potencial produtor de ocratoxina A, é frequentemente encontrado em regiões tropicais, sendo um dos importantes produtores de ocratoxina A (FRISVALD et al., 2004). Em revisão realizada por Wang et al. (2016), os autores citam as espécies Aspergillus carbonarius, Aspergillus lacticoffeatus, Aspergillus niger, Aspergillus ochraceus, Aspergillus sclerotioniger, Aspergillus steynii e Aspergillus westerdijkiae como potenciais produtores de ocratoxina A em grãos de café.

Acontece que, nem todas as cepas das espécies possuem a propriedade de toxicidade (CHALFOUN; CORRÊA, 2002). Um exemplo disso é que entre isolados de uma mesma espécie, a produção de toxina pode variar mais de 1000 vezes (LE BARS; LE BARS, 1999). O desenvolvimento e biossíntese de ocratoxina A por fungos toxigênicos dependem de fatores ambientais como temperatura e umidade (KOGKAKI; NATSKOULIS; PANAGOU, 2016). Estudos que avaliam a influência desses fatores sobre o crescimento e produção de mixotoxinas por fungos filamentosos são úteis para a avaliação de risco potencial ou para fazer previsões futuras com base nas mudanças climáticas (AKBAR; MEDINA; MAGAN, 2016).

Nos últimos anos, setores ligados à importação e pesquisa na área de cafeicultura têm manifestado mais interesse quanto à qualidade micotoxicológica do café beneficiado, buscando formas de estimar o risco imposto aos consumidores pela ingestão de ocratoxina A, que possui grande influência na qualidade final do café. Porém, os dados disponíveis ainda são insuficientes para estabelecer níveis regulamentares a partir de avaliações científicas a respeito do risco que essa toxina causa à saúde humana (CHALFOUN; CORRÊA, 2002).

Resultados de pesquisas realizadas em vários países, utilizando diferentes tipos de amostras de café de diversas procedências, confirmam que a presença de ocratoxina A em grãos de café é rara, podendo o produto ser considerado uma fonte marginal de ocratoxina A na dieta, quando comparado a outros produtos vegetais, porém o risco oferecido pela mesma não deve ser ignorado (CHALFOUN; CORRÊA, 2002).

Apesar da ocorrência de ocratoxina A ser amplamente estudada e descrita na literatura, não são realizadas correlações entre o tipo e/ou origem do café e o conteúdo da toxina (ROMANI et al. 2000). A omissão dessas correlações dificulta na adoção de estratégias de segurança, podendo acontecer de países e regiões limitarem a exportação e comercialização interna do produto, levando a implicações sócio econômicas para os mesmos (CHALFOUN; CORRÊA, 2002).

Nesse sentido, sugere-se que não se utilizem de amostras apresentando sinais visíveis de deterioração no sentido de padronizar as pesquisas que visam estabelecer limites de variação da ocratoxina A em café. Segundo Teixeira (1999), os cafés podres são produzidos pelo excesso de umidade nos frutos quando em contato com o chão ou devido a condições inadequadas de armazenamento, como a presença de goteiras em armazéns. Condições como essa provocam a transferência de umidade para o café, o que acarreta o crescimento microbiológico e deterioração do grão. Esses cafés se encaixam na categoria dos não negociáveis, sendo impróprios para consumo (TEIXEIRA, 1999).

Entre os principais fungos produtores de ocratoxina A, pode-se citar o *Aspergillus ochraceus*, que se desenvolve em faixas de temperatura entre 8°C e 37°C, sendo a temperatura de crescimento ótimo em 31°C, e em pH de 3 a 10, com um mínimo de 2,2 (SWEENY; DOBSON, 1998). No caso do *Aspergillus ochraceus*, a atividade de água ideal para crescimento é de 0,95 a 0,99, sendo 0,80 a atividade de água ótima para a produção de ocratoxina A (SWEENY; DOBSON, 1998).

Entre os fungos do gênero *Penicillium*, o *Penicillium verrucosum* pode crescer em faixas de temperatura que variam entre 0° e 31°C. É um fungo xerofílico, sendo capaz de crescer em atividade de água de 0,80. Em relação ao pH, apresenta crescimento entre 2,1 e 10,0, com um crescimento ótimo entre 6,0 e 7,0. É capaz de produzir ocratoxina A em temperaturas variadas, com um ótimo de produção em 20°C (SWEENY; DOBSON, 1998). A Tabela 2 apresenta a comparação entre atividade de água ideal para crescimento e produção de ocratoxina A para diferentes espécies produtoras.

Tabela 2- Comparação de atividade de água mínima para crescimento e produção de ocratoxina A (OTA) das principais espécies produtores

Emásica	Misstarinas	Aa	
Espécies	Micotoxinas	Crescimento	Produção de toxina
A. ochraceus	OTA	0,77	0,80
P. verrucosum	OTA	0,80	0,86
P. viridicatum	OTA	0,81	0,97

Fonte: Do autor (2020).

Levi, Hugh e Mohr (1974) foram os responsáveis pela realização do primeiro trabalho que avaliava a presença de ocratoxina A em grãos de café beneficiado. Em suas pesquisas, das 68 amostras avaliadas, apenas três apresentaram contaminações, que variaram de 20m/Kg a 80m/Kg. Das 10 amostras que foram enviadas do Brasil para a realização do trabalho, nenhuma apresentou contaminação acima do limite de detecção do método.

Tsubouchi et al. (1984) analisaram 22 amostras de café, dentre as quais 4 apresentaram contaminação por ocratoxina A. Os níveis de contaminação variavam entre 9,9 e 46 μg/kg. Os autores concluíram a susceptibilidade de contaminação dos grãos de café por *Aspergillus ochraceus*, e subsequente contaminação por ocratoxina A. No ano de 1988, Tsubouchi et al. analisaram 78 amostras oriundas da Etiópia, Brasil, Guatemala, Colômbia, Costa Rica, Indonésia, Jamaica, México, Estados Unidos e alguns outros países. As amostras obtidas no Brasil não apresentaram contaminação por ocratoxina A.

Em pesquisas realizadas em 1997, Nakajima et al. encontraram como população fúngica predominante de grãos de café o Grupo *niger* e levantaram a possibilidade de membros do Grupo *Circundati* serem responsáveis, em parte, pela produção de ocratoxina A, visto que 6% dos isolados apresentaram a produção da micotoxina em meio de cultura. Chamaram atenção em especial para a espécie *Aspergillus foetidus*, que haviam sido mencionados anteriormente pelos autores como produtores de ocratoxina A.

Pittet et al. (1996) analisaram 101 amostras de café solúvel de vários países e de diferentes indústrias. Em 41 amostras, os níveis de ocratoxina A ficaram entre 0,2 e 1,0 μg/kg, em 18 amostras, foram obtidos níveis de contaminação acima de 2 μg/kg e em 9 amostras os níveis identificados ultrapassaram 3 μg/kg. Em 15 amostras de café solúvel adulterado, todas se encontravam contaminadas com níveis que variavam de 1,2 a 15,9 μg/kg, com uma média de 5,9 μg/kg. Baseado em dados toxicológicos da Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA), conclui-se através dos resultados obtidos nessa pesquisa que o café solúvel não é a maior fonte de ocratoxina A na dieta humana.

Em 2002, Batista conduziu uma pesquisa pioneira considerando-se a consistente presença dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* como componentes da microbiota fúngica associada a grãos de café. Nos estudos realizados, foram identificadas espécies de 188 isolados e determinou-se o potencial toxigênico dos isolados do gênero *Aspergillus* e *Penicillium* em relação a produção de ocratoxina A e de aflatoxina B1 e B2. O autor considerou ainda as diferenças apresentadas quanto ao potencial toxigênico entre espécies e dentro de uma mesma espécie. Os resultados obtidos são apresentados na Tabela 3.

De acordo com os dados apresentados pela pesquisa, observa-se dentre os isolados da seção *Circundati*, 74,67% apresentaram potencial toxigênico para ocratoxina A, o que confirma resultados obtidos anteriormente em pesquisas realizadas por Moss (1996), nas quais várias espécies apresentadas na seção *Circundati*, foram apresentadas como potencialmente toxigênicas (CHALFOUN; CORRÊA, 2002).

Tabela 3- Determinação do potencial toxigênico dos gêneros Aspergillus e Penicillium associados ao café (Coffea arabica L.)

	•	•	
Subgênero/Seção	Número de isolados	Número de isolados potencialmente toxigênicos	Micotoxina Produzida
Circundati/Circundati			
Grupo Aspergillus ochraceus			
Aspergillus ochraceus	41	27	Ocratoxina A
Aspergillus petrakii	01	01	Ocratoxina A
Aspergillus sclerotiorum	02	01	Ocratoxina A
Aspergillus sulphureus	23	22	Ocratoxina A
Aspergillus melleus	02	00	Não detectada
Aspergillus auricomus	01	01	Ocratoxina A
Aspergillus lanosus	01	00	Não detectada
Aspergillus insulicola	01	01	Ocratoxina A
Aspergillus ostianus	01	01	Ocratoxina A
Aspergillus elegans	02	02	Ocratoxina A
Total	75	56 (74,67%)	
Circundati/Nigri			Teste
Grupo Aspergillus niger			Ocratoxina A
Aspergillus niger var niger	08	00	Não detectada
Aspergillus niger vat awamori	13	00	Não detectada
Aspergillus foetidus	03	00	Não detectada
Total	24	00 (0,0%)	
Circundati/Flavi			
Grupo Aspergillus flavus			
Aspergillus flavus var flavus	17	06	Aflatoxinas B1e B2
Aspergillus flavus var columnaris	01	00	Não detectada
Total	18	06 (33,33%)	
Gênero/Espécies			Teste
•			Ocratoxina A
Penicillium aurantiogriseum	05	00	Não detectada
Penicillium brevecompactum	02	00	Não detectada
Penicillium citrinum	09	00	Não detectada
Penicillium corylophilum	01	00	Não detectada
Penicillium chrysogenum	02	00	Não detectada
Penicillium expansum	03	00	Não detectada
Penicillium glabrum	02	00	Não detectada
Penicillium solitum	01	00	Não detectada
Total	25	00 (0,0%)	Não detectada

Fonte: CHALFOUN, S.M.; CORRÊA, T.B.S. (2000)

Em relação aos isolados da seção *Nigri* (grupo *Aspergillus niger*), observa-se que nenhum dos isolados apresentou potencial toxigênico para produção de ocratoxina A, o que contraria estudos prévios realizados por Abarca et al. (1994) e Nakajima et al (1997), nos quais os fungos *A. niger var. niger* e *A. foetidus* foram relatados como potencialmente toxigênicos (CHALFOUN; CORRÊA, 2002).

Na seção Flavi, 6 isolados do fungo *A. flavus var. flavus* apresentaram potencial toxigênico para aflatoxina B1 e B2, enquanto isolados de *A. flavus var. columnaris* não apresentou potencial para produção das mesmas. Para a seção, isso indica que 33,3% dos fungos isolados comportaram-se como potencialmente produtores de aflatoxina B1 e B2.

Já os testes realizados quanto ao potencial toxigênico de fungos do gênero *Penicillium*, demonstram que dos 25 isolados, nenhum apresentou potencial para produção de ocratoxina A. Portanto, os resultados obtidos por Batista (2000) para fungos do gênero *Penicillium* condizem com os resultados obtidos por Pitt (1987), segundo os quais a única espécie de *Penicillium* produtora de ocratoxina A é o *Penicillium verrucosum* (CHALFOUN; CORRÊA, 2002).

Em 2015, Medina desenvolveu um trabalho com o objetivo de avaliar a contaminação por ocratoxina A em cafés torrados consumidos no Brasil. Para a execução das análises, foram coletadas 56 amostras, de 33 marcas diferentes, provenientes das regiões Norte, Nordeste e Sul do Brasil.

Das amostras coletadas, 73% apresentaram contaminação por ocratoxina A, com concentrações que variavam na faixa de 0,53 – 11,97 μg/kg, sendo a concentração média em 2,94 μg/kg. As amostras provenientes da região Sul apresentaram um percentual de contaminação de 75%, seguida da região Norte e Nordeste, que apresentaram 70% e 33,3% das amostras contaminadas, respectivamente. As amostras da região Norte obtiveram uma média de concentração de 3,71 μg/kg, a maior entre as três regiões. As regiões Sul e Nordeste obtiveram uma média de concentração de 2,72 e 1,05 μg/kg (MEDINA, 2015).

Baseada nos resultados obtidos referentes à concentração de ocratoxina A nos cafés avaliados, Medina calculou a ingestão média diária de OTA por uma pessoa de 60 Kg com o objetivo de comparar esses dados com o nível seguro aceitável de ingestão de OTA definido pela JECFA (100 ng/peso corpóreo/semana). Tendo esse valor como parâmetro, o nível aceitável de consumo de ocratoxina A por uma pessoa de 60 Kg seria de 857 ng/dia. A autora considerou um consumo diário de 4 xícaras de café, o que seria equivalente a 67,0 ng de ocratoxina A, valor que corresponde a 7,9% do nível seguro preconizado pela JECFA. Apesar

do valor encontrado ser inferior aos níveis de segurança, vale lembrar que o café não é a única fonte de ocratoxina A na dieta humana (MEDINA, 2015).

Medina avaliou também as embalagens buscando informações sobre a região produtora dos cafés em questão, encontrando apenas em 3 embalagens. A ausência dessa informação dificulta possíveis trabalhos da Vigilância Sanitária com a finalidade de monitoramento das regiões produtoras (MEDINA, 2015).

Em estudos realizados por Oliveira et al. (2019), foi avaliada a influência dos fatores temperatura e atividade de água na produção de ocratoxina A por cepa de *Aspergillus* em café do Sul de Minas Gerais. Foram utilizados quatro isolados toxigênicos: *Aspergillus carbonarius* CCDCA 10288 e 10293 e *Aspergillus ochraceus* CCDCA 10211 e 10212. A faixa de temperatura avaliada foi de 17-38°C e aw 0,91 a 0,99.

No trabalho em questão, nenhuma diferença de crescimento foi observada entre as cepas (OLIVEIRA et al., 2019). O melhor crescimento obtido foi observado na temperatura de 30°C e aw em torno de 0,99, faixa observada em outros estudos para *A. carbonarius* e *A. ochraceus* em meios de cultura à base de café (KOUADIO et al., 2007; OLIVEIRA et al., 2019). As condições nas quais a espécie apresentou maior risco de produção de ocratoxina A foram em aw entre 0,95 e 0,99 e temperatura entre 24°C e 32°C para *A. carbonarius* CCDCA 10288; aw entre 0,95 e 0,99 e temperatura entre 22 e 32 ° C para *A. carbonarius* CCDCA 10293; e aw entre 0,97 e 0,99 e temperatura entre 25 e 30 ° C para *A. ochraceus* CCDCA 10211 (OLIVEIRA et al., 2019).

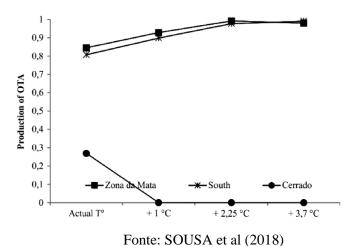
Nos últimos anos, os efeitos potenciais das mudanças climáticas na produção de micotoxinas têm despertado o interesse da comunidade científica (AKBAR; MAGAN, 2014; MAGAN; MEDINA; ALDRED, 2014). O Quinto Relatório de Avaliação do Painel Intergovernamental sobre Mudanças Climáticas (IPCC, 2013) relatou uma intensificação das mudanças climáticas com o aumento da temperatura média global. O documento apresenta a base científica para as mudanças climáticas globais, simulando quatro prováveis cenários que podem ocorrer até o ano de 2100, chamada de Concentração Representativa de Caminhos (RCPs). O cenário mais otimista prevê um aumento na temperatura do solo que pode variar entre 0,3 e 1,7°C de 2010 a 2100. A pior das hipóteses prevê um aumento de temperatura entre 2,6 e 4,8°C.

Esse aumento de temperatura possui influência direta no crescimento e produção de substâncias tóxicas por fungos filamentos, já que a temperatura é um dos fatores de maior influência na fisiologia desses microrganismos. Nesse contexto, ocratoxina A é uma das mais importantes relacionadas ao cultivo do café. Sousa et al (2018) desenvolveram estudos com o

objetivo de avaliar a distribuição de espécies toxigênicas e analisar a contaminação por ocratoxina A em amostras de café arábica considerando a influência da temperatura atual para prever os efeitos das projeções de aumento da temperatura. No trabalho desenvolvido, foram considerados os fungos das espécies *Aspergillus ochraceus* e *Aspergillus carbonarius*, isolados de cafés cultivados em diferentes regiões de Minas Gerais: Sul, Zona da Mata e Cerrado (SOUSA et al., 2018).

As temperaturas médias apresentadas por cada região são 21,75°C na região Sul, 22,15°C para a Zona da Mata e 29,4°C no Cerrado. O gráfico 1 abaixo nos mostra o comportamento do fungo *A. ochraceus* em relação à produção de OTA em função das projeções de variações de temperaturas em uma escala que varia de 0 a 1 (SOUSA et al., 2018). De acordo com Ramos et al. (1998), a faixa de temperatura ótima para a produção de OTA está entre 25 e 30°C. Dessa forma, nas temperaturas atuais, a região representada, com valores mais próximos de 1, foi a região da Zona da Mata, com valor de 0,84, seguida da Sul, com 0,80, enquanto a região do Cerrado possui um menor risco de produção de OTA, com valor de 0,26, conforme modelo (SOUSA et al., 2018).

Gráfico 1- Produção de ocratoxina A por *A. ochraceus* em função de projeções de variações de temperatura em três diferentes regiões de Minas Gerais.



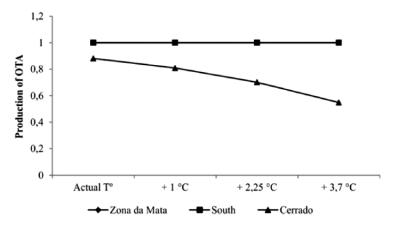
Com o aumento projetado em 1°C, uma projeção otimista, observa-se que a região da Zona da Mata se aproxima às condições ideais para a produção de OTA, seguido pelo Sul de Minas Gerais. Por outro lado, a região do Cerrado se torna inviável em termos de condições para a produção OTA, obtendo um valor de 0 no intervalo entre 0 e 1. De acordo com as projeções de aumento de temperatura em 2,25°C, observa-se que as regiões Zona da Mata e Sul de Minas Gerais, apresentam condições quase ótimas para a produção de OTA, visto que

os valores encontrados foram muito próximos à 1. No entanto, a região do Cerrado permanece apresentando condições desfavoráveis à produção de OTA, com valor igual a 0. Aumentando a temperatura em 3,7 C (projeção pessimista), as regiões Sul e Zona da Mata mantêm condições próximas às ótimas para a produção da micotoxina, e a região Cerrado permanece fora de risco para a produção de OTA (SOUSA et al., 2018).

Os resultados obtidos no estudo realizado e as projeções feitas por Assad et al. (2004) e o Intergovernmental Panel of Climate Change (IPCC, 2013), tornam possível afirmar, que a região do Cerrado é aquela com os menores riscos para a produção de ocratoxina A por A. *ochraceus* em todos os parâmetros de temperatura avaliados (SOUSA et al., 2018).

O gráfico 2 abaixo nos mostra o comportamento do fungo *A. carbonarius* em relação à produção de OTA em função das projeções de variações de temperaturas. Em relação aos valores atuais de temperatura média, e projeções otimista, mediana e pessimistas, os resultados mostram que as regiões Zona da Mata e Sul possuem as condições ideais para a produção de OTA por *A. carbonarius*. Já a região do Cerrado se tornaria menos favorável com o aumento gradual da temperatura propostas pelas projeções. Como as condições ecofisiológicas das espécies são diferentes para germinação, crescimento e produção de micotoxinas, seria possível encontrar isolados na região do Cerrado, mas eles não produziriam necessariamente OTA (SOUSA et al., 2018).

Gráfico 2- Produção de ocratoxina A por A. carbonarius em função de projeções de variações de temperatura em três diferentes regiões de Minas Gerais



Fonte: SOUSA et al (2018)

2.5 OCRATOXINA A EM CAFÉ TORRADO E MOÍDO

2.5.1 LEGISLAÇÃO BRASILEIRA

O fato de a ocratoxina A ser uma micotoxina com ação nefrotóxica e carcinogênica a torna uma barreira comercial em produtos alimentícios, principalmente o café. Devido à sua importância como contaminante do café e por trazer riscos à saúde do consumidor, o mercado comprador vem exigindo níveis cada vez menores do contaminante no produto (FREITAS-SILVA et al, 2001).

Em 2001, o Joint Expert Committe on Food Adittives (JECFA), juntamente com a FAO, estabeleceram que a ingestão semanal tolerável de ocratoxina A deve ser mantida em 100 ng/Kg de peso corpóreo. A União Europeia, através do Scientific Commission on Food (SCF), sugere que o nível de consumo da micotoxina seja o menor possível, no intervalo de 1,2 e 14 ng/Kg de massa corpórea/dia, o equivalente a 35 ng/Kg de massa corpórea por semana (GOLLUCKE; TAVARES, 2004).

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) estabelece, através da RDC n° 7, de 18 de fevereiro de 2011, o limite máximo tolerado de ocratoxina A em café torrado (moído ou em grão) e café solúvel em 10 μg/Kg. A partir da sinalização das instituições reguladoras dos níveis aceitáveis de micotoxinas em alimentos (Codex Alimentarius, JECFA) de estabelecer limites máximos de ocratoxina A em café, o Brasil tem se organizado no desenvolvimento de pesquisas de forma a proporcionar um posicionamento da cafeicultura brasileira mediante ao problema da toxina no produto (CHALFOUN; CORRÊA, 2002).

Tem-se intensificado também as ações com relação a padronização e validação de metodologias e rotinas analíticas para análise de micotoxinas, dotando de uma rede de laboratórios oficiais de infraestrutura, tanto material, quanto de mão de obra, que realizam a emissão de laudos relatando o nível de toxinas em café beneficiado, visando atender as exigências dos países importadores (CHALFOUN; CORRÊA, 2002).

A Comissão Européia não fixou limites máximos estabelecidos para ocratoxina A em café, possuindo apenas uma recomendação (CE 22/12/1998, n°26), na qual o nível de referência sugerido é de 3ppb em café torrado e moído e 8 ppb para o café verde. Entretanto, alguns países da União Europeia aplicam limites legais para a OTA, como a Itália (8ppb para café beneficiado e 4 ppb para produto final), Finlândia (10ppb), Grécia (20 ppb), República Tcheca (20μg/kg) e Romênia (5μg/Kg).

2.5.2 EFEITO DA TORRAÇÃO

Os dados referentes à influência da torra e operações subsequentes em relação a quantidade de ocratoxina A ainda são bastante controversos. Apesar disso, a maioria refere que ocorrem reduções significativas nos níveis da micotoxina no processo de torra (MARTINS, 2003).

Em 1974, Levi, Trenk e Mohr concluíram que o nível de ocratoxina A em café verde era reduzido em cerca de 77-87% em uma operação de torra típica (20 minutos a 200±5°C). Em estudos realizados por Cantafora et al. (1983), não foi possível detectar a presença de OTA em amostras de café verde naturalmente contaminadas (3,8 e 23,0 ppb) e submetidas a torração. Micco et al. (1989) observaram a redução do nível de OTA em 90-100% após submeterem a torra duas amostras de café naturalmente contaminadas (4,0 e 8,6 μg/kg).

Cantáfora et al. (1983) analisaram 40 amostras de grãos de café utilizando CLAE. Das amostras analisadas, 9 apresentaram contaminação por ocratoxina A em concentrações que variavam de 0,5 a 23 µg/kg. Após o processo de torra, 90% da toxina foi eliminada. Esse fato, associado aos baixos níveis detectados na análise inicial, levaram os autores a concluírem que o risco de consumo de ocratoxina pelo café é muito pequeno.

Em contrapartida a pesquisas que indicam grande redução nos níveis de ocratoxina A no café após passar pelo processo de torra, Tsubouchi et al. (1988), constataram que o nível de OTA foi apenas parcialmente reduzido, cerca de 0-12%, em grãos de café artificialmente contaminados e submetidos ao processamento térmico (10-20 minutos a 200°C). Nesse caso, observou-se também que praticamente toda a ocratoxina A presente nos grãos, foi passada à bebida. Em uma operação de torra a tempo reduzido (3 minutos), Studer-Rohr et al. (1995) verificaram que o nível de contaminação por OTA se reduzia em apenas 14-62%. Constataram também a transferência da micotoxina para a bebida.

Em pesquisa realizada por Blanc et al. (1998), investigou-se a evolução da ocratoxina A em um lote de café verde, correspondente a 50 sacos de 60 kg. As concentrações da micotoxina encontradas inicialmente nos sacos de café, sem nenhum tipo de tratamento prévio variavam de 4,0 a 22,1 μg/kg, com uma concentração média de 7,3 μg/kg. Observou-se que a redução mais significativa nos níveis de OTA aconteceu no processo de torra, pelo calor e pela eliminação da película prateada. Entretanto, o processo de limpeza dos grãos também contribuiu ligeiramente na diminuição da contaminação inicial. Após passar por todos os processos, o café torrado e moído ainda continha cerca de 16% da ocratoxina presente inicialmente no lote. Analisou-se também a passagem 80% de OTA para a bebida.

Em cinco estudos realizados por Studer Rohr et al. (1994) a respeito do destino da ocratoxina A durante o processo de torração, chegou-se a uma opinião contraditória. Em quatro de cinco estudos realizados, observou-se uma variação na taxa de destruição da micotoxina que variava entre 50 e 100%. Em um único trabalho, a taxa de destruição ficou em 10%.

Heilmann et al. (1999) confirmou que além da torra, o processo de descafeinização é um método eficaz descontaminação e redução de ocratoxina A. Stegen, Essens e Lijn (2001) observaram a redução de OTA de 69% em estudo realizados sobre o efeito da torra. A maior redução nos níveis da ocratoxina A ocorreu em amostras submetidas a torra severa (10 minutos a 240°C). A diferença de valores entre os diversos estudos realizados pode ser justificada pela escolha do método mecânico de mistura dos grãos verdes de café, de forma a compensar a distribuição heterogênea de OTA no café.

Em 2003, Romani, Pinnavaia e Rosa avaliaram o efeito das diferentes condições de torra (leve, média e escura) nos níveis de OTA de 4 amostras de café verde naturalmente contaminado. De forma geral, verificaram a redução no teor da micotoxina após a torra. Observou-se que a maior redução se deu nas amostras mais contaminadas, diminuindo em 70% o nível de contaminação após submetidas a torra leve. No caso do processo de torra severa, observou-se uma redução superior a 90% na contaminação por ocratoxina A nas 4 amostras.

Stegen van der, Essens e Lijn van der (2001) descobriram que uma redução maior de OTA ocorre com o aumento do tempo de torrefação em tons mais escuros. Esta descoberta pode estar relacionada ao aumento temperatura da torra do processo, visto que quanto mais alta a temperatura, maior a redução da OTA com o tratamento térmico (HEILMANN; REHFELDT; ROTZOLL, 1999; STUDER-ROHR et al.,1995).

Oliveira et al. (2013) avaliaram o efeito de diferentes níveis de torra e tamanhos de partículas na concentração residual da ocratoxina A em grãos de café torrados e moídos para a preparação da bebida. Foram avaliados 20 quilos de café arábica classificado como bebida forte e com umidade inicial de 11%. Cem grãos de café foram avaliados sem desinfecção superficial e cem com desinfecção superficial conforme descrito por Samson et al. (2000).

Os grãos de café foram submetidos a 3 níveis de torrefação diferente: claro, médio e escuro. A amostra submetida à torra clara foi exposta por 13,5 minutos a uma temperatura de 205°C, a amostra de torra média foi exposta por 14 minutos a uma temperatura de 217°C, e a amostra de torra escura foi exposta por 14 minutos a uma temperatura de 224°C (OLIVEIRA et al., 2013). Os cafés foram moídos em 3 diferentes tamanhos de partículas (finas, médias e

grossas), de acordo com o Programa de Qualidade do Café (Programa de Qualidade do Café, Associação Brasileira da Indústria de Café- ABIC, 2011). Os dados foram analisados de acordo com os Testes de Turkey (OLIVEIRA et al., 2013).

A combinação de torrefação clara e o tamanho de partícula grosseira produziu o menor valor OTA residual entre os tratamentos envolvendo torra leve, com 73,93% redução. O menor valor residual de OTA também foi observado na combinação de torra média e tamanho de partícula grossa, com 92,22% de redução de OTA. Os cafés com tamanho de partículas grossas produziram os valores médios mais baixos para a concentração de OTA, independentemente do nível de torra. A menor concentração de toxina resultou da combinação de torrado escuro e granulometria grossa, com valor médio de 3,06 μg/kg. Esta amostra continha uma média de 2,83% de OTA residual, com uma redução de 97,17% no nível de OTA (OLIVEIRA et al., 2013). A relação entre o teor de ocratoxina A e o tamanho das partículas pode ser explicado pela velocidade de extração de solúveis, visto que quanto mais moído for o grão de café, maior a superfície de contato no momento de preparo da bebida (CARVALHO; CHALFOUN, 1985).

As explicações mais plausíveis para a redução da ocratoxina A durante a torra são: degradação térmica, remoção da película prateada e isomerização da OTA na posição C3, transformando-se num diasteómero de baixa toxicidade (MARTINS, 2003). Através dos estudos analisados, observa-se também a solubilidade da ocratoxina A em água quente (MARTINS, 2003).

2.6 OCRATOXINA A, DEFEITOS DO CAFÉ E SUA INFLÊNCIA NA QUALIDADE

Os grãos de café podem apresentar defeitos tanto de natureza intrínseca quanto de natureza extrínseca. Os defeitos de natureza intrínseca são denominados grãos alterados e ocorrem devido a aplicação inadequada de processos agrícolas (preto, ardido, verde, preto verde, verde escuro, entre outros), ou por modificações fisiológicas ou genéticas dos grãos (miolo de concha, concha, chocho e outros). Já os defeitos de natureza extrínseca ocorrem devido à presença de elementos estranhos ao café, como coco, marinheiro, cascas, paus e pedras. Todos esses defeitos ocasionam na desvalorização do produto no momento da comercialização. Ademais, alguns defeitos ocasionam na perda de peso dos grãos, provocando também um prejuízo econômico, e alterações nas características sensoriais da bebida, o que ocasiona em uma bebida de qualidade inferior (TANIWAKI et al., 2007).

Bucheli et al. (1998) desenvolveram estudos para analisar a relação entre a presença de ocratoxina A em cafés estocados em diferentes tipos de silos. Em todas as amostras analisadas, compostas por café robusta, foram identificadas a presença de ocratoxina A, com níveis médios de 4,9 μg/kg em silos aerados, 4,5 μg/kg em silos com ar condicionado, 2,8 μg/kg em silos não aerados e 1,9 μg/kg em sacos de armazéns. As diferenças no nível de contaminação identificadas entre estocagens feitas em silos ou em sacos, parecem estar relacionadas à quantidade de defeitos, visto que era constantemente menor em sacos (12%) do que em silos (18%). Dessa forma, os autores concluem também que a fonte e o processamento pós colheita podem afetar a quantidade de defeito nos grãos. Os dados obtidos nas análises também indicam fortemente que a contaminação por ocratoxina A não é resultado do armazenamento, mas provavelmente contribuiu junto ao fator de processamento do café.

Em estudos realizados por Vargas et al. (2005), foram coletadas 762 amostras de café oriundos de diferentes estágios da pré e pós-colheita em diferentes regiões do Brasil. Das 762 amostras coletadas, 60 amostras foram classificadas e separadas por defeitos, de acordo com a Classificação Brasileira, nos seguintes tipos de defeitos: preto, ardido, brocado, brocado azulado, malformado, concha e miolo de concha, verde, melado, dentre outros. Todas as amostras e subamostras foram classificadas quanto a presença da ocratoxina A, a influência e o impacto do processamento do café, e a relação entre defeitos e a contaminação por ocratoxina A.

Nesse estudo, concluíram que a presença de defeitos impacta de forma negativa e significativa na presença de ocratoxina A em café. Os grãos de café que mais contribuíram para incidência e níveis de OTA foram aqueles que apresentaram como defeitos: ardido, brocado azulado, brocado, preto e malformado. Já os defeitos pretos, paus, marinheiro e brocado azulado estavam presentes em amostras com taxa de contaminação acima de 5 ng/g.

Em pesquisas realizadas por Taniwaki et al. (2007), foram coletadas amostras de resíduos de café arábica provenientes de duas regiões produtoras: Patrocínio (MG) e Pirajú (SP). Os defeitos dos cafés foram separados em: meio preto, verde escuro, verde, preto-verde, preto e ardido. A partir desses grãos, analisou-se a presença de fungos ocratoxigênicos e de ocratoxina A nos defeitos de cafés. Os resultados obtidos são apresentados nas Tabelas 4 e 5. Através das tabelas, é possível observar que os defeitos ardido e preto apresentaram maior porcentagem de contaminação por fungos ocratoxigênicos e por ocratoxina A. Segundo os autores, grãos com esse tipo de defeito não deveriam ser usados para bebida e sugerem a produção de biocombustível como uma finalidade para os mesmos.

Tabela 4- Porcentagem de infecção por fungos ocratoxigênicos nos defeitos de cafés de Patrocínio e Piraju

Tipo de defeito	A carbonarius	A niger	A westerdijkiae
Patrocínio:			-
Preto	10	24	24
Verde	8	28	10
Preto verde	6	34	22
Ardido	10	29	30
Pirajú:			
Preto	-	-	33
Verde	-	-	3
Preto verde	-	-	6
Ardido	-	6	9

Fonte: TANIWAKI, M.H. et al. (2007)

Tabela 5- Teores de ocratoxina A (µg/kg) nos defeitos de café de Patrocínio e Pirajú.

Defeitos de café	Patrocínio Ocratoxina A (μg/kg)	PirajúOcratoxina A (μg/kg)
Preto	0,49	25,66
Verde	ND^2	0,35
Preto verde	0,39	0,30
Ardido	11,35	0,33

Fonte: TANIWAKI, M.H. et al. (2007)

Um dos defeitos comumente associado ao desenvolvimento fúngico e produção de micotoxinas é o de grãos brocados. A broca do café (*Hypothenemus hampei*) é a mais importante praga encontrada nesse tipo de agricultura e causa prejuízos avaliados em cerca de 500 milhões de dólares em todos os países produtores do mundo (VEGA et al., 2002, 2015). O dano começa quando a fêmea penetra nos grãos ainda no pé para a colocação de ovos. Quando as larvas eclodem, passam a se alimentar do endosperma do grão, criando galerias (RODRIGUEZ et al., 2013, 2017; VEGA et al., 2009). Além dos danos econômicos gerados, essas perfurações favorecem a contaminação por fungos, podendo os próprios insetos serem carreadores de fungos toxigênicos (AMÉZQUETA et al. 2009; PATERSON; LIMA, 2010).

No ano de 2020, Silva et al. (2020) desenvolveram pesquisas com o objetivo de identificar fungos toxigênicos associados à grãos de café brocados. As amostras utilizadas no estudo apresentavam altos índices de contaminação e foram coletadas de duas diferentes regiões de Minas Gerais (Cerrado e Sul de Minas). Esses grãos foram classificados de acordo com o número de perfurações no grão e presença/ausência de variação de cor no interior das galerias, o que resultou em quatro categorias para cada região: controle, danificados limpos, danificados sujos I e danificados sujos II. Parte das amostras foram desinfetadas em etanol 70% e hiplocrito de sódio (SILVA et al., 2020).

Nos resultados obtidos, os autores identificaram alta porcentagem de contaminação fúngica (95 a 100%) entre os grãos de café não desinfetados da região Cerrado, sendo a contaminação independente do grau de infestação nos grãos. Para a região do Sul de Minas, identificou-se uma variação maior, na qual os grãos danificados limpos apresentaram nível de contaminação entre 54 e 70%, enquanto os outros níveis variaram de 67 a 100% de infestação (SILVA et al., 2020).

No caso dos grãos de café desinfetados, as amostras de ambas regiões com maior nível de infestação de broca apresentaram maior porcentagem de contaminação, sendo os grãos provenientes da região Sul de Minas em menor escala (SILVA et al., 2020). A maior porcentagem de contaminação dos grãos de café do Cerrado pode estar associada ao clima, uma vez que as duas regiões apresentam temperaturas médias, precipitação e umidade anuais distintas. Outros fatores que também desempenham papéis importantes na contaminação dos grãos são os hábitos de controle e boas práticas agrícolas, na pré e pós colheita (PATERSON; LIMA; TANIWAKI, 2014).

Foram isolados um total de 374 dos grãos de café, sendo 239 de grãos não desinfetados, e 135 de grãos superficialmente desinfetados. A maioria dos fungos isolados pertenciam ao gênero *Aspergillus*, e se apresentaram de forma bem distribuída em todos os níveis de infestação. Outro microrganismo de alta incidência no trabalho em questão, foi o *Fusarium stilboides*, gênero comumente associados aos grãos de café (SILVA et al., 2020).

Entre os fungos isolados, quatro espécies apresentaram potencial toxigênico para a produção de ocratoxina A: *Aspergillus niger*, nos quais 11,3% eram produtores de OTA, *Aspergillus ochraceus* (40%), *Aspergillus* seção *Circumdati* (38,5%) e *Aspergillus ostianus* (100%). Em relação à presença de ocratoxina A nas amostras analisadas, para a região do Sul de Minas, não foi detectada a presença da micotoxina nos grãos, independentemente do nível de infestação. Já nas amostras provenientes do Cerrado, conteúdos de ocratoxina A foram detectados em todos os níveis de infestação, sendo as categorias danificados sujos I e II as de maior teor, com médias de 57,8 e 52,3 μg/kg, respectivamente. Tais fatos, levam à conclusão de que quanto maior a incidência de fungos, maior o teor de toxinas (SILVA et al., 2020).

A relação entre o nível de infestação da broca do café e o aumento da contaminação fúngica prova que o inseto pode induzir a um maior nível de contaminação dos grãos (SILVA et al., 2020). Em 2003, Pérez et al. isolaram fungos potencialmente toxigênicos, como *Aspergillus niger* e *A. ochraceus*, da cutícula de insetos de duas regiões do México, o que comprova que os insetos podem transportar fungos que trazem riscos à saúde humana.

De forma geral, observa-se a partir dos estudos mencionados anteriormente a influência entre defeitos nos grãos de café e os níveis de ocratoxina A, assim como seu impacto negativo na qualidade do café.

2.7 MEDIDAS PREVENTIVAS

2.7.1 APPCC

O mercado consumidor e as agências de controle e fiscalização vêm sendo cada vez mais exigentes em relação à segurança e qualidade dos alimentos. Qualquer tipo de alimento está sujeito a ser exposto a contaminantes em qualquer etapa do processo produtivo, como processamento, embalagem, transporte, armazenamento e consumo (FREITAS-SILVA et al, 2001). Para garantir o acesso a alimentos seguros e de qualidade à todas as pessoas, é necessário que se encontre o equilíbrio entre os padrões globais de micotoxinas e uma viabilidade realista para alcançá-los, considerando as limitações dos produtores e projetando estratégias para reduzir a exposição à micotoxinas com base em pesquisas sólidas (MARROQUÍN-CARDONA et al., 2014).

Nesse contexto, a Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) foi introduzida com o objetivo de promover a segurança alimentar da fazenda à mesa reduzindo os perigosos químicos, físicos e biológicos (LEE et al. 2001). Essa ferramenta se caracteriza como a principal forma de prevenção da incidência de fungos e consequente contaminação por micotoxinas em café (FREITAS-SILVA et al, 2001). É uma abordagem estruturada e sistemática para o controle da segurança alimentar em todo o sistema de commodities, do arado ao prato. Requer um bom entendimento de a relação entre causa e efeito para maior próatividade e é um elemento chave na Gestão Total da Qualidade Total (AIKO; MEHTA, 2015).

O método possui caráter preventivo e tem como objetivo a análise, controle e monitoramento de todas as etapas da cadeia produtiva, sendo aplicável desde os sistemas produtivos até o consumidor final (FREITAS-SILVA et al, 2001). O sistema APPCC tem sido cada vez mais utilizado pela indústria de alimentos e pelas autoridades oficiais de controle de alimentos para prevenir e controlar os riscos associados à potencial contaminação de alimentos e produtos com microrganismos patogênicos e tóxicos químicos (AIKO; MEHTA, 2015).

O APPCC baseia-se em sistemas de gestão de qualidade bem estabelecidos, como Boas Práticas de Fabricação (BPF), Boas Práticas de Higiene (BPH), Boas Práticas Agrícolas (BPA) e Boas Práticas de Armazenamento (FAO, 2001). A adoção desses sistemas de gestão abrange aspectos que englobam desde as condições de produção até as instalações de armazenamento e beneficiamento, passando inclusive por higiene pessoal para a manipulação do produto (FREITAS-SILVA et al, 2001).

Ao aplicar o conceito de APPCC para o gerenciamento da probabilidade de efeitos adversos à saúde causados pela exposição à micotoxinas, o país deve considerar fatores como clima, sistemas agrícolas, tecnologias de pré-colheita e pós-colheita, conformidade do produtor, a disponibilidade de recursos e até a economia (AMÉZQUETA et al., 2009). Em um sistema de gestão integrado ideal que incorpora os conceitos de APPCC, as micotoxinas seriam minimizadas em todas as fases da produção, colheita, processamento e distribuição (FAO / OMS / UNEP, 1999c).

De acordo com Freitas-Silva et al. (2001), o sistema de APPCC é composto por sete princípios básicos:

- 1. Análise de perigos e medidas preventivas;
- 2. Identificação dos pontos críticos de controle.
- 3. Estabelecimento dos limites críticos.
- 4. Estabelecimento dos processos de monitorização dos pontos críticos de controle.
 - 5. Estabelecimento das ações corretivas.
 - 6. Estabelecimento dos procedimentos de verificação.
 - 7. Estabelecimento de procedimentos de registros.

Em relação às Boas Práticas Agrícolas, as mesmas devem ser aplicadas antes mesmo da aplicação do Sistema de APPCC, de forma a minimizar os possíveis pontos críticos de controle da cadeia do café. Na aplicação dessa ferramenta no cultivo e processamento de café devem ser considerados os diferentes tipos de perigos que afetam a segurança do consumidor final e os aspectos de qualidade do produto (FREITAS-SILVA et al, 2001).

Etapas como colheita, secagem, armazenamento e transporte são consideradas na análise destes perigos. Nesse sentido, um dos fatores a ser analisado são as condições ambientais da região de cultivo, para que baseado nessas informações, se selecione uma variedade mais adaptada, o sistema de cultivo a ser adotado, a forma de colheita e processamento dos grãos. A análise de condições de infraestrutura utilizada na produção

também se torna fator importante, considerando-se pontos como disponibilidade de energia elétrica, pré secadores e secadores mecânicos, lavadores, tulhas e máquinas de beneficiamento (CHALFOUN; CORRÊA, 2002).

Em relação à mão de obra utilizada, essa deve ser capacitada de acordo com cada etapa do processo produtivo, seja ela de processamento, transporte, armazenamento, industrialização ou comercialização. A eficiência das operações de cada etapa deve ser monitorada para que se analise se os critérios de execução estão sendo cumpridos (CHALFOUN; CORRÊA, 2002).

No processo de secagem do grão, seja por via seca ou úmida, por exemplo, se torna necessário o controle de umidade e atividade de água em todas as etapas do processo para minimizar possíveis contaminações por fungos produtores de ocratoxina A (FREITAS-SILVA et al, 2001). Em um plano de APPCC desenvolvido por Freitas-Silva et al. (2001) são listados alguns fatores relacionados à pós colheita do café.

Um dos perigos identificados é a disposição inadequada do café no terreiro de secagem, o que propicia o desenvolvimento de microrganismos e fermentação indesejada dos grãos. A disposição do café em camadas finas (3 a 4 cm) e o revolvimento hora a hora do mesmo é uma medida preventiva que permite a secagem uniforme dos grãos e evita o desenvolvimento microbiológico (FREITAS-SILVA et al, 2001).

Outro ponto pontuado por Freitas-Silva et al. (2001) é o descuido após o estágio de meia seca e finalização da seca dos grãos, deixando-os suscetíveis à contaminação quando ainda úmidos (umidade $\leq 30\%$) e à quebra caso fiquem muito secos (umidade $\leq 12\%$). Para que isso não ocorra, deve-se enleirar o café no sentido da declividade e cobrir com lona ao anoitecer, e ao amanhecer, descobrir e desfazer as leiras. Essas medidas irão evitar que o café que os grãos fiquem expostos à umidade noturna e chuvas.

No ano de 2008, Lopez-Garcia, Mallmann e Pineiro desenvolveram um modelo geral de APPCC representando as principais etapas de produção de café no Equador, conforme mostrado na Figura 3. Apesar de representar o Equador, o esquema nos possibilita avaliar as etapas de forma geral, visto que apresenta semelhanças com o processo produtivo brasileiro. Através do fluxograma, observa-se que os pontos críticos de controle se encontram nas etapas de secagem e armazenamento. Em todas as etapas existe o risco de fungos toxigênicos, e consequentemente de ocratoxina A (LOPEZ-GARCIA; MALLMANN; PINEIRO, 2008).

Colheita Secagem Armazenamento Transporte Recepção Classificação Secagem Armazenamento Transporte Recepção Blendagem Exportação Armazenamento geral Processamento Consumidor industrial final (PCC)

Figura 3- Fluxograma geral de produção de café mostrando os principais pontos críticos de controle

Pré colheita

Fonte: Do autor (2021)

Nas etapas de secagem, o monitoramento da qualidade dos grãos pode ser realizado através de análise sensorial ou de umidade dos grãos. Como medidas corretivas à contaminação durante o processo, os autores citam o uso de secadores mecânicos, a redistribuição das camas para que se obtenha a profundidade desejada e a segregação do produto. Em relação à etapa de armazenamento, o monitoramento de qualidade deve ser realizado de forma laboratorial no momento de recepção do produto. A medida corretiva a ser tomada em caso de identificação de altos teores de ocratoxina A é a segregação do produto (LOPEZ-GARCIA; MALLMANN; PINEIRO, 2008).

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Através dos temas abordados, observa-se que a presença de ocratoxina A em grãos de café está diretamente associada à sua baixa qualidade, sendo essa afetada por condições de cultivo, processamento e armazenamento.

Dessa forma conclui-se que a melhor forma de controlar o desenvolvimento de microrganismos com consequente produção de micotoxinas é através da aplicação do sistema de APPCC durante todas as etapas do processo produtivo e armazenamento. A aplicação do sistema irá garantir um produto de qualidade e seguro para o consumidor final.

4 REFERÊNCIAS

ABARCA, M. L.; ACCENSI; BRAGULAT, M. R.; CABAÑES, F. J. Current importance of fungal ochratoxin A producing Aspergillus spp. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 64, n. 6, p. 903-906, 2001.

ABARCA, M. L.; BRAGULAT, M. R.; CASTELLA, G.; ACCENSI, F.; CABANES, F. J. New ochratoxigenic species in the genus Aspergillus. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 60, p. 1580-1582, 1997.

ABARCA, M. L.; BRAGULAT, M. R.; CASTELLA, G.; CABANES, F. J. Ochratoxin A production by *Aspergillus niger* var. *niger*. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, D.C, v. 60, p. 2650-2652, 1994.

ABDEL-HAFEZ, A. I. I.; EL-MAGHRABY, O. M. O. Fungal flora and aflatoxin associated with cocoa, roasted coffee and tea powders in Egypt. **Cryptogamie Mycology**, Paris, v. 13, p. 31-45, 1992.

ABRAMSON, D.; SINHA, R. N.; MILLS, J. T. Mycotoxin formation in HY-320 wheat during granary storage at 15 and 19 % moisture content. **Micopathologia**, v. 111, p. 181-189, 1990.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Resolução da Diretoria Colegiada**- RDC n°7 de 18 de fevereiro de 2011.

AIKO, V.; MEHTA, A. Occurrence, detection and detoxification of mycotoxins. **J Biosci**, v. 40, n. 5, p. 943-954, 2015.

AKBAR, A.; MAGAN, N. The impact of water and temperature interactions on lag phase, growth and potential ochratoxin A production by two new species, Aspergillus aculeatinus and A. sclerotiicarbonarius, on a green coffee-based médium. **International Journal of Food Microbiology**, v. 188, p. 116–121, 2014.

AKBAR, A.; MEDINA, A.; MAGAN, N. Impact of interacting climate change factors on growth and ochratoxin A production by Aspergillus section *Circumdati* and *Nigri* species on coffee. **World Mycotoxin Journal**, v. 9, n. 5, p. 864-874, 2016.

ALVES, E. População fúngica associada ao café (Coffea arabica L.) beneficiado e às fases pré e pós-colheita: relação com a bebida e local de cultivo. 1996. 48 p. Dissertação de (Mestrado) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, Minas Gerais.

AMÉZQUETA, S. et al. Ochratoxin A descontamination: A review. **Food Control**, v. 20, p. 326-333, 2009.

AMORIM, H. V.; CRUZ, A. R.; DIAS, R. M.; GUTIERREZ, L. E.; TEIXEIRA, A. A.; MELLO, M. Transformação químicas e estruturais durante a deterioração da qualidade do café. In: Congresso Brasileiro de Pesquisas Cafeeiras, 26., 1997, Guarapari. **Resumo...** Guarapari: p. 15-18, 1977.

ASSAD, E. D. et al. Climatic changes impact in agroclimatic zonning of coffee in Brazil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, n. 11, p. 1057-1064, 2004.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DE CAFÉ— ABIC. **Norma de qualidade recomendável e boas práticas de fabricação de cafés torrados e moídos.** 2011.

BATISTA, L. R. Identificação, potencial toxigênico e produção de micotoxinas associados a grãos de café (Coffea arábica L.). UFLA, 2000. 188p. (Dissertação-Mestrado em Ciência dos Alimentos).

BATISTA, L. R.; CHALFOUN, S. M.; PRADO, G. Identificação de espécie de fungos da seção *Nigri* (Grupo *Aspergillus niger*) associados a grãos de café verde avaliação do potencial de produção de ocratoxina A. In: Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil, 1., 2000, Poços de Caldas, Minas Gerais. **Resumos...** Poços de Caldas: Embrapa Café, 2000. p. 205-207.

BATISTA, L. R.; CHALFOUN, S. M.; PRADO, G. Ocratoxina A em grãos de café beneficiados e sua relação com o padrão da bebida. In: Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil, 2., 2001, Vitória, ES. **Resumos...** Brasília, D.F.: Embrapa Café, 2001, 181p.

BATISTA, L. R.; CHALFOUN, S. M.; PRADO, G. Avaliação do potencial ocratoxigênico de espécies da seção *Circundati* isoladas de grãos de café beneficiado na região sul do estado de Minas Gerais. In: Congresso de Micologia, 3., 2001, Águas de Lindóia, São Paulo. **Resumos...** Águas de Lindóia: Sociedade Brasileira de Micologia, 2001.

BATISTA, L. R.; CAHLFOUN, S. M. Incidência de Ocratoxina A em diferentes frações do café (*Coffea arabica* L.) Bóia, mistura e varrição após secagem em terreiros de terra, asfaltado e cimento. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, p. 804-813, 2007.

BLANC, M. et al. Behavior of ochratoxin A during green coffee roasting and soluble coffee manufacture. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, p. 673-675, 1998.

BUCHANAN, R. L.; HARRY, M. A., GEALT, M. A. Caffeine inhibition of steigmatocystin, citrinin, and patulin production. **Journal of Food Science**, v. 48, p. 1226-1228, 1983.

BUCHELI, P. et al. Industrial storage of green robusta under tropical conditions and its impact on raw material quality and ochratoxin A content. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 46, n. 11, p. 4507-4511, Nov. 1998.

BULLERMAN, L. B. Significance of mycotoxins to food safety and human health. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 42, p. 65-86, 1979.

CABANES, F. J.; ACCENSI, F.; BRAGULAT, M. R.; ABARCA, M. L.; MINGUEZ, S.; PONS, A. *Aspergillus carbonarius* is a source of ochratoxin A contamination inwine. In: International Symposium- Bioactive Fungal Metabolites: Impact and Exploitation, 2001, Swansea, England. **Abstracts...** Swansea: British Mycological Society, 2001.

CANTAFORA, A. et al. Determination of ochratoxin A in green coffee beans using reversed-phase high performance liquid chromatography. **Rivista della Società Italiana di Scienze dell'Alimentazioni**, v. 12, p. 103-108, 1983.

CARVALHO, V. D.; CHAGAS, S. J. R; SOUZA, S. M. C. Fatores que afetam a qualidade do café. **Informe Agropecuário**, v. 18, p. 5-20, 1997.

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

CARVALHO, C. de. et al. **Anuário Brasileiro do Café 2018**. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta Santa Cruz, 2018, 96p.

CHALFOUN, S. M.; BATISTA, L. R.; RIBEIRO, L. L. Avaliação do potencial toxigênico de cepas dos fungos *Aspergillus* e *Penicillium* associados ao café (Coffea arábica L.). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 25., 1999, Franca, São Paulo. **Resumos...** Franca, 1999. p. 117.

CHALFOUN, S. M.; CARVALHO, V. D. Microflora associada a frutos e grãos de café de diferentes locais, tipos de colheita e diferentes etapas de preparo. Ano 1: 1987. In: Congresso Brasileiro de Pesquisa Cafeeira, 15., 1989, Maringá. **Resumo...** Rio de Janeiro: MIC/IBC, 1989. p. 17-21.

CHALFOUN, S. M.; CORRÊA, T. B. S. Micotoxinas em café- riscos e controle. *In:* Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil, 1., 2000, Poços de Caldas. **SPCB (01.: 2000 : Poços de Caldas, MG) – Palestras [15]**. Brasília: Embrapa Café; Belo Horizonte: Minasplan, 2000. p. 237-255.

CHALFOUN, S. M.; PEREIRA, M. C.; ANGÉLICO, C. L. Efeito da cafeína (1,2,7-triemethylxanthina) sobre o crescimento micelial de fungos associados ao café. **Revista Brasileira de Armazenamento**, v. 1, p. 50-53, 2000.

CREPPY, E. E. Human ochratoxicosis. **Journal of Toxicology-Toxin Reviews**, New York, v. 18, n. 3/4, p. 277-293, 1999.

FAO (Food and Agricultural Organization). Manual on the application of the HACCP system in mycotoxin prevention and control. **FAO Food and Nutrition Paper**, v. 73, p. 1–124, 2001.

FAO/WHO (Food and Agricultural Organization/ World Health Organization). Ochratoxin A. In: Safety evaluations of specific mycotoxins, Prepareted by the fifty- sixth meeting of the Join FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. **Food and Agricultural Organization / World Health Organization**, Geneva, p. 6-15, 2001.

FAO/WHO/UNEP. **Mycotoxin prevention and decontamination, HACCP and its mycotoxin control potential: An evaluation of ochratoxin A in coffee production.** Third Joint FAO/WHO/UNEP International Conference on Mycotoxins, v. 6 c, p. 1–13, 1999.

FINK-GRAMMELS, J.; JAHN, A.; BLOM, M.J. Toxicity and Metabolism of Ochratoxin A. **Natural Toxins**, New York, n. 3, p. 214-220, 1995.

FRAGA, M. E. et al. Fungos Potencialmente Ocratoxígenos em Café. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**, Embrapa, Rio de Janeiro, p. 1-15, Out. 2003.

FREITAS, R. F. Fungos associados a grãos de café (Coffea arábica L.) beneficiado de diversos municípios da região sul de Minas Gerais. 2000. 72 p. Dissertação de Mestrado - Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais.

FREITAS-SILVA, O. et al. Análise de perigos e pontos críticos de controle (APPCC) como ferramenta de controle da ocratoxina em café. In: Simpósio de Pesquisas dos Cafés do Brasil, 2., 2001. **Resumos...** Rio de Janeiro: Embrapa Agroindústria de Alimentos; EPAMIG-CTSM; São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2001, p. 1045-1049.

FRISVAD, J. C. High-performance liquid chromatographic determination of profiles

of mycotoxins and other secondary metabolites. **Journal of Chromatography**, Amsterdan, v. 392, p. 333-347, 1987.

FRISVALD, J. C. et al. New ochratoxin A producing species of *Aspergillus* section *Circumdati*. **Stud. Mycol.**, v. 50, p. 23–43, 2004.

FRISVAD, J. C.; FILTENBORG, O. Terverticillate Penicillia: chemotaxonomy and mycotoxin production. **Mycologia**, New York, v. 81, p. 837-861, 1989.

FUJIII, S.; ONO, E. Y. S.; HIROOKA, E. Y. Ocratoxina A em café: controle e metodologia analítica com ênfase à inovação no contexto de segurança alimentar. **Sema na Ciências Agrárias**, v. 23, n. 2, p. 273-293, 2002.

FUJIII, S. et al. Atividade fungistática "in vitro" de cafeína em fungos associados com grãos de café. **Acta Scientiaruim Agronomy**, v. 26, p. 279-285, 2004

FUTAGAMI et al. Genome sequence of the white koji mold *Aspergillus kawachii* IFO 4308, used for brewing the japanese distilled spirit shochu. **Eukaryot Cell**, v. 10, p. 1586–1587, 2011.

GOLLUCKE, A. P. B.; TAVARES, D. Q. Efeito do processamento sobre ocratoxina A em café. **Higiene alimentar**, v. 18, n. 118, p. 38-46, 2004.

HASAN, H. A. H. Anti-toxigenic properties of coffee and tea. In: International Conference on Fungi, 1.,1996, Cairo. **Cairo: Hope & Chal.engs.**, 1996. v. 1, p. 75-78.

HAYAT, A. et al. Recent advances in ochratoxin A-producing fungi detection based on PCR methods and ochratoxin A analysis in food matrices. **Food Control**, v. 26, p. 401–415, 2012.

HEENAN, C. N.; SHAW, K. J.; PITT, J. I. Ochratoxin A production by *Aspergillus carbonarius* and *A. niger* isolates and detection using coconut cream agar. **Journal of Food Mycology**, Columbus, Ohio, v. 1, p. 67-72, 1998.

HEILMANN, W.; REHFELDT, A.G.; ROTZOLL, F. Behavior and reduction of Ochratoxin A in green coffee beans in response to various processing methods. **European Food Research and Technology**, v. 209, p. 297-300, 1999.

HESSELTINE, C. W.; VANDEGRAFT, E. E.; FENNELL, D. I. *Aspergillus* ochratoxin producers. **Mycologia**, New York, v. 64, p. 539-550, 1972.

INTERGOVERNMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE – IPCC. **Summary for policymakers**. In: IPCC. Climate Change 2013: The physical science basis. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge: Cambridge University Press, 29 p., 2013.

KAWAMURA, O. et al. Enzyme-Linked Immunosorbent assay for detection and survey of Ochratoxin A in livestock sera and mixed feeds. **Food and Agricultural Immunology**, Norvich, v. 2, p. 135-143, 1990.

KIST, B. B. et al. **Anuário Brasileiro do Café 2019**. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta Santa Cruz, 2019, 96p.

KIST, B. B.; BELING, R. R. Anuário Brasileiro do Café 2020. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta, 88 p., 2020.

KOGKAKI, E. A.; NATSKOULIS, P. I.; PANAGOU, E. Z. Modeling the effect of natamycin, pine-resin and environmental factors on the growth and OTA production by *Aspergillus carbonarius* using response surface methodology. **Food Research International**, 79, p. 19-28, 2016.

KOUADIO, A. I. et al. Influence de l'interaction de la température et de l'activité de l'eau sur la croissance et la production de l'ochratoxine A par *Aspergillus niger*, *Aspergillus carbonarius* et *Aspergillus ochraceus* sur un milieu de base café. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 53, n. 7, p. 852-859, 2007.

KRUG, H. P. Cafés duros. **Revista do Instituto do Café**, São Paulo, v. 25, n. 159, p. 636-638, Maio 1940a.

KRUG, H. P. Café duros III. Relação entre a porcentagem de microrganismos e qualidade do café. **Revista do Instituto do Café**, São Paulo, v. 27, n. 163, p. 1827-1831, Set. 1940b.

LAI, M.; SEMENIUK, G.; HESSELTINE, C. W. Nutrients affecting ochratoxin A production by *Aspergillus spp.* **Phytopathology**, Saint Paul, MN, v. 58, p. 1058, 1968.

LE BARS, L.; LE BARS, P. Mycotoxigenic in grains application to mycotoxic prevention in coffee. In: Seminário Internacional sobre Biotecnologia na Indústria Cafeeira, 3., 1999, p.513.

LEE, M. H.; LEE, H. J.; RY, P. D. Public health risks: Chemical and antibiotic residues – Review. **Asian Austral J Anim**, v. 14, n. 3, p. 402-413, 2001.

LEVI, C. P.; TRENK, H. L.; MOHR, H. K. Study of the occurrence of Ochratoxin A in green coffee beans. **Journal- Association of Official Analytical Chemists**, v. 57, p. 866-870, 1974.

LOPES GARAY, C.; BATUTISTA ROMERO, E.; MORENO GONZÁLEZ, E. Microflora of stored coffee and its influence on quality. **ASIC**, 12^a Colloque, Montreux, 1987, p. 758-770.

LOPES, L. M. V.; PEREIRA, F. A.; MENDOÇA, J. M. A.; MENDES, A. N. G. Variação de ocorrência de fungos em grãos de sete cultivares de café (Coffea arábica L.) em três épocas durante a colheita. In: Congresso Brasileiro de Pesquisas Cafeeiras, 25., 1999, Franca, SP. **Resumo...** Franca, 1999. 144 p.

LOPEZ-GARCIA, R.; MALLMANN, C. A.; PINEIRO, M. Design and implementation of an integrated management system for ochratoxin A in the coffee production chain. Food Additives and Contaminants, v. 25, n. 2, p. 231-240, 2008.

MARROQUÍN-CARDONA, A. G. et al. Mycotoxins in a changing global environment – A review. **Food Chemistry Toxicology**, v. 69, p. 220–230, 2014.

MARTINS, A. S. P. de P. **Micotoxinas contaminantes do café**. Faculdade de Ciências da Nutrição e Alimentação- Universidade do Porto. 2002/2003. 48 p.

MATIELLO, J. B. O café: do cultivo ao consumo. São Paulo: Globo, 378p., 2002.

MEDINA, B. G. Avaliação da contaminação por ocratoxina A em amostras de café torrado comercializadas no Brasil. 2015. 43 p. Trabalho de conclusão de curso (Especialista)- Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2015.

MEIRELLES, A. M. A. Ocorrência e controle da microflora associada aos frutos do café (Coffea arabica L.), provenientes de diferentes localidades do estado de Minas Gerais. Lavras: UFLA, 1990. 71p. (Dissertação- Mestrado em Fitotecnia).

MESQUITA, C. M. de et al. **Manual do café**- colheita e preparo (Coffea arábica L.). Belo Horizonte: EMATER-MG, 52p., 2016.

MICCO, C. et al. A study of contamination by ochratoxin A of green roasted coffee beans. **Food Addit Contam**, v. 6, p. 333-339, 1989.

MILANEZ, T. V. Influência da atividade de água na produção de ocratoxina A por Aspergillus alutaceus em Feijão e efeito da cocção nos teores da micotoxina. 1993.116 p. (Dissertação de Mestrado) - Universidade de São Paulo.

MISLIVEC, P. B., R. B. VERNEAL and R. GIBSON. Incidence of toxigenic and other molds in green coffee beans. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 46, p. 969-973, 1983.

NAIDU, R. Mycotoxins in coffee. Indian coffee, Bangalore, v. 60, n. 8, p. 9-11, Ago. 1996.

NAKAJIMA, M. et al. Survey of Aflatoxin B 1 and Ochratoxin A in commercial green coffee beans by high-performance liquid chromatography. **Food and Agricultural Immunology**, Oxon, n. 9, p. 77-83, 1997.

NARTOWICZ, V. B.; BUCHANAN, R. L.; SEGAL, S. Aflatoxin production in regular and decaffeinated coffee beans. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 44, n. 02, p. 446-448, Mar/Apr. 1979.

NORTHOLT, M. D.; VAN EGMOND, H. P.; PAULSCH, W. E. Ochratoxin A production by some fungal species in relation to water activity and temperature. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 42, n. 6, p. 4585-490, 1979.

OLIVEIRA, G. et al. Effect of different roasting levels and particle sizes on ochratoxin A concentration in coffee beans. **Food Control**, v. 34, p. 651-656, 2013.

OLIVEIRA, G. et al. Influence of temperature and water activity on Ochratoxin A production by *Aspergillus* strain in coffee south of Minas Gerais/Brazil. **Food Science and Technology**, v. 102, p. 1-7, 2019.

PASIN, L. A. A. P. **Efeito de micronutrientes e cultivares sobre a população fúngica em grãos de café.** 2000. 158 p. Tese de Doutorado - Universidade Federal de Lavras. Lavras, Minas Gerais.

PASIN, L. A. A. P; ALMEIDA, J. R.; ABREU, M. S. de. Fungos associados a grãos de cinco cultivares de café (*Coffea arabica* L.). **Acta Botanica Brasilica**, São Paulo, v. 23, n. 4, p. 1129-1132, Dec. 2009.

PATERSON, R. R.; KOZAKIEWICZ, Z. *Penicillium* and *Aspergillus* mycotoxins diagnostic characters and quantitative data from commodities and cultures. **Cereal Research Communications**, Szeged, v. 25, p. 271-275, 1997.

PATERSON, R. R. M.; LIMA, N. How will climate change affect mycotoxins in food? **Food Research International**, v. 43, p. 1902-1914, 2010.

PATERSON, R. R. M.; LIMA, N.; TANIWAKI, M. H. Coffee, mycotoxins and climate change. **Food Research International**, v. 61, p. 1-15, 2014.

PÉREZ, J. et al. Mycobiota associated with the coffee berry borer (Hypothenemus hampei) in Mexico. **Mycological Research**, v. 107, p. 879-887, 2003.

PHILIP, R.B. Mycotoxins and other toxins from unicellular organisms. **Environmental Razard and Human Health**, p.209-222, 1995.

PIMENTA, C. J; VILELA, E. R. Composição microbiana e Ocratoxina A no Café (Coffea arábica L.) submetidos a diferentes tempos de espera antes da secagem. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 27, p. 1315-1320, 2003.

PITT, J. I. *Penicillium viridicatum*, *P. verrucosum*, and production of ochratoxin A. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, D.C., v. 53, p. 266-269, 1987.

PITT, J. I.; HOCKING, A. D. Fungi and food spoilage. **Blackie Academic & Professional**, London, 2 ed., p. 593, 1997.

PITTET, A. et al. Liquid chromatographic determination of ochratoxin A in pure and adulterated soluble coffee using an immunoaffinity column cleanup procedure. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 44, n. 11, p. 3564-3569, 1996.

PLESTINA, R. Nephrotoxicity of ochratoxin A. **Food Additives and Contaminants**, London, 13, p. 49-50, 1996.

PRADO, G.; OLIVEIRA, M. S.; ABRANTES, F. M. Incidência de ocratoxina A em café torrado e moído e em café solúvel consumido na cidade de Belo Horizonte, MG. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 20, p. 192-196, 2001.

RAMOS, A. J. et al. Effect of water and temperature on growth and ochratoxin production by three strains of *Aspergillus ochraceus* on a barley extract medium and on barley grains. **International Journal of Food Microbiology**, v. 44(1–2), p. 133-140, 1998.

RODRIGUEZ, D. et al. A coffee agroecosystemmodel: III. Parasitoides of the coffee berry borer (Hypothenemus hampei). **Ecological Modelling**, v. 363, p. 96-110, 2017.

RODRIGUEZ, D. et al. A coffee agroecosystem model II: Dynamics of a coffee berry borer. **Ecological Modelling**, v. 248, p. 203-214, 2013.

ROMANI, S. et al. Screening on the occurrence of ochratoxin A in green coffe beans of different origins and types. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.48, p. 3616-3619, 2000.

ROMANI, S.; PINNAVAIA, G.; ROSA, M.D. Influence of roasting levels on Ochratoxin A content in coffee. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 5168-5171, 2003.

SAEGER, S.; PETEGHEM. C. V. Flow-Through Membrane-Based Enzyme Immunoassay for Rapid Detection of ochratoxin A in Wheat. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 62, n. 1, p. 65-69, Jan 1999.

SAMSON, R. A. et al. Introduction to food-borne fungi. 4th ed. **Centraalbureau Voor Schimmelcultures Baarn Delft**, 2000.

SANCHIS, V.; VINHAS, I.; JIMENES, CALVO, M.A. HERNANDEZ, E. Mycotoxin producing fungi isolated from bin stored corn. **Mycopathologia**, v. 80, p. 89-93, 1988.

SARAIVA, S.H. et al. Efeitos do processamento pós-colheita sobre a qualidade do café Conillon. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia: Centro Científico Conhecer, v. 6, n. 9, p.1-9, 2010.

SCHWARTZ, G. G. Hypothesis: does ochratoxin A cause testicular cancer? **Cancer Causes & Control**, Frankfurt, v. 13, n. 1, p. 91-100, 2002.

SCOTT, P. M.; WALBEEK, W.; KENNEDY, B.; ANYETI, D. Mycotoxins (ochratoxin A, citrinin, and sterigmatocystin) and toxigenic fungi in grains and other agricultural products. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, D.C., v. 20, p. 1103-1109, 1972.

SHARMAN, M.; MacDONALDS, S.; GILBERT. J Automated Liquid Cromatographic Detremination of Ochratoxin A in Cereals and Animal Products Using Immunoaffinity Column Clean-up. **Journal of Chromatography**, v. 603, p. 285-289, Amsterdam, 1992.

SILVA, C. F. et al. Microbial diversity during maturation and natural processing of coffee cherries of Coffea arabica in Brazil, **International Journal of Food Microbiology**, **Amsterdam**, v. 60, p. 251-260, 2000.

SILVA, C. F. **Diversidade microbiana em grãos de café (Coffea arábica L.) processados por via seca nas fases pré e pós-colheita.** 2000. 105 p. (Dissertação de (Mestrado), Universidade Federal de Lavras, MG).

SILVA, S.A. da et al. Fungi associated to beans infested with coffee berry borer and the risk of ochratoxin A. **Food Control**, v. 113, p. 1-7, Feb 2020.

SOUSA, T. M. A. et al. Evaluation of the effects of temperature on processed coffee beans in the presence of fungi and ochratoxin A. **Journal of Food Safety**, v. 39, p. 1-9, 2018.

STEGEN VAN DER, G. H. D.; ESSENS, P. J. M.; LJIN VAN DER, J. Effect of roasting conditions on reduction of ochratoxin A in coffee. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p. 4713-4715, 2001.

STUDER-ROHR, I. et al. Ochratoxin A and Coffee. **Mitteilungen aus der Gebiete Lebensmitteluntersuchung und Hygiene**, Bern, v. 85, p. 719-727, 1994.

STUDER-ROHR, I. et al. The occurrence of ochratoxin A in coffee. **Food and Chemical Toxicology**, v. 5, p. 341-355, 1995.

STEGEN, G. V. D.; ESSENS, P. J. M.; LIJN, V. D. Effect of roasting conditions on reduction of Ochratoxin A in coffee. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p. 4713-4715, 2001.

SWEENEY, M. J.; DOBSON, D. W. Mycotoxin production by *Aspergillus, Fusarium* and *Penicillium* species. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 43, p. 141-158, 1998.

TANIWAKI, M. H.; IAMANAKA, B. T.; VICENTINI, M. C. Fungos produtores de ocratoxina e ocratoxina A em cafés brasileiros. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 26., Poços de Caldas, MG. **Resumos...** Poços de Caldas, p. 720-722, 2000.

TANIWAKI, M. H.; PITT, J. I.; TEIXERIA, A. A.; IAMANAKA, B. T. The source of ochratoxin A in Brazilian coffee and its formation in relation to processing methods. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdan, v. 82, n. 2, p. 173-179, 2003

TANIWAKI, M.H. et al. Ocratoxina A em defeitos de cafés, cinética de destruição da toxina e avaliação das bebidas pelo uso da língua eletrônica. In: Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil, 5., 2007, Águas de Lindóia. **Anais...** Águas de Lindóia: SPCB, 2007.

TEIXEIRA, A.A. Classificação do Café. In: Encontro sobre produção de café com qualidade, 1., 1999, Viçosa. **Livro de palestras**. Laércio Zambolim, editor. Viçosa, MG: UFV, Departamento de Fitopatologia, p. 85-89,1999.

TEREN, J.; VARGA, J.; HAMARI, Z.; RINYU, E.; KEVEI, F. Imunochemical detection of ochratoxin A in black *Aspergillus* strains. **Mycopathologia**, v. 134, p. 171-176, 1996.

TSUBOUCHI, H. et al. Caffeine degradation e increased ochratoxin A production by toxigenic strains of *Aspergillus ochraceus* isolated from green coffee beans. **Mycopathologia**, Dordrecht, v. 90, p. 181-186, 1985. v. 46, n. 11, p. 969-973, Nov. 1983.

TSUBOUCHI, H. et al. A Survey occurrence of mycotoxins and toxigenic fungi in imported green coffee beans. **Proceedings of the Japanese Association of Mycotoxicology**, Tokyo, n. 19, p. 16-21, 1984.

TSUBOUCHI, H. et al. Ochratoxin A found in commercial roast coffee. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 36, p. 540-542, 1988.

TSUBOUCH, H.; TERADA, H.; YAMAMOTO, K.; HISADA, K.; SAKABE, Y. Caffeine degradation and increased ochratoxin A production by toxigenic strains of *Aspergillus ochraceus* isolated from green coffee beans. **Mycopathologia**, v. 90, p. 181-186, 1985.

VARGA, J.; KEVEI, E.; RINYU, E.; TEREN, J.; KOZAKIEWICZ, Z. Ochratoxin production by *Aspergillus* species. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, D.C., v. 62, p. 4461-4464, 1996.

VARGAS, E. A. et al. Influência do processamento e defeitos do café na incidência e ocorrência de Ocratoxina A. In: Simpósio de pesquisa dos cafés do Brasil, 4., 2005, Londrina. **Anais...** Brasília, DF: Embrapa Café, 2005. p. 1-5.

VEGA, F. E. et al. The coffee berry borer, Hypothenemus hampei (ferrari) (Coleoptera: Curculionidae): A short review, with recent findings and future research directions. **Terristrial Arthropod Reviews**, v. 2, p. 129-147, 2009.

VEGA, F. E.; FRANQUI, R. A.; BENEVIDES, P. B. The presence of the coffee berry borer, Hipothenemus hampei, in Puerto Rico: Fact or fiction? **Journal of Insect Science**, v. 2, p. 1-3, 2002.

VEGA, F. E.; INFANTE, F.; JOHNSON, A. J. (2015). The genus Hypothenemus, with emphasis on H. hampei, the coffee barry borer. In F. E. Vega, & R. W. Hoffstetter (Eds.). **Bark beetles: Biology and ecology of native and invasive species**, San Diego: Academic Press, p. 427-494, 2015.

WALBEEK, W. et al. *Penicillium viridicatum* westling: a new source of ochratoxin A. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa v. 15, p. 1281-1285, 1969.

WANG, Y. et al. Ochratoxin A Producing Fungi, Biosynthetic Pathway and Regulatory Mechanisms. **Toxins**, v. 8, n. 83, p. 1-15, 2016.

WICKLOW, D. T.; DOWD, P. F.; ALFATAFTA, A. A.; GLOER, J. B. Ochratoxin A: an antiinsectan metabolite from the sclerotia of Aspergillus carbonarius NRRL 369. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa v. 42, p. 1100-1103, 1996.

WOSIACKI, G. Enzimas pectinolíticas de Fusarium oxysporum Schlecht EX. Fr. Isolado de frutos de café. Campinas: UNICAMP, 1977. 73p. (Tese- Doutorado em Ciência dos Alimentos).