

INFLUÊNCIA DO PROCESSAMENTO E DEFEITOS DO CAFÉ NA INCIDÊNCIA E OCORRÊNCIA DE OCRATOXINA A.

EUGÊNIA A. VARGAS¹, FRANCISCO B. SILVA², ELIENE A. SANTOS¹, SARA M. C. SOUZA³, SANDRA E. SOUZA⁴, TÂNIA B. S. CORRÊA⁵, REGINA C. A. FRANÇA¹, SILÉSIA S. AMORIM¹, LUDWIG H. PFENNING⁶, LUÍS R. BATISTA³, RICARDO T. G. PEREIRA⁶, MÁRCIA D. NOGUEIRA⁷, ANTÔNIO P. NACIF⁸, PAULO C. JUNIOR⁸

¹ Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA, Laboratório Nacional Agropecuário – LANAGRO/MG Belo Horizonte/MG, tel: (31) 3250-0398, e-mail: gena@cldnet.com.br; ² Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA, DECAF-PR, Londrina, ³ Empresa de Pesquisa Agrícola de Minas Gerais, Lavras, ⁴ Universidade Estadual da Bahia, Vitória da Conquista, ⁵ EMBRAPA CTAA, Rio de Janeiro, ⁶ Universidade Federal de Lavras, Lavras, ⁷ Instituto Adolfo Lutz, São Paulo. ⁸ EMBRAPA Café, Brasília.

Resumo

762 amostras de café (1kg) – em sua maioria café arábica processado (beneficiado) oriundos de diferentes estágios da pré e pós-colheita – foram coletados em diferentes regiões do Brasil de acordo com um questionário sobre o histórico da amostra. 60 amostras, entre as 762, foram classificadas e separadas por defeitos, de acordo com a Classificação Brasileira, em 13-17 tipos de defeitos: preto, ardido, brocado, brocado azulado, malformado, concha e miolo de concha, verde, melado, dentre outros. Todas as 762 amostras e as frações de defeitos (446 subamostras) foram analisadas para ocratoxina A e a influência e o impacto do processamento do café e a presença de defeitos na contaminação de ocratoxina A foram determinados.

Palavras-chave: café, defeitos, colheita, ocratoxina A

INFLUENCE OF COFFEE PROCESSING AND DEFECTS ON THE INCIDENCE AND OCCURRENCE OF OCHRATOXIN A

Abstract

762 coffee samples (1 kg) - most of dried processed arabica coffee from several stages of pre and post harvest - were collected from different regions of Brazil. Among them 62 samples (16 kg) were classified and sorted by defects, according to Brazilian Classification, in 13-17 types of defects: black, sour, insect damage beans, malformed, shell, immature, bean with fox silverskin, pulper nipped bean, broken, parchment, sticks, among others. All 762 samples and fractions of defects (446 subsamples) in the coffee samples were analyzed for OTA and the results were evaluated statistically.

Key words: coffee, defects, harvest, ochratoxin A

Introdução

Durante o cultivo, processamento e armazenamento, o café está sujeito à contaminação por ocratoxina A (OTA). OTA é uma micotoxina produzida pelo gênero *Aspergillus* e *Penicillium*. A implementação de boas práticas agrícolas pode minimizar a contaminação por ocratoxina A e a identificação de pontos críticos de controle é fundamental para a implementação do sistema da análise de perigo e pontos críticos de controle – APPCC. Muitos fatores têm sido reportados na literatura como críticos para a produção de um café de boa qualidade e seguro tais como práticas de cultivo, colheita, abanação, separação ou lavagem, secagem: manejo de terreiro e tipo de terreiro, armazenamento, descascamento e transporte (PAS 2004). A presença de defeito no café é um indicativo para sua aceitabilidade no mercado. Neste estudo, foi caracterizado alguns aspectos da qualidade do café (defeitos), cultivo e processamento que contribuem para a ocorrência de ocratoxina A especialmente aqueles relacionados ao processamento *via* seca, e refletidos nesse trabalho como bóia, cereja natural, cereja descascada, mistura de verde/cereja natural, mistura de verde/cereja/bóia (café da roça) e café de varrição.

Material e métodos

762 amostras de café (1kg) – em sua maioria café arábica processado (beneficiado) oriundos de diferentes estágios da pré e pós-colheita – foram coletados em diferentes regiões do Brasil de acordo com um questionário, o que permitiu a

caracterização da infraestrutura das propriedades e de aproximadamente 12 aspectos do processamento, nas etapas de pré e pós-colheita das amostras, como sombreamento, fertilização, irrigação, variedade do café, grau de maturação, tipo de colheita (mecânica e manual), abanação, contato com o solo, separação, processo de secagem (terreiro e secadores). O efeito (independente) de cada aspecto na ocorrência e incidência da contaminação por OTA foi determinada usando Qui-quadrado e teste exato de Fisher. Para a avaliação dos diferentes tipos de café o teste *t* de *student* foi aplicado. A influência dos aspectos acima mencionados da ocorrência de OTA no café foi realizada usando regressão logística baseada em dados categóricos com probabilidade de significância abaixo de 25% selecionada por meio de análise univariada. Todos os resultados foram considerados significativos para menor que 5% ($p < 0,05$), tendo, portanto, pelo menos 95% de nível de confiança.

Sessenta (60) amostras de 16 kg foram coletadas de acordo com um protocolo de amostragem delineado para café beneficiado (Vargas et al. 2004). Cada amostra de 16 kg foi dividida em 03 amostras de 05 kg aproximadamente. Uma das três amostras foi decomposta em 02 subamostras de 01 e 04 kg e nomeadas, respectivamente, original e composta. A amostra composta foi manualmente separada em defeitos e em amostra livre de defeitos. Os defeitos foram separados e classificados segundo a Classificação Brasileira e a ISO 10470 em 13-17 tipos diferentes de defeitos perfazendo um total de 446 subamostras. A contribuição da massa do defeito e da amostra livre de defeitos, assim como sua contaminação para a contaminação total da amostra composta (04 kg) foi determinada.

O teste *t* de *student* foi usado para avaliar a diferença entre os níveis de contaminação por OTA na amostra original e na composta, e nas subamostras de defeitos e na amostra livre de defeitos. A relação entre a contaminação por OTA, quantidade e massa de defeitos foi determinada usando correlação de Pearson (*r*). A frequência de um determinado defeito na amostra composta com contaminação > 5 ng/g foi determinada pelo teste de Fisher. Todos os resultados foram considerados significativos para uma probabilidade $< 0,05$. Todas as amostras e defeitos (subamostras) foram moídos a uma granulometria entre 0,5-1,0 mm, homogeneizadas e analisadas por cromatografia líquida (Vargas et al. 2004).

Resultados e Discussão

A distribuição das 762 amostras classificadas de acordo com o tipo de café (processamento) foi: cereja descascada (28,9%), mistura (20,5%), café de varrição (20,1%), bóia (15,9%), verde/cereja natural (8,0%) e cereja natural (6,7%). A análise de OTA nas 762 amostras revelou uma frequência de contaminação de 83,6% nas amostras com contaminação até 5 ng/g sendo que 48,4% dessas apresentaram contaminação menor que o limite de detecção do método (0,12 ng/g) e, 16,4% das amostras apresentaram contaminação ≥ 5 ng/g (Figura 1).

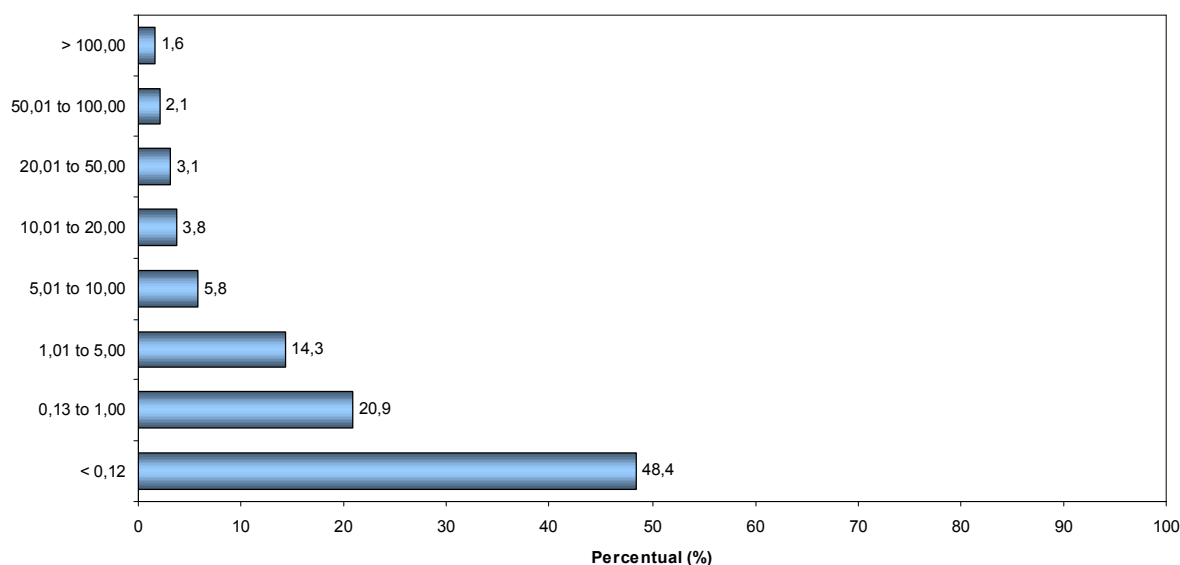


Figura 1: Distribuição (%) das amostras de café por níveis discretos de contaminação por OTA (ng/g)

Houve diferença significativa entre a contaminação do café de varrição e outros tipos de café. Foi verificado que o café de varrição contribuiu para o aumento da contaminação das amostras significativamente, na extensão de 41,8% das amostras com contaminação > 5 ng/g (Tabelas 1 e 2). O café bóia foi o segundo maior contribuinte para a presença de OTA nas amostras de café com 20,6% das amostras com OTA > 5 ng/g, seguido pela mistura de café verde/café cereja (17,6%), verde/cereja madura/passa (14,5%) e cereja descascada com apenas 1,1%. Com relação ao tipo de colheita (mecânica e

manual) foi verificado uma forte tendência ($p < 0,052$, teste qui-quadrado) das amostras colhidas manualmente apresentarem maiores níveis de contaminação por OTA. Cafés oriundos de derriça mecânica ou manual feita diretamente no solo apresentaram níveis mais altos de contaminação por OTA do que aqueles derriçados no pano, cestos ou em peneiras ($p < 0,001$, teste qui-quadrado). Nenhuma diferença significativa nos níveis de contaminação por OTA foi observada em amostras secas em secadores mecânicos em combinação, ou não, com terreiros.

Tabela 1 – Análise descritiva: Níveis de contaminação de OTA por grupo de café: Varrição X Outros

Tipo de café	Medidas descritivas (ng/g)					p
	Mínimo	Máximo	Mediana	Média	D.p.	
Varrição	0,06	773,73	3,12	21,12	75,14	< 0,001 V > O
Outros	0,05	295,76	0,06	4,45	20,10	

V → varrição O → verde, cereja natural, cereja descascada, bôia.

P < 0.001 – teste t de student

Tabela 2 – Influencia do tipo de café: comparação da distribuição dos tipos de café (%) por faixa de contaminação de ocratoxina A

OTA	Tipo de café					
	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅	T ₆
≤ 5ng/g	79,4	90,7	98,9	82,4	85,5	58,1
> 5 ng/g	20,6	9,3	1,1	17,6	14,5	41,9
Total	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

T₁ → Bôia, T₂ → Cereja Natural, T₃ → Cereja descascada, T₄ → Verde/ cereja natural, T₅ → Mistura,

T₆ → Varrição (p < 0,001 A probabilidade de significância refere-se ao teste Qui-quadrado)

Entretanto, foi verificado que o tipo de terreiro influenciou os níveis de contaminação de OTA nas amostras (Tabela 3) tendo o terreiro de asfalto contribuído para os maiores níveis de contaminação do café.

Tabela 3 – Influencia do tipo de terreiro: comparação da distribuição das amostras por tipo de terreiro (%) e por faixa de contaminação de ocratoxina A

OTA	Terreiro				
	Terra	Cimento	Asfalto	Suspenso	Tijolos
≤ 5ng/g	82,7	86,8	62,0	100,0	100,0
> 5 ng/g	17,3	13,2	38,0	0,0	0,0
Total	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

Suspenso=tijolo < cimento < terra < asfalto

p < 0,001 (O valor de p refere-se ao teste exato de Fisher)

Outros fatores foram avaliados em relação a influência nos níveis de contaminação por OTA entre eles altitude, fungicidas, período da colheita, sombreamento, abanação, topografia, precipitação. Foi observada uma tendência de ocorrência de amostras menos contaminadas oriundas de plantações em maiores altitudes ($p < 0,01$, teste de Fisher). Com relação a irrigação, áreas com *pivot central* (alta tecnologia e boas práticas de agrícolas) apresentaram amostras menos contaminadas. Nenhuma influência de fungicidas, período da colheita, sombreamento, abanação, topografia e precipitação nos níveis de contaminação por OTA foi observada nesse trabalho.

Os defeitos de maior ocorrência nas amostras foram: ardido (98,3%), imaturo (85,0%), preto (80,0%), brocado (85,0%), quebrado (75,0%), concha e miolo de concha (88,3%), verde (85,0%), preto/imaturo (60,0%), brocado azulado (53,3%), malformado (41,7%), melado (25,0%), marinheiro (22,3%), coco (15,0%), dentre outros (Figura 2)

Foi observado que 66,7% das amostras continham pelo menos 09 tipos de defeitos. A amostra livre de defeitos e os defeitos: ardidos, brocado azulado, brocado, pretos, malformado e quebrado foram os que mais contribuíram para os níveis de contaminação por OTA. A amostra livre de defeitos contribuiu com aproximadamente 80,0% da amostra composta e 45,9% da contaminação por OTA embora a média (2,97 ng/g) e a mediana (1,77 ng/g) tenham sido relativamente baixas. Por outro lado o defeito ardido contribui com 6,9% da massa geral da amostra composta e 25,9% da contaminação por OTA (Figura 3).

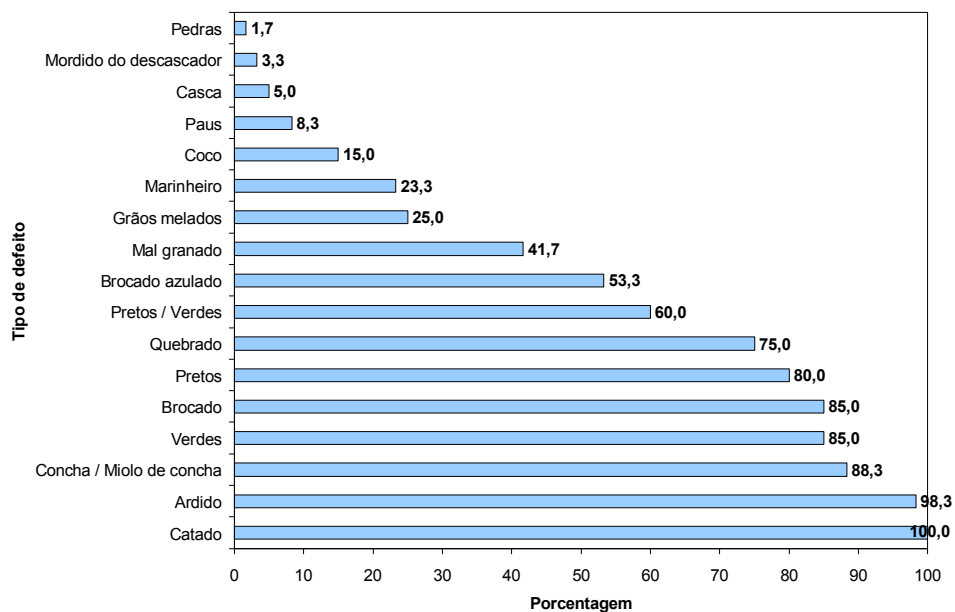


Figura 2: Incidência (%) de grãos de café defeituosos nas amostras de café

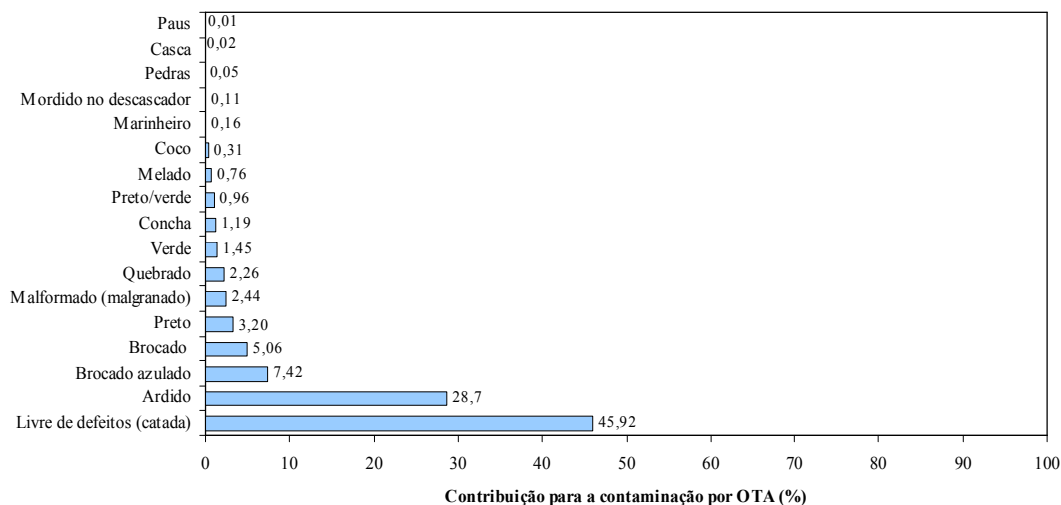


Figura 3: Contribuição (%) dos níveis de contaminação da amostra catada e dos defeitos nos níveis de contaminação das amostras compostas por OTA

A média e a mediana dos níveis de contaminação do defeito ardido foram respectivamente 79,8 e 4,8 ng/g. Em seguida, o brocado azulado contribuiu com 1,5% da massa da amostra composta e com 7,4% da contaminação por OTA com uma média e mediana de respectivamente 27,8 e 0,1 ng/g. Os defeitos preto, pau, marinheiro e brocado azulado foram os defeitos mais presentes em amostras com níveis de contaminação > 5 ng/g com 95% de confiança ($p < 0.05$, teste de Fisher), e a presença dos mesmos deve ser considerada como indicador de contaminação de OTA em café. Foi observado diferenças significativas ($p < 0,05$, teste t student) entre as médias dos níveis de contaminação de OTA nas amostras: livre de defeitos x defeitos, livre de defeitos x original, livre de defeitos x composta, mostrando que a presença de defeitos aumenta os níveis de contaminação no café. Nenhuma correlação significativa entre a massa e a quantidade de defeitos e o nível de contaminação por OTA foi observada.

Conclusão

A partir da análise univariada foi possível identificar os aspectos independentes (efeitos) da pré e pós-colheita que concorrem para a incidência e níveis de contaminação de OTA em café. A análise multivariada (regressão logística) indicou que além dos fatores independentes determinados na análise univariada a presença de OTA em níveis > 5 ng/g foi influenciada pelo tipo de irrigação (tecnologia e boas práticas agrícolas), método de colheita, isto é, contato do café com o solo e o tipo de terreno.

A presença de defeitos impacta negativamente e significativamente a incidência e os níveis de OTA em café. Entre os eles, os defeitos: ardido, brocado azulado, brocado, preto e malformado foram os que mais contribuíram para a incidência e os níveis de OTA em café. Os defeitos pretos, paus, marinheiro e brocado azulado foram os defeitos mais presentes em amostras com níveis de contaminação > 5 ng/g.

Referências Bibliográficas

- Brasil – Diário Oficial da União – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Ministerial no. 08 de 11 de junho de 2003.
- Consórcio Brasileiro de Pesquisa e Desenvolvimento do Café. III Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil. Workshop Internacional de Café & Saúde. Anais...11 a 14 de maio de 2003, Porto Seguro, Bahia. Ed: Embrapa Café, Brasília, DF.
- European Commission. Directiva 2002/26/CE da Comissão de 13 de março de 2002. *Jornal Oficial das Comunidades Europeias*. L75/38-43.
- European Commission. Regulamento (CE) No. 472/2002 da Comissão de 12 de março de 2002. *Jornal Oficial das Comunidades Europeias*. L75/18-20.
- Everitt. B.S. *The Analysis of Contingency Tables*. London: Chapman and Hall. 1989. 128 p.
- FAO (1997) worldwide regulations for mycotoxins, 1997. A compendium. *FAO Food and Nutrition Paper 64* (Rome: FAO).
- Gale Group - *World Coffee Production to Reach Record Level in 2001/01*. (Brief Article) (Statistical Date Included). The Food Institute Report.
- Hosmer. D.W., Lemeshow. S. *Applied Logistic Regression*. New York: Wiley & Sons. 1979.
- ISO - International Standard Organization. *ISO 10470:1993 (E). Green coffee reference chart*. First Edition 1983-06-01.
- Johnson. R., Bhattacharyya. G. *Statistics Principles and Methods*. New York: John Wiley & Sons. 1986. 578p.
- Matiello, J. B., 1991. O café: do cultivo ao consumo. *Coleção do Agricultor – Grãos*, editora Globo Rural, 320p.
- PAS - Programa Alimentos Seguros. *Manual de Segurança e Qualidade para a Cultura do Café*. Brasília: EMBRAPA/SEDE, 2004, 83 p. (Qualidade e Segurança de Alimentos). Projeto PAS Campo. Convênio CNI/SENAI/SEBRAE/EMBRAPA.
- Vargas, E. A., Santos, E.A., & Pittet, A., 2003, Determination of Ochratoxin A in Green Coffee by Immunoaffinity Column Clean-up and Liquid Chromatography: *D-2 Collaborative Study* submitted for consideration by AOAC International as Official First Action Method. 17p.
- Vargas, E. A., Whitaker, T. B., Santos, E. A., Slate, A. B., Lima, F. B., França, R. C. A., Testing Green Coffee for Ochratoxin A, Part II: Observed Distribution of Ochratoxin A Test Results, *Journal of AOAC International*. *DOC 04120*. In Press 2004a.
- Vargas, E. A., Whitaker, T. B., Santos, E. A., Slate, A. B., Lima, F. B., França, R. C. A., Testing Green Coffee for Ochratoxin A, Part I: Estimation of Variance Components, *Journal of AOAC International*. (3), v. 86, 534-539, 2004b.

Apoio: PNP&D Café