

INCIDÊNCIA DE OCRATOXINA A EM DIFERENTES FRAÇÕES DE GRÃOS DE CAFÉ (*Coffea arabica* L.)

Sára Maria Chalfoun¹, Luís Roberto Batista²

(recebido: 18 novembro de 2005; aceito: 13 janeiro de 2006)

RESUMO: A ocorrência de ocratoxina A (OTA) foi estudada em grãos de café (*Coffea arabica* L.) em diferentes frações e após o processamento via seca e via úmida. Foram analisadas 289 amostras coletadas em 11 municípios do Sul de Minas Gerais. As frações coletadas foram bóia (35), fruto cereja (4), cereja+verde (11), cereja descascado (18), cereja despulpado (2), mistura (97), frutos secos na planta (4), varrição (106) e verde (12). Das 289 amostras analisadas, em 128 ou seja, 44,29%, não foi detectada a presença de OTA, em 89 amostras, 30,80%, foi detectada a presença de OTA em níveis que variaram de 0,1 a 5,0 µg/Kg de café. Estes resultados demonstram que 75,09% das amostras analisadas estavam dentro dos limites em estudo da Legislação Européia que regulamenta a concentração máxima de OTA em grãos de café em 5,0 µg/Kg. Os tipos de café cereja, cereja despulpado, cereja descascado verde e seco na planta mostram níveis de contaminação de OTA abaixo de 5 µg/Kg em sua grande maioria. As frações misturas, bóia e principalmente a varrição apresentam os maiores índices de contaminação com OTA acima do limite de 5 µg/Kg. Das amostras de café de varrição, em apenas 22,64% das amostras não foi detectada a presença de OTA, na grande maioria 77,36% foi detectada a presença de OTA, sendo que duas amostras apresentaram níveis superiores a 100 µg/Kg de grãos de café. A varrição que já é uma parcela que geralmente dá origem a um café de baixa qualidade, demonstrou no presente estudo, também representar uma maior exposição ao perigo OTA. Com relação ao potencial toxigênico das espécies identificadas ocorrendo em associação com os grãos de café, observou-se na Seção Circumdati a maior frequência de isolados produtores de OTA, especialmente o fungo *Aspergillus ochraceus* G. Wilh com 95% dos isolados com OTA positivos.

Palavras-chave: Café, *Coffea arabica*, OTA, segurança alimentar, *Aspergillus*.

OCHRATOXIN-A INCIDENCE IN DIFFERENT COFFEE (*Coffea arabica* L.) BERRY FRACTIONS

ABSTRACT: Ochratoxin A (OTA) occurrence was studied in different coffee (*Coffea arabica* L.) berry types according to the processing method (dry or wet). Two hundred eighty nine coffee samples from 11 locations in the south of Minas Gerais State, Brazil were collected and analyzed. The sample types were overripe (35), cherry (4), cherry + green (11), husked cherry (18), cherry (parchment) (2), mixes ("boia" - overripe berries dried on tree (97), "varrição" - coffee berries swept from ground (106) and green - not mature (12). In 128 samples (44,29%) OTA contamination was not detected but in 89 (30,80%), it was detected from 0,1 to 5,0 µg/kg. This results show that 75,09% of the analyzed samples would be within the limits in study by the European Commission that regulates OTA levels on coffee beans. Most cherry, cherry parchment, husked, green and "coco" (dried cherry) sample types had OTA contamination level below 5 µg/kg but in those from "varrição", only 22,64% were OTA negative, and 77,36% positive, with two samples with levels above 100 µg/kg. The "varrição" coffee that is already a type which gives low quality coffee beverage, also represents risk for coffee safety due to OTA presence as showed in this study. As for the toxigenic potential of the identified species associated with coffee beans, it was observed a higher frequency of OTA producer isolates at the Circumdati Section, mainly the fungus *Aspergillus ochraceus* G. Wilh, present in 95% of OTA positive isolates.

Key words: coffee, *Coffea arabica*, ochratoxin A, safety food, *Aspergillus*.

1 INTRODUÇÃO

A influência dos fungos sobre as características sensoriais do café tem sido reconhecida desde 1940 (CARVALHO & CHALFOUN, 1985; KRUG, 1940, 1941). Os principais gêneros de fungos toxigênicos como *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium* são contaminantes naturais do café e estão presentes desde o campo até o armazenamento (BATISTA et al., 2003).

A presença de fungos toxigênicos, além de alterar a qualidade do café pode colocar em risco a segurança do produto. Isto pode ocorrer devido a produção de micotoxinas, que são metabólitos secundários que mesmo em pequenas concentrações, são tóxicas ao homem e aos animais. Atualmente, as micotoxinas mais estudadas e de maior importância para a saúde humana presentes em alimentos e bebidas são aflatoxinas, fumonisinas, patulina, ocratoxina e

¹ Pesquisadora Dra. da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais/Lavras-MG – chalfoun@ufla.br

² Professor Dr. da Universidade Federal de Lavras/UFLA – Departamento de Ciência dos Alimentos (Microbiologia de Alimentos) – Cx. P. 3037 – 37.200-000 – Lavras, MG – luisrb@ufla.br

zearalenona (CAST, 2003). Nos grãos e produtos de café, a única que representa o maior perigo e é a mais estudada é a OTA (OTA).

A ocratoxina A (OTA) é produzida pelos fungos *Penicillium verrucosum* Dierckx e *Penicillium nordicum* Dragoni & Cantoni (LARSEN et al., 2001) e um número variado de espécies do gênero *Aspergillus*, como o *Aspergillus ochraceus* G. Wilh., *A. ostianus* Wehmer, *A. auricomus* (Grég) Saito, *A. sulphureus* Desm., *A. carbonarius* (Bainier) Thom, *A. niger* Tiegh. e *A. sclerotiorum* G.A. Huber (ABARCA et al., 2000; BATISTA et al., 2003; FRISVAD et al., 2004; SAMSON et al., 2004).

Além do café, a OTA é um perigo frequente para os seguintes produtos: cevada, trigo, cerveja, vinho, carnes, cacau, alimentos infantis, ração animal, milho, aveia, centeio, figo, sangue e rins de suínos e outros tecidos de origem animal (CAST, 2003; WILSON et al., 2002). De acordo com o JECFA – Joint WHO/FAO Committee on Food Additives, o nível de ingestão tolerável de OTA tem sido estimado em 100 ng por Kg peso corpóreo por semana. Entretanto, o Comitê Científico sobre Alimentos da União Européia (EC), recomenda que o nível de OTA seja reduzido o máximo possível, próximo de 5 ng (Kg peso corpóreo) por dia. O limite máximo de OTA para cereais (5,0 µg/Kg) e seus subprodutos (3,0 µg/Kg) tem sido estabelecido pela Comissão de Regulamentação da União Européia EC n. 472 (EUROPEAN COMMUNITY, 2002).

Portanto, avaliar a incidência de OTA em diferentes frações de café submetidas a diferentes métodos de pré-processamento (via seca e via úmida) foi o principal objetivo do presente estudo, além de isolar e identificar os principais fungos associados aos grãos, bem como verificar o potencial de produção de OTA nas principais espécies identificadas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Amostras

As amostras constituíram-se de aproximadamente 5,0 Kg de grãos de café *Coffea arabica*, foram coletadas em 11 municípios produtores do Estado de Minas Gerais, a saber: Boa Esperança, Campestre, Campos Gerais, Carmo do Rio Claro, Cássia, Guaxupé, Machado, Monte Santo de Minas, Poços de Caldas, Pratinha e São Sebastião

do Paraíso. As frações coletadas foram bóia (35), fruto cereja (4), cereja+verde (11), cereja descascado (18), cereja despolpado (2), mistura (97), frutos seco na planta (4), varrição (106) e verde (12), perfazendo um total de 289 amostras.

Após a coleta as amostras foram enviadas para a Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais no Centro Tecnológico do Sul de Minas em Lavras. A análise de OTA foi realizada em amostras que apresentavam teores de umidade entre 11 e 12% após o beneficiamento.

2.2 Isolamento e identificação dos fungos

Para o isolamento dos fungos associados aos grãos de café beneficiados, foi utilizada a técnica de plaqueamento direto em meio de cultura DG18 (Dicloran Glicerol 18%) conforme Pereira et al. (2003).

2.2.1 Identificação de fungos filamentosos do gênero *Aspergillus*

A partir das culturas puras, as espécies do gênero *Aspergillus* Seção Circumdati e Nigri foram identificadas de acordo com Christensen (1982), sendo estas identificações amparadas por Pitt & Hocking (1997), Raper & Fennell (1965) e Samson et al. (2000). Todos os isolados foram incubados em meio CYA (Czapek Yeast Agar) e MEA (Malt Extract Agar) a 25°C e CYA a 37°C e após 7 dias de incubação foram observadas as características microscópicas e macroscópicas.

2.2.2 Determinação da produção de OTA por fungos pelo método Plug Agar

Para a determinação do potencial de produção de OTA, os isolados fúngicos testados foram inoculados em meio YES (Yeast Extract Sucrose Agar) com solução metálica por 7 dias a 25 – 26 °C, conforme Filtenborg & Frisvad (1980). Foi utilizado o padrão de OTA (Sigma-Aldrich), Placas de Cromatografia de Camada Delgada (Merk-Sílica Gel 60, 20x20) e como Fase móvel TEF-Tolueno Acetato de Etila e Ácido Fórmico 90% (50:40:10). A confirmação quanto a produção de OTA foi feita em luz ultravioleta com 366 nm em cromatovisor CAMAG (UF-BETRACHTER).

2.3 Análise de OTA em Grãos de Café

As análises de OTA foram realizadas por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) no Laboratório de Controle de Qualidade e Segurança Alimentar/LACQSA em Belo Horizonte, conforme metodologia publicada no Diário Oficial da União n.62, Seção 1, p.37 de 30 de março de 2000. A extração foi realizada com metanol-bicarbonato de sódio 3% (1:1) sob agitação mecânica. A purificação foi feita em colunas de imunoafinidade (Ochratest-Vicam). A quantificação por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência foi realizada em Cromatógrafo Líquido com coluna Shimpack C18 CLC ODS (M) 250 x 4,6 mm, tendo como fase móvel acetonitrila:metanol:água:ácido acético (35:35:29:1, v/v/v/v) com fluxo de 0,8 mL/mim, detector de fluorescência com excitação em 332 nm e emissão em 476 nm. O limite de detecção do método é de 0,12 µg/Kg e o limite de quantificação é de 0,20 µg/Kg sendo que a confirmação foi realizada com solução metanólica de BF3 (14%).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em 100% e 86,67% dos grãos das amostras de varrição e bóia, respectivamente foi detectada a presença de fungos do gênero *Aspergillus* Seção Circumdati. Levando em consideração que as amostras varrição e bóia foram coletadas em todas as localidades, estes resultados mostram que esta comunidade é comum dentro do ambiente da lavoura de café. Nas amostras processadas via úmida, 33,33% dos grãos com pergaminho estavam

contaminados com fungos do gênero *Aspergillus* Seção Circumdati. Com referência aos fungos do gênero *Aspergillus*, Seção Nigri, verificou-se a sua ocorrência em 72,73 e 64,71% dos frutos das amostras de varrição e bóia, respectivamente. Das amostras processadas via úmida, 25% apresentaram contaminação.

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 1, observa-se que 178 isolados dos fungos do gênero *Aspergillus* Seção Circumdati identificados (165 – *A. ochraceus*; 3 – *A. melleus* Yukawa; 4 – *A. sulphureus*, 02 - *A. dimorphicus* B.S. Mehotra & R. Prasad, 03 – *A. sclerotiorum* e 1 – *A. auricomus*) 85,39% foram produtores de OTA, sendo que dos isolados de *A. ochraceus*, 95% foram produtores de OTA, as outras espécies desta seção produtoras de OTA foram *A. sclerotiorum* e *A. sulphureus*. Das espécies de *Aspergillus* Seção Nigri, *A. niger* (58) e *A. foetidus* Thom. & Raper (25) nenhum foi produtor de OTA.

Conforme demonstrado na Tabela 2, das 289 amostras analisadas, em 128, ou seja, 44,29%, não foi detectada a presença de OTA; em 89 amostras, 30,80%, foi detectada a presença de OTA em níveis que variaram de 0,1 a 5,0 µg/Kg de café. Estes resultados demonstram que 75,09% das amostras analisadas estariam dentro dos limites em estudo pela Legislação Européia que regulamenta a concentração máxima de OTA em grãos de café. As demais amostras, 24,91%, apresentaram contaminação acima de 5 µg/Kg, ficando acima do limite em estudo pela União Européia.

Tabela 1 – Resultados de avaliação do potencial de produção de OTA das espécies de *Aspergillus* identificadas associadas a grãos de café (*Coffea arabica*) do Sul de Minas Gerais. Ano agrícola 2003/2004.

Espécie do gênero <i>Aspergillus</i>	Número de isolados testados	Isolados produtores de OTA
Seção Circumdati		
<i>A. ochraceus</i>	165	149
<i>A. melleus</i>	03	00
<i>A. dimorphicus</i>	02	00
<i>A. sulphureus</i>	04	01
<i>A. sclerotiorum</i>	03	02
<i>A. auricomus</i>	01	00
Seção Nigri		
<i>A. niger</i>	58	00
<i>A. foetidus</i>	25	00

Tabela 2 – Níveis de contaminação por ocratoxina A em diferentes frações de grãos de café (*Coffea arabica*) do Sul de Minas Gerais. Ano agrícola 2003/2004.

Níveis de contaminação de OTA	Via Seca					Via Úmida			
	Verde	Cereja	Seco	Varrição	Mistura	Bóia	Cereja + Verde	Cereja descascado	Cereja despulpado
0,0 – 0,0 n/d	7	3	4	24	56	15	3	14	2
0,1 - 5,0	4	1	0	37	29	8	6	4	0
5,1 – 10,0	1	0	0	15	3	6	1	0	0
10,1 – 20,0	0	0	0	16	3	2	0	0	0
20,1 – 50,0	0	0	0	7	6	0	1	0	0
50,1 - 100,0	0	0	0	5	0	4	0	0	0
> 100,00	0	0	0	2	0	0	0	0	0
Total	12	4	4	106	97	35	11	18	2

Os estudos sobre a incidência de OTA em grãos de café têm demonstrado uma grande variação. A porcentagem de amostras contaminadas tem variado de 22 a 65,4%, (BATISTA et al., 2003; BUCHELI et al., 1998; MORAES & LUCHESE 2004; NAKAJIMA et al., 1997; TANIWAKI et al., 2003).

Os tipos de café cereja, cereja despulpado, cereja descascado, verde e seco na planta mostram-se com uma contaminação de OTA de até 5 µg/Kg em sua grande maioria. As frações de café misturas, bóia e principalmente varrição, apresentam os maiores índices de contaminação, com OTA acima do limite de 5µg/Kg.

Dessa forma, de acordo com os resultados obtidos neste estudo, a porcentagem de amostras contaminadas, bem como os níveis acima de 5,0 µg/Kg, são influenciados também pela fração de café, bóia, varrição, cereja e pelo tipo de processamento, descascado e despulpado.

Em todas as frações analisadas ocorreu uma porcentagem variada de amostras não contaminadas, apesar de ser identificada a presença de fungos produtores de OTA mesmo em frações de café que possuem um risco maior de contaminação como café bóia, e principalmente o café de varrição. Acredita-se que isto tenha ocorrido devido, primeiro ao fato de

que as condições ambientais e/ou população microbiana não tenha favorecido o desenvolvimento dos fungos ocratoxigênicos e produção da OTA; segundo, uma vez colonizado o grão, as condições favoráveis (ambientais e/ou população microbiana) para a produção de OTA não ocorreram, e se ocorreram, não houve tempo e/ou nutrientes suficientes para a síntese da OTA; e terceiro, a composição química dos grãos de café da qual participam compostos como a cafeína e os ácidos clorogênicos, atua com uma barreira natural, fato já bastante estudado (CHALFOUN et al., 2000; SUÁREZ-QUIROZ et al., 2004) em isolados geneticamente mais sensíveis a esta composição química.

Conforme Tabela 2, observa-se que 42,86% das amostras de café bóia analisadas não apresentaram contaminação com OTA, e 34,28% das amostras apresentaram níveis de contaminação superiores a 5 µg/Kg, confirmando que esta fração apresenta uma maior exposição ao risco de contaminação por conter frutos mal formados e injuriados (insetos, doenças, agentes de clima, etc), que se encontram mais expostos às alterações climáticas na lavoura e à contaminação durante todo o ciclo produtivo e de pré-processamento do café.

Na Tabela 2, demonstra-se também os resultados de contaminação das amostras de café de

varrição, em apenas 22,64% das amostras não foi detectado a presença de OTA, na grande maioria, 77,36%, foi detectada a presença de OTA, sendo que duas amostras apresentaram níveis superiores a 100 µg/Kg de grãos de café. Resultados semelhantes foram observados por Moraes et al. (2002), segundo os quais a maior incidência de amostras contaminadas ocorreu no café de varrição.

A presença de OTA em café de varrição se deve em grande parte ao tempo que os frutos ficam em contato com o solo. O solo é o habitat natural dos fungos produtores de OTA identificados neste estudo; uma vez em contato com o solo, o período de secagem destes frutos será maior devido à umidade do solo, ficando, assim, os frutos mais tempo em condições favoráveis à colonização e síntese de OTA.

Em 57,72% das amostras de café tipo mistura não foi detectada a presença de OTA; 12,38% das amostras apresentaram contaminação acima de 5,0 µg/Kg, sendo que 6 amostras, 6,18%, apresentaram contaminação elevada, entre 20,1 – 50,0 µg/Kg de grãos de café. A fração mistura também apresenta um fator de perigo, uma vez que contém frutos que seriam separados pelo processamento hidráulico, dando origem ao café bóia (uma parcela que apresenta um risco maior para a presença de OTA). Sendo assim, a presença de OTA no café mistura pode ser devida à presença de frutos que dariam origem à fração bóia.

Das amostras de café cereja+verde, 27,27% não apresentaram contaminação com OTA, e 81,82% das amostras apresentaram contaminação abaixo de 5,0 µg/Kg de grãos de café, em uma amostra foi detectado um valor elevado de OTA de 42,91 µg/Kg.

A fração cereja+verde é gerada apenas nas propriedades que fazem a separação hidráulica dos frutos, sendo assim, estas amostras foram coletadas no terreiro. Apesar de parte do nível de contaminação poder ter sido gerado no campo, pode-se inferir também que o tipo e as condições do terreiro em que essas amostras foram coletadas podem ter influenciado significativamente a contaminação dos fungos e na concentração de OTA detectada.

Em 77,77% das amostras de cereja descascado não foi detectada a presença de OTA e 100% apresentaram níveis abaixo de 5 µg/Kg de grãos de café. Os resultados demonstram que a retirada da casca (descascado) ou da casca e

mucilagem reduzem a contaminação dos grãos, forte indicativo de que os fungos e a ocratoxina estão concentrados na casca até o momento do benefício. Adiciona-se o fato de que estas parcelas são obtidas com a utilização de frutos cereja teoricamente com baixos níveis de contaminação.

Das amostras de frutos de café verde analisadas, em 58,33% não foi detectada a presença de OTA e, em 91,66%, os níveis de contaminação ficaram abaixo de 5,0 µg/Kg de grãos de café verde. Das quatro amostras de fruto seco na planta analisadas, em nenhuma foi detectada a presença de OTA. Todas as amostras foram coletadas no mesmo município (Pratinha-MG), local onde normalmente o período de colheita do café é seco e com baixa umidade do ar; estes podem ser os fatores responsáveis pela ausência da OTA nestas amostras.

Das quatro amostras de fruto cereja analisadas, 100% apresentaram contaminação abaixo de 5,0 µg/Kg de grãos de café e uma amostra apresentou uma contaminação de 0,22 µg/Kg. Estes resultados foram semelhantes ao obtido por Taniwaki et al. (2003), segundo os quais de 6 amostras analisadas, a média de contaminação foi de 0,12 µg/Kg com os valores variando de não detectado a 0,4 µg/Kg de grãos de café. Bucheli et al. (2000) observaram que as amostras de café verde e café cereja apresentaram apenas traços de contaminação com OTA, com uma média 0,3 µg/Kg. Segundo os autores, a integridade, a firmeza dos frutos cereja e a disponibilidade de açúcares no pericarpo podem afetar o desenvolvimento dos microrganismos.

As duas amostras de café cereja despulpado não apresentaram contaminação com OTA. Frank (1999), citado por Bucheli & Taniwaki (2002), relata que os frutos submetidos ao processamento úmido parece ser menos susceptível à contaminação com *Aspergillus* produtores de OTA.

Segundo Bucheli et al. (2000), a casca do café é o principal substrato para o desenvolvimento de fungos ocratoxigênicos. A remoção da casca, além de eliminar uma quantidade de microrganismos produtores de OTA, acelera o período de secagem, diminuindo o risco de desenvolvimento dos fungos e a produção de OTA. Entretanto, a qualidade inicial dos frutos colhidos, a presença de fungos produtores de OTA e as condições do local de processamento podem certamente contribuir para a formação de

OTA em café processado via úmida (BUCHELI & TANIWAKI, 2002).

Bucheli et al. (2000), analisando café robusta, indicam que a OTA tem uma tendência maior de estar presente em frutos “overripe” (passa ou seco) e cereja danificados do que em frutos verdes e cereja, que normalmente não contêm OTA. A partir de tais informações, é provável que a ocratoxina tenha sido produzida também durante o período de secagem dos frutos.

A presença de OTA em cafés cereja descascado pode ser devido à presença de frutos levemente brocados, sendo que a broca é considerada um vetor de fungos ocratoxigênicos. As condições de secagem também podem influenciar, o tipo de terreno, o clima e a espessura das camadas e a remoção diária do café.

As condições de secagem também podem contribuir para a presença de OTA, pois os frutos ficam mais tempo no terreno, devido à desuniformidade de maturação dos frutos, e conseqüentemente dos níveis de umidade.

Dependendo das condições de secagem (tipo de terreno e clima) e com carga microbiana incluindo fungos produtores de OTA, criar-se-ia um ambiente favorável à síntese de OTA. A separação dos defeitos (BUCHELI et al., 2000) e a seleção dos grãos por peneiras (NASSER, 2001) podem reduzir o risco de contaminação com OTA. Desde que a casca é significativa fonte de OTA, o beneficiamento adequado e a seleção de grãos são métodos efetivos para a redução dos níveis de OTA em grãos de café (VIANI, 2002).

Com o presente estudo, demonstrou-se que as operações de colheita e de pré-processamento geram frações (parcelas do produto com características diferenciadas) e tipos de café que apresentam diferentes riscos de exposição à contaminação por fungos toxigênicos e OTA. A adoção de Sistema de Análise de Perigo e Pontos Críticos de Controle (APPCC) e de Boas Práticas Agrícolas (BPA) irá influenciar significativamente tanto na redução do perigo de contaminação por microrganismos, nas condições em que pode ocorrer a deterioração dos frutos e grãos de café, como na redução de OTA.

CONCLUSÕES

Na Seção Circumdati encontra-se a maior frequência de isolados (90%) produtores de OTA,

especialmente *Aspergillus ochraceus*.

A colheita por derriça gera frações que apresentam diferentes níveis de exposição ao risco de contaminação por fungos produtores de OTA e pela micotoxina.

As frações bóia e varrição apresentaram as maiores frequências de amostras contaminadas por fungos produtores de OTA e os níveis mais elevados da micotoxina.

O preparo via úmida mostrou-se eficiente na redução da contaminação por OTA, confirmando a concentração da micotoxina na casca.

AGRADECIMENTOS

Os autores deste estudo agradecem o Consórcio Brasileiro de Pesquisa e Desenvolvimento Café, a FAO (Food and Agriculture Organization), pelo financiamento deste projeto e os demais membros participantes do Projeto de Monitoramento de OTA em grãos de Café: UESB, UFLA, EPAMIG, MAPA/BH, MAPA/PR, IAL, EMBRAPA/CAFÉ.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABARCA, M. L.; BRAGULAT, M. R.; CASTELLÁ, G.; ACCENSI, F.; CABAÑES, F. J. Hongos productores de micotoxinas emergentes. **Revista Iberoamericana de Micología**, Barcelona, v. 17, p. S63-S68, 2000.

BATISTA, L. R.; CHALFOUN, S. M.; PRADO, G.; SCHWAN, R. F.; WHEALS, A. E. Toxigenic fungi associated with processed (green) coffee beans (*Coffea arabica* L.). **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 85, n. 3, p. 293-300, Aug. 2003.

BUCHELI, P.; MEYER, I.; PITTET, A.; VUATAZ, G.; VIANI, R. 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.

BUCHELI, P.; MEYER, I.; PITTET, A.; VUATAZ, G.; VIANI, R. Development of ochratoxin A during robusta (*Coffea canephora*) coffee cherry drying. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 48, n. 4, p. 1358-1362, Apr. 2000.

Coffee Science, Lavras, v. 1, n. 1, p. 28-35, abr./jun. 2006

- BUCHELI, P.; TANIWAKI, M. H. Research on the origin, and on the impact of post-harvest handling and manufacturing on the presence of ochratoxin A in coffee: review. **Food Additives and Contaminants**, Oxford, v. 19, n. 7, p. 655-665, July 2002.
- CARVALHO, V. D.; CHALFOUN, S. M. Aspectos qualitativos do café. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 11, n. 126, p. 79-92, jun. 1985.
- CHALFOUN, S. M.; PEREIRA, M. C.; ANGÉLICO, C. L. Efeito da cafeína (1,3,7-trimethylxanthina) sobre o crescimento micelial de fungos associados ao café. **Revista Brasileira de Armazenamento**, Viçosa, n. 1, p. 50-53, 2000. Edição Especial.
- CHRISTENSEN, M. The *Aspergillus ochraceus* Group: two new species from western soils and a synoptic key. **Mycologia**, Bronx, v. 74, n. 2, p. 210-225, 1982.
- COUNCIL FOR AGRICULTURAL SCIENCE AND TECHNOLOGY. **Mycotoxins**: risks in plant, animal, and human systems. Ames, 2003.
- EUROPEAN COMMUNITY. Commission regulation (EC) 472/2002, Amending Regulation (EC) 466/2001 setting maximum level for certain contaminants in food stuffs. **Official Journal of the European Communities**, [S.l.], L75, p. 18-20, 2002.
- FILTENBORG, O.; FRISVAD, J. C. A simple screening method for toxigenic moulds in pure cultures. **Lebensmittel Wissenschaft Technologie**, [S.l.], v. 13, p. 128-130, 1980.
- FRISVAD, J. C.; FRANK, J. M.; HOUBRAKEN, J. A. M. P.; KUIJPERS, A. F. A.; SAMSON, R. A. New ochratoxin A producing species of *Aspergillus* section *Circumdati*. **Studies in Mycology**, [S.l.], v. 50, p. 23-43, 2004.
- KRUG, H. P. Cafés duros III. **Revista do Instituto do Café do Estado de São Paulo**, Campinas, v. 15, n. 165, p. 1827-1831, nov. 1940.
- KRUG, H. P. Cafés duros IV: relação entre zonas, qualidade de café e porcentagem de microrganismos. **Revista do Instituto do Café**, São Paulo, v. 16, n. 169, p. 288-295, mar. 1941.
- LARSEN, T. O.; SVENDESEN, A.; SMEDSGAARD, J. Biochemical of ochratoxin A-producing strains of the genus *Penicillium*. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 67, n. 8, p. 3630-3635, Aug. 2001.
- MORAES, M. H. P.; LIMA, E. S.; DIAS, D. P.; SEGGS, J. H.; BOTELHO, A. S.; RAMOS, K. F.; MANOEL, R. M. As condições de preparo em café produzido no estado do Rio de Janeiro como fator na determinação da bebida e na presença de OTA. In: CONGRESSO DE PESQUISAS CAFEIRAS, 8., 2002, Caxambu, MG. **Anais...** Caxambu: [s.n.], 2002. p. 389-391.
- MORAES, M. H. P.; LUCHESE, R. H. Ochratoxin A on green coffee: influence of harvest and drying processing procedures. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Washington, v. 51, n. 19, p. 5824-5828, Sept. 2004.
- NAKAJIMA, M.; TSUBOUCHI, H.; MIYABE, M.; UENO, Y. Survey of Aflatoxin B₁ and Ochratoxin A in commercial green coffee beans by high-performance liquid chromatography linked with immunoaffinity chromatography. **Food and Agricultural Immunology**, Oxon, v. 9, n. 2, p. 77-83, June 1997.
- NASSER, P. P. **Influência da separação de grãos de café (*Coffea arabica* L.) por tamanho na qualidade e ocorrência de OTA**. 2001. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2001.
- PEREIRA, R. T. G.; FRANK, J. M.; PFENNING, L. H. Método para análise de comunidade de fungos associados a frutos e grãos do cafeeiro. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 3., 2003, Porto Seguro-BA. **Resumos...** Porto Seguro: [s.n.], 2003. p. 177-178.
- PITT, J. I.; HOCKING, A. D. **Fungi and food Spoilage**. 2. ed. Cambridge: Chapman & Hall, 1997. 593 p.
- RAPER, K. B.; FENNELL, D. I. **The genus aspergillus**. Baltimore: Williams & Wilkins, 1965. 686 p.
- SAMSON, R. A.; HOEKSTRA, E. S.; FRISVAD, J. C.; FILTENBORG, O. **Introduction to food-borne Fungi**. 4. ed. Centraalbureau: Voor Schimmelcultures Baarn Delft, 2000.

SAMSON, R. A.; HOUBRAKEN, J. A. M. P.; KUIJPERS, A. F. A.; FRANK, J. M.; FRISVAD, J. C. New ochratoxin A or sclerotium producing species in *Aspergillus* section *Nigri*. **Studies in Mycology**, [S.l.], v. 50, p. 23-43, 2004.

SUÁREZ-QUIROZ, M. L.; GONZÁLEZ-RIOS, O.; BAREL, M.; GUYOT, B.; SCHORR-GALINDO, S.; GUIRAUD, J. P. Effect of chemical and environmental factors on *Aspergillus ochraceus* growth and toxigenesis in green coffee. **Food Microbiology**, London, v. 21, n. 6, p. 629-634, Dec. 2004.

TANIWAKI, M. H.; PITT, J. I.; TEIXEIRA, 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**, Amsterdam, v. 82, n. 2, p. 173-179, Apr. 2003.

VIANI, R. Effect of processing on ochratoxin A (OTA) content of coffee. **Advanced in Experimental Medicine and Biology**, New York, v. 504, p. 189-193, 2002.

WILSON, D. M.; MUBATANHEMA, W.; JURJEVIC, Z. Biology and ecology of mycotoxigenic *Aspergillus* species as related to economic and health concerns. **Advanced in Experimental Medicine and Biology**, New York, v. 504, p. 3-17, 2002.