



FACULDADE DE CIÊNCIAS DA NUTRIÇÃO E ALIMENTAÇÃO

UNIVERSIDADE DO PORTO

Micotoxinas Contaminantes

Do Café

Ana Sofia Pimenta de Pinho Martins

2002/2003



ÍNDICE

Índice	i
Lista de Abreviaturas	iii
Resumo	v
1 - Introdução	1
2 - O que são as micotoxinas?	2
3 - Processamento Primário do Café e sua contaminação por micotoxinas	8
4 - Principais micotoxinas contaminantes do Café	16
4.1 - Ocratoxina A	17
4.1.1 - Origem	17
4.1.2 - Principais Fontes Alimentares	18
4.1.3 - Presença de Ocratoxina A no Café	19
A) - Ocorrência de fungos produtores de Ocratoxina A nos bagos e grãos de Café	19
B) - Colheita e Processamento Primário	21
b ₁) - Maturação dos bagos de Café	21
b ₂) - Secagem ao Sol - via seca	21
b ₃) - Via Húmida	23
b ₄) - Armazenamento	23
b ₅) - Transporte	25
C) - Processamento Industrial do Café	26
c ₁) - Torra e Extracção	26

c ₂) - Ocorrência de Ocratoxina A no produto final e estimativas da exposição humana à micotoxina pelo consumo de Café	28
4.1.4 - Toxicidade da Ocratoxina A, Mecanismo de Acção e Consequências	33
4.2 - Aflatoxinas	34
4.2.1 - Origem	34
4.2.2 - Principais Fontes Alimentares	36
4.2.3 - Presença de Aflatoxinas no Café	36
4.2.4 - Toxicidade das Aflatoxinas, Mecanismo de Acção e Consequências	39
4.3 - Esterigmatocistina	41
5 - Análise Crítica	42
6 - Conclusões	46
Bibliografia	vii
Anexos	xvi
Índice de Anexos	xvi

LISTA DE ABREVIATURAS

A - Adenina

ADN - Ácido Desoxirribonucleico

AFB₁ - Aflatoxina B₁

AFB₂ - Aflatoxina B₂

AFG₁ - Aflatoxina G₁

AFG₂ - Aflatoxina G₂

AFM₁ - Aflatoxina M₁

AFs - Aflatoxinas

ATP - Adenosina Tri-Fosfato

a_w - actividade da água

BPA - Boas Práticas Agrícolas

BPF - Boas Práticas de Fabrico

C - Citosina

G - Guanina

HR - humidade relativa

IARC - International Agency for Research on Cancer

IDTP - Ingestão Diária Tolerável Provisória

ISTP - Ingestão Semanal Tolerável Provisória

JECFA - FAO/WHO Joint Expert Committee on Food Additives

MAFF - Ministry of Agricultural, Fisheries and Food

mtx - micotoxina/micotoxinas

NEB - Nefropatia Endémica dos Balcãs

OTA - Ocratoxina A

T - Timina

tARN - Ácido Ribonucleico transportador

ton - toneladas

UV - ultra-violeta

VHB - Vírus da Hepatite B

FAO - Food and Agricultural Organization of the United States

WHO - World Health Organization

RESUMO

A contaminação global de alimentos e rações por micotoxinas é um problema significativo. Estima-se que cerca de 25% das colheitas agrícolas em todo o mundo possam estar contaminadas. Para além dos produtos agrícolas, a exposição humana a estes tóxicos naturais, dá-se também pelo consumo de alimentos de origem animal. A carne e o leite de animais alimentados com rações contaminadas podem conter resíduos tóxicos, resultantes da biotransformação das micotoxinas, igualmente nefastos.

Sabe-se que as aflatoxinas se encontram principalmente nos cereais, milho, amendoins, sementes de algodão e alimentos de origem animal, leite e carne. A esterigmatocistina associa-se sobretudo à ingestão de cereais. A ocratoxina A pode encontrar-se, entre outros, nos cereais, vinho, carne (especialmente de porco), cerveja e sumo de uva.

À semelhança de outras colheitas, o café é susceptível de se contaminar por micotoxinas. A demonstrá-lo, estão os vários estudos que referem a presença frequente de ocratoxina A neste produto. Em experiências animais, este composto mostrou ser nefrotóxico, imunossupressor, hepatotóxico, teratogénico e nefrocarcinogénico. Para além destes efeitos, a ocratoxina A parece estar implicada na Nefropatia Endémica dos Balcãs, uma doença crónica dos rins que afecta, sobretudo, habitantes das zonas rurais dos Balcãs.

Apesar de escassos, existem trabalhos nos quais também se demonstrou a ocorrência de aflatoxinas e esterigmatocistina no café. As aflatoxinas, das quais a mais tóxica e também a mais frequentemente encontrada é a AFB₁, são dos compostos naturais que mais perigos acarretam para a Saúde Pública. Estudos

experimentais demonstraram que estes compostos são mutagénicos, teratogénicos, imunossupressores e carcinogénicos, sendo o fígado o principal órgão atingido. A esterigmatocistina é estrutural e biologicamente semelhante às aflatoxinas e parece ser, sobretudo, hepatotóxica.

Os grãos de café passam basicamente por quatro estádios desde a sua origem até à sua utilização na produção industrial de café: maturação e processamento dos bagos, transporte e armazenamento. Durante estas etapas, se não forem tomados os devidos cuidados, poderão ser contaminados, com as micotoxinas referidas, particularmente ocratoxina A. A grande maioria dos estudos que focam a influência da torra na contaminação, revela uma redução significativa dos níveis das micotoxinas em causa. O processo de descafeinização parece contribuir para a redução da contaminação de ocratoxina A, porém exerce efeito contrário no caso das aflatoxinas.

Apesar de o café não ser a principal fonte destas micotoxinas na alimentação, contribui para a sua ingestão. Por isso, deve-se tentar reduzir ao máximo a sua presença, o que se consegue, fundamentalmente, pela aplicação de boas práticas agrícolas e boas práticas de fabrico.

1 - INTRODUÇÃO

O café tem sido, desde tempos imemoriais, sinónimo de bebida agradável, aromática e estimulante, propriedades que lhe têm trazido cada vez mais adeptos. De facto, actualmente, o café é uma das bebidas mais consumidas em todo o mundo. ^(1, 2)

Conta a famosa lenda associada à sua descoberta que, em meados do século IX, na Abissínia, hoje Etiópia, um pastor de nome Khaldi, reparou que as suas cabras, normalmente calmas, um dia desataram a fazer cabriolas, mostrando um estado de grande excitação. Intrigado com o desassossego do rebanho, o pastor seguiu as cabras e descobriu que tinham estado a mordiscar uns frutos vermelhos que cresciam em árvores carregadas de flores. Curioso, resolveu experimentar esses frutos, e qual não foi o seu espanto, quando de repente, se sentiu enérgico e excitado. Era tanto o entusiasmo que resolveu imediatamente correr à aldeia para anunciar a sua descoberta. No caminho, encontrou um velho sábio muçulmano que andava preocupado com a sua recente tendência para dormir, coisa que em nada facilitava as suas orações da noite. Khaldi contou-lhe o segredo dos bagos vermelhos e o sábio, considerando-os obra do diabo, atirou-os para a fogueira e foi então que reparou que libertavam um agradável aroma. Mais curioso que Khaldhi, o religioso fez várias experiências com os frutos até que se lembrou de os ferver em água, obtendo assim, uma bebida de deliciosa fragrância. ^(1, 3, 4)

Hoje constata-se que o café é um dos mais valiosos produtos no comércio mundial. Aliás, é, a seguir ao petróleo, a mercadoria com maior impacto comercial. Anualmente, cerca de 70 países, produzem, ao todo,

aproximadamente 6 milhões de toneladas de café. O seu cultivo, processamento, armazenamento, transporte, marketing e comercialização, fornecem emprego a milhões de pessoas em todo o mundo. O café é crucial na vida económica e política de muitos países subdesenvolvidos. De facto, a maioria dos países produtores é economicamente dependente da sua exportação, a qual pode mesmo atingir mais de 80% da economia do país. ⁽⁵⁾

Dado que o café é muito apreciado e consumido a nível mundial, a sua contaminação por micotoxinas poderá ter consequências nefastas na saúde dos consumidores.

O presente trabalho, tem assim, por objectivos, descrever quais as micotoxinas mais frequentemente associadas à contaminação do café, de que modo o café pode ser contaminado ao longo do seu processamento, bem como referir algumas medidas que poderão prevenir esta perigosa ocorrência.

2 - O QUE SÃO AS MICOTOXINAS?

As micotoxinas (mtx) são metabolitos secundários tóxicos de baixo peso molecular, produzidas por espécies de fungos filamentosos (vulgarmente designados bolores), que se desenvolvem em rações animais e em diversos produtos alimentares destinados à alimentação humana. ⁽⁶⁻⁸⁾

Estes metabolitos secundários não são essenciais ao crescimento dos microrganismos que os produzem; parecem ser resultado da acumulação de

metabolitos primários precursores, como por exemplo, aminoácidos, piruvatos e acetatos, entre outros. ^(6, 9, 10) A síntese de mtx representa, assim, um modo pelo qual os fungos têm possibilidade de reduzir o excesso de precursores metabólicos desnecessários para o seu metabolismo. ⁽⁹⁾ Saliencia-se, no entanto, que nem todos os fungos são toxigenicos (isto é, produtores de mtx), bem como, nem todos os metabolitos secundários sintetizados se enquadram no grupo das mtx. ^(6, 7)

A designação "micotoxinas" engloba uma enorme diversidade de compostos químicos com potencial tóxico, que em comum, têm apenas o referido facto de serem produtos originados de bolores. ^(7, 8) Até à data, foram já isoladas e quimicamente caracterizadas mais de 300 mtx, mas somente alguns destes compostos têm sido objecto de intensa investigação, não só devido à frequente ocorrência em diversos alimentos, mas sobretudo pela toxicidade produzida tanto nos animais como nos humanos. Entre muitas mtx destacam-se, pela sua toxicidade, as aflatoxinas, as ocratoxinas, os tricotecenos, a zearalenona, as fumonisinas, os alcalóides produzidos pelo *Claviceps purpurea*, a citrinina e a esterigmatocistina. ⁽⁶⁻⁸⁾

As espécies toxigenicas mais frequentemente encontradas nas colheitas agrícolas, alimentos e rações animais, incluem-se nos géneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* e *Claviceps*. Estes bolores podem sintetizar uma, ou mais mtx, incluindo, claro está, as anteriormente referidas. ^(9, 10)

Às intoxicações humanas e animais associadas à ingestão de alimentos ou rações contaminadas com estes metabolitos tóxicos, dá-se o nome de micotoxicoses. Os alimentos contaminados podem ser dotados de toxicidade aguda ou crónica.

A toxicidade aguda resulta, geralmente, da exposição a níveis elevados de mtx e os seus efeitos são visíveis num curto período de tempo após a exposição. A toxicidade crónica, pelo contrário, é motivada por uma ingestão de níveis baixos durante um período de tempo alargado. Os efeitos crónicos tornam-se visíveis tardiamente e, por vezes, só se manifestam algum tempo após o período de exposição ter cessado. ⁽⁶⁻⁹⁾

Os efeitos das micotoxicoses, para além da quantidade e duração da exposição, dependem do tipo de mtx em causa e do seu mecanismo de acção específico, da espécie animal envolvida, da idade, do estado de saúde e do estado nutricional. ^(7,11)

Muito embora as micotoxicoses resultem principalmente da ingestão de alimentos contaminados, a inalação e a absorção cutânea das mtx são também importantes vias de exposição. ^(7, 12)

Normalmente, quando as micotoxicoses agudas ocorrem chamam a atenção pela forma dramática como surgem os sintomas da doença ou mesmo a morte dos animais contaminados. A identificação da mtx responsável pode ser mais fácil quando existem ainda amostras dos alimentos responsáveis disponíveis para análise, podendo ser aplicados os métodos de controlo apropriados. ⁽⁸⁾

Porém, no caso das micotoxicoses crónicas, infelizmente as de maior impacto e preocupação na saúde humana e animal, a situação torna-se mais complicada, dado o considerável espaço de tempo entre a exposição e o início da patologia associada. A realização de estudos epidemiológicos é, na maioria das vezes, o único meio de se conseguir estabelecer uma relação de dose-resposta entre a mtx suspeita e a doença. ^(6, 8)

Muito embora seja necessária mais investigação, pensa-se que a indução de toxicidades específicas em determinados órgãos (por exemplo, rins), o comprometimento do sistema imune, bem como o desenvolvimento de cancro, sejam alguns exemplos de patologias importantes, relacionadas com este tipo de exposição. ^(6, 8, 10)

Para que uma mtx seja considerada responsável pela ocorrência de uma determinada micotoxicose devem reunir-se as seguintes condições:

- existência da mtx na alimentação,
- exposição do homem à mtx,
- correlação entre a exposição e a incidência da doença,
- reprodutibilidade dos sintomas característicos nos animais,
- modo de acção semelhante no homem e nos animais. ⁽¹⁰⁾

A contaminação dos alimentos e rações animais por mtx, para além de ser uma questão deveras preocupante na Saúde Pública, causa também um enorme impacto económico na produção de bens alimentícios. Existem múltiplos critérios que nos permitem verificar o prejuízo económico causado pelas mtx: perda de vidas humanas e animais, cuidados de saúde (humana e animal), destruição de colheitas, de alimentos, de rações animais e ainda custos de investigações no sentido de se determinar o impacto e severidade desta ocorrência. ⁽⁶⁾

A contaminação de alimentos e rações a nível mundial é um problema significativo. Estima-se que cerca de 25% das colheitas agrícolas em todo o mundo possam estar contaminadas com mtx. ⁽¹³⁾

O quadro resumo da página seguinte refere-se à toxicidade das mtx com maior impacto na Saúde Pública, bem como aos principais géneros de fungos produtores e alimentos mais susceptíveis à contaminação. ⁽⁸⁾

As espécies de fungos toxigenicas podem desenvolver-se e produzir mtx antes da colheita dos produtos agrícolas, nos quais se inclui o café, durante o armazenamento ou em fases posteriores, nomeadamente durante o transporte.

Toxinas	Principais fungos produtores e bens alimenticios afectados	Toxicidade Aguda	Toxicidade Crónica
Tricotecenos, Toxina T2, DON, NIV	Fusarium sp. Cereais	Lesões gastro-intestinais. Aleucia Tóxica Alimentar	Nenhuma toxicidade crónica confirmada
Aflatoxinas	Aspergillus sp. Cereais, oleaginosas, frutos secos	Aflatoxicoses	Cancro do fígado primário
Esterigmatocistina	Aspergillus sp. Cereais	Hepatotoxicidade	Cancro do fígado primário
Ocratoxina A	Penicillium sp. Cereais e outros produtos	Nefrotoxicidade	Nefrotoxicidade Tumores nos rins
Fumonisina B1	Fusarium sp. milho	Hepatotoxicidade, nefrotoxicidade	Cancro do esófago (?)
Zearalenona	Fusarium sp. Cereais	Efeitos menores	<i>Hyperoestrogenic</i>
Patulina	Penicillium, Aspergillus, Byssochlamys sp. Frutos	Toxicidade gastro-intestinal	Níveis normais de contaminação não provocam efeitos prejudiciais

Quadro 1 - Toxicidade de algumas micotoxinas. ⁽⁹⁾

Legenda: DON - deoxinivalenol; NIV - nivalenol

A contaminação dos produtos alimentares ocorre frequentemente em regiões de clima quente e húmido (condições propícias ao crescimento da maioria dos fungos) muito embora os fungos produtores possam também ser encontrados em áreas de clima temperado. ^(6, 7, 10, 11) Sabe-se, por exemplo, que nas regiões

norte de clima temperado da Europa, América e Ásia, as espécies toxinogénicas mais frequentemente encontradas, pertencem ao género *Fusarium*.⁽¹⁴⁾

É importante salientar que a presença destes fungos nos alimentos não significa necessariamente a formação de mtx. A produção destes metabolitos tóxicos é condicionada por diversos factores, nomeadamente, humidade, temperatura, tempo de armazenamento, presença de oxigénio (O₂), composição do substracto, interacções entre microrganismos e presença de insectos.^(15, 11)

A exposição humana às mtx resulta não só do consumo de produtos agrícolas, mas também da ingestão de alimentos de origem animal. A carne e o leite de animais alimentados com rações contaminadas podem conter resíduos tóxicos, resultantes da biotransformação das mtx, igualmente nefastos.⁽⁶⁾

Em geral, a exposição às mtx ocorre sobretudo em partes do mundo onde as prática de manuseamento e armazenamento dos alimentos são precárias, onde a malnutrição é um grave problema e onde a legislação referente ao limites máximos de contaminação (de modo a proteger as populações expostas aos perigos que advém da ingestão destas substâncias) é escassa ou inexistente. Nos países desenvolvidos as pessoas tendem, normalmente, a evitar a utilização de produtos contaminados com bolores na sua alimentação, acreditando-se por isso, que a exposição a níveis agudos de mtx seja rara. Porém, não nos podemos esquecer que muitos destes metabolitos tóxicos sobrevivem às etapas de processamento dos produtos primários.⁽⁶⁾

3 - PROCESSAMENTO PRIMÁRIO DO CAFÉ E SUA CONTAMINAÇÃO POR MICOTOXINAS

A planta do café pertence ao género *Coffea* e à família *Rubiceae*. Apesar de estarem descritas mais de 66 espécies do mesmo género, somente duas são comercialmente exploradas: *Coffea arabica* e *Coffea canephora*, que originam, respectivamente, o café arábica e o café robusta (Quadro 2). A planta do café é cultivada em torno da faixa equatorial (onde também se desenvolve naturalmente), entre os trópicos de Cancer e de Capricórnio. ^(2, 17)

	<i>C. arabica</i>	<i>C. canephora</i>
Descrição da espécie	1753	1895
Variedades botânicas mais comuns	arábica ou típica, bourbon, maragogipe	robusta, nganda
Crescimento óptimo		
Clima	temperado	quente, húmido
Altitude	1000 – 2000 m	0 – 700 m
Temperatura média	15 – 24°C	24 – 30°C
Pluviosidade (ano)	1500 – 2000 mm	2000 – 3000 mm
Planta e bagos		
Cromossomas	44	22
Folha	pequena, oval	grande, larga, franzida
Sistema radicular	profundo	superficial
Produção (kg grãos/ha)	1500 – 3000	2300 – 4000
Floração	após chuva	irregular
Amadurecimento dos frutos	8 - 9 meses	10 - 11 meses
Susceptibilidade a doenças		
<i>Hemileia vastatrix</i>	susceptível	resistente
<i>Colletotrichum coffeanum</i>	susceptível	resistente
<i>Stephanodores coffeae</i>	susceptível	susceptível
Grãos		
Forma	compridos, planos	ovais, mais pequenos
Conteúdo em cafeína (% matéria seca)	0.8 – 1.4% (média 1.2%)	1.7 – 4.0% (média 2.0%)
Características da infusão	acidez	amargor, corpo
Forma de processamento primário mais comum	método húmido	método seco

Quadro 2 - Principais diferenças entre as espécies *Coffea arabica* e *C. canephora*. ^(5, 17, 18)

Para se obterem os grãos de café é necessário proceder-se à sua extracção do interior dos frutos ou bagos de café. Este procedimento designa-se processamento primário e engloba múltiplas operações. Dependendo sobretudo da tradição do país, usam-se, na prática, dois métodos: via seca ou via húmida. A principal diferença entre eles reside no facto de na via húmida os frutos serem despolidos e sujeitos ao processo de fermentação antes da secagem, o que não se verifica na via seca, na qual os frutos são colhidos e secos inteiros ao sol. As operações posteriores à secagem que transformam os cafés obtidos por ambas as vias em café verde (ou café comercial ou ainda café crú) designam-se no seu conjunto por benefício. ^(16, 17, 19, 20)

A figura seguinte representa um bago de café com os vários tecidos que envolvem a semente.

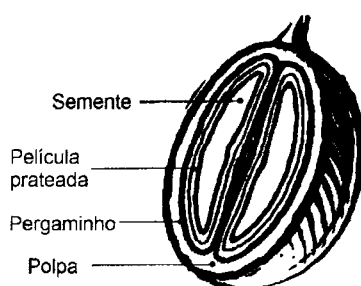


Figura 1 - Identificação dos vários tecidos que envolvem a semente. ⁽¹⁶⁾

A figura 2 traduz, esquematicamente, as operações características de cada um dos métodos, assinalando-se as operações onde há aumento da probabilidade do risco de contaminação por mtx. ⁽²¹⁾ Como se pode observar, a colheita dos frutos é o primeiro passo do processamento do café. Para que se realize em perfeitas condições, torna-se necessário que os frutos do cafeeiro

amadureçam, o que, dependendo das condições ambientais, acontece normalmente, 9 meses após a floração para o café arábica e 11 meses para o café robusta.

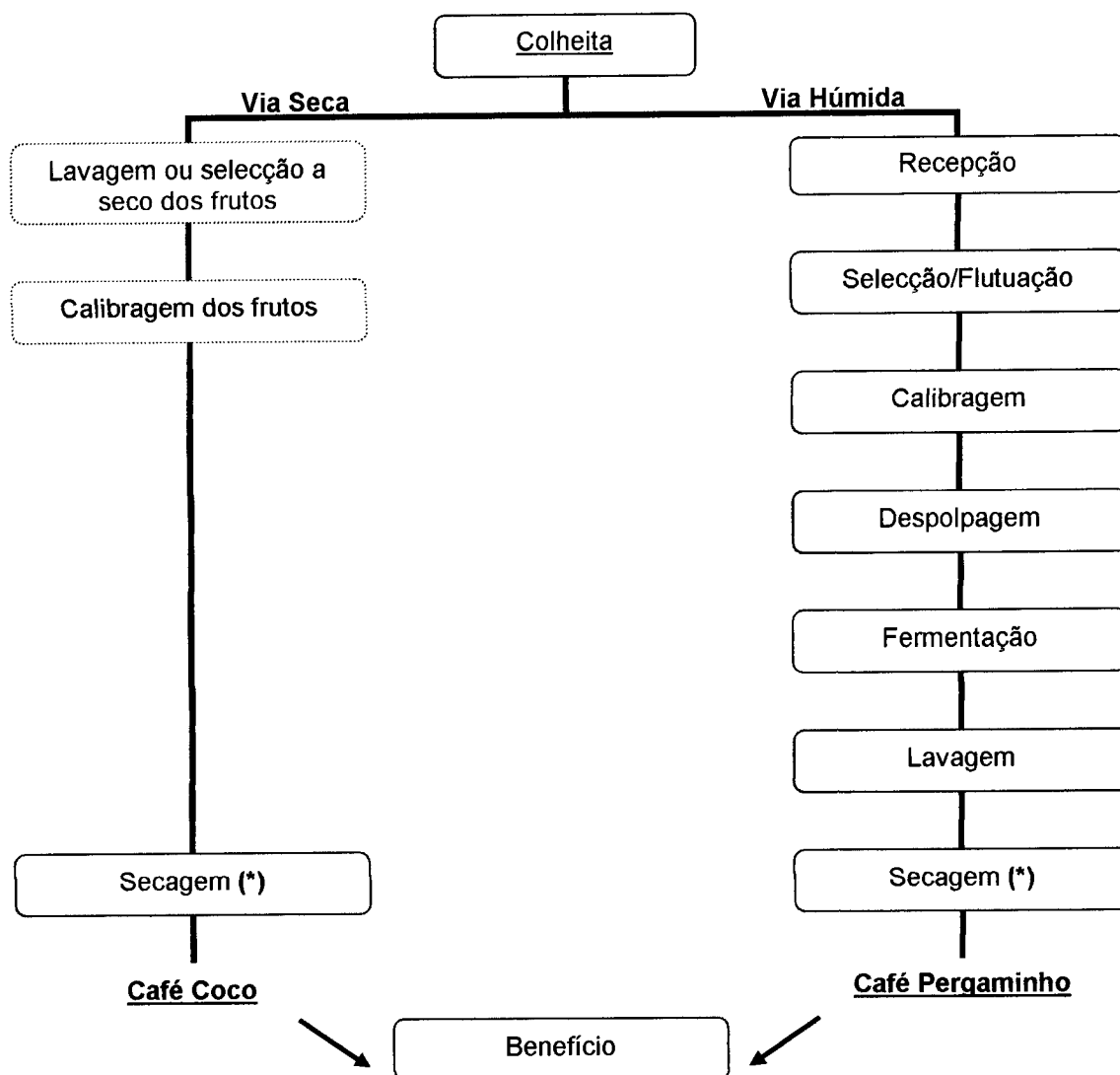


Figura 2 - Operações características das vias seca e húmida. ^(19, 22)

(Notar que a tracejado estão as etapas que nem sempre se realizam)

Legenda - (*) - risco de contaminação ⁽²¹⁾

Normalmente a colheita realiza-se de forma manual e o seu modo depende do tipo de processamento a utilizar. No processo húmido, realiza-se

maioritariamente a colheita seleccionada, na qual o agricultor escolhe, um a um, os frutos em perfeito estado de maturação: bagos vermelhos, brilhantes e firmes. Na via seca utiliza-se a colheita a “pentear”, que consiste, como o nome indica, no pentear dos ramos do cafeeiro, arrastando os frutos que não oferecem resistência. (16, 19, 20)

Via Seca

Na via seca, e de acordo com o esquema anterior, depois da colheita os bagos de café são sujeitos a uma primeira selecção, no sentido de se separarem os verdes, os demasiado maduros e os danificados, que interferem negativamente na qualidade do produto final. Esta selecção pode também fazer-se mergulhando os frutos em água, sendo o material separado com base na densidade. Impurezas, folhas, pedras e outros materiais estranhos são também removidos. (16, 19)

Depois de serem separados por calibre, os bagos são então espalhados em pátios, esteiras ou outras plataformas elevadas, iniciando-se a secagem ao sol. Infelizmente, as duas primeiras operações nem sempre se realizam, sendo os bagos directamente encaminhados para os locais de secagem, após a colheita.

Nesta operação, a espessura das camadas deve permitir que os frutos sejam fácil e frequentemente mexidos de modo a que o processo decorra uniformemente. A humidade inicial dos bagos pode variar de 65 a 70% para os maduros e de 30 a 40% para os muito maduros. Se as condições climatéricas o permitirem, a secagem será total ao fim de 3 a 4 semanas. Dado que os bagos de café são bastante higroscópicos, é conveniente que sejam tapados durante o

período noturno para que a humidade eliminada durante o dia não seja absorvida à noite. ^(16, 19, 20) A manutenção de uma humidade relativamente elevada durante a secagem e etapas posteriores, favorece o ataque de pragas, o crescimento de microrganismos, e a proliferação de fungos, alguns dos quais toxinogénicos, aumentando consideravelmente o risco de contaminação do produto com mtz, particularmente ocratoxina A (OTA). ^(19, 21) No final do processo a humidade deverá rondar os 12%, valor aceitável para o descasque, manuseamento, conservação das características do café. O café finalmente obtido designa-se café coco.

Esta via é utilizada para quase todo o café arábica brasileiro, para a maioria do café produzido na Etiópia, Paraguai e Haiti, bem como para algum café arábica produzido na Índia e Equador. Na maior parte das regiões produtoras de café robusta também se utiliza a via seca. ^(16, 19, 20)

Via Húmida

A via húmida é um processo mais sofisticado que o anterior, e conduz geralmente à obtenção de um café de melhor qualidade. É normalmente utilizada para o processamento da maioria do café arábica e para os robustas de melhor qualidade. ⁽¹⁷⁾

A sua designação provém do facto de serem necessários grandes volumes de água potável, que é o veículo de condução do café até se atingir a fase de secagem.

Para impedir a fermentação dos bagos recém-colhidos, estes são imediatamente lavados em grandes tanques, de onde são, em seguida,

conduzidos até às máquinas despulpadoras. Nestas perdem a pele e parte da polpa. De seguida, os frutos são levados, sempre pela água corrente, para os tanques de fermentação. Nesta etapa, para além da remoção de resíduos de polpa que tenham resistido à operação anterior, pretende-se a hidrólise das mucilagens. Os grãos envoltos no pergaminho, uma vez livres das mucilagens, são lavados e espalhados em pátios ou plataformas elevadas e secos ao sol. À semelhança da via seca, o café é disposto em camadas que devem ser frequentemente mexidas para que a secagem seja uniforme.

Ao final do dia deve ser amontoado e protegido da humidade nocturna e risco de chuva.

Normalmente a secagem termina ao final de 8 a 10 dias, podendo este tempo, no entanto, diminuir ou aumentar conforme as condições de humidade relativa (HR) do ar e temperatura locais. O objectivo da secagem é, tal como no processamento anteriormente descrito, reduzir a humidade do café para os 12%, de modo a permitir o seu manuseio e evitar a sua deterioração no armazenamento. O café obtido pela via húmida designa-se café pergaminho. (16, 19, 20)

Benefício

O café coco e o café pergaminho, depois de obtidos, são sujeitos a uma série de operações, designadas colectivamente por benefício, transformando-se em café verde. Este conjunto de operações está esquematizado na figura 3.

Quando o café (coco e pergaminho), por qualquer motivo, chega ao centro de tratamento com uma humidade superior a 12%, é sujeito a uma operação de secagem, feita geralmente pelo recurso a secadores. ⁽¹⁶⁾

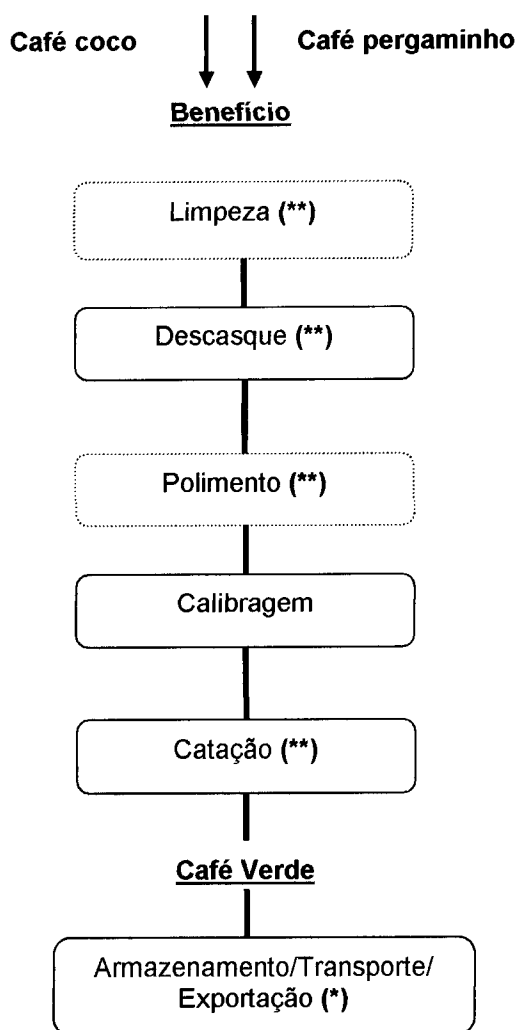


Figura 3 - Operações características do Benefício. ^(19, 22)

(Notar que a tracejado estão as etapas que nem sempre se realizam)

Legenda - ()** - redução do risco de contaminação; **(*)** - risco de contaminação ⁽²¹⁾

De seguida procede-se à limpeza, que consiste sobretudo na separação das impurezas e corpos estranhos que acompanham o café pergaminho e sobretudo o café coco. Esta etapa, infelizmente, nem sempre se realiza passando

o café directamente para o descasque, operação que tem por objectivo a libertação das sementes do endocarpo (no café pergaminho) e do exocarpo (no café coco), obtendo-se finalmente os grãos de café verde. ^(19, 20) Alguns autores afirmam que grande parte da OTA se encontra nas cascas do café, sobretudo no obtido por via seca, daí, que a operação de descasque seja de capital importância para a redução da contaminação por mtx ^(21, 23, 24). A seguir ao descasque poderá realizar-se o polimento, que não é mais do que retirar a “película prateada” ou tegumento, tecido que envolve a semente e que é de difícil remoção, especialmente no caso dos cafés processados por via seca. ⁽¹⁹⁾ A libertação deste tecido dá-se sobretudo na torra do café, por expansão do volume dos grãos. Estudos da influência da torra no conteúdo de OTA sugerem que a remoção da película prateada contribui para a diminuição dos seus níveis. ⁽²⁵⁾

Posteriormente à remoção das cascas faz-se a calibragem dos grãos, tendo em conta a sua forma e tamanho, a fim de se obter um produto final uniforme, em obediência às exigências do comércio internacional.

Por último realiza-se a catação, que consiste na remoção de grãos defeituosos (mal formados, quebrados, furados, manchados, infestados) e de materiais estranhos que ainda acompanham os lotes de café verde, contribuindo também esta operação para a redução do risco de contaminação do café. ^(19-21, 23)

Após o benefício, o café é ensacado (tradicionalmente em sacos de juta de 60 kg) e armazenado até ser exportado. O café verde é susceptível a alterações que afectam a sua aparência e *flavour*, especialmente na presença de elevadas temperaturas (acima de 25°C) e HR que proporcione o aumento de humidade dos grãos acima de 12%. Estas condições, como já referido, permitem o crescimento de fungos, aumentando, desta forma, a probabilidade de síntese de mtx. Assim,

temperatura, HR e ventilação são factores que devem ser rigorosamente controlados durante o armazenamento e o transporte (terrestre e marítimo) do café. ⁽¹⁹⁾

Depois de exportado para os países consumidores, o café é, normalmente, torrado, embalado (moído ou em grão) e comercializado. ⁽¹⁶⁾

4 - PRINCIPAIS MICOTOXINAS CONTAMINANTES DO CAFÉ

O café, à semelhança de muitos outros produtos de origem agrícola, está sujeito a ser contaminado e conseqüentemente colonizado por uma grande diversidade de microrganismos, incluindo, claro está, espécies de fungos toxinogénicas, nas fases de pré e pós-colheita. De facto, estudos microbiológicos efectuados a bagos e grãos de café demonstram que os fungos - *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium* - são contaminantes naturais do café e estão presentes durante as diferentes fases de cultivo, processamento, transporte e armazenamento. ⁽²⁶⁻²⁸⁾ Se as condições ambientais forem propícias, por exemplo, temperatura e humidade elevadas, alguns destes fungos, são capazes de produzir mtx. ^(27, 28)

São vários e recentes os trabalhos que referem a presença de OTA tanto no café verde como no torrado, sendo os níveis de contaminação bastante variáveis. A sua ocorrência tem gerado grande preocupação no mercado consumidor do produto, em consequência do seu carácter nefrotóxico e

carcinogénico, entre outros, que compromete não só a comercialização do café, mas principalmente a saúde do consumidor. (26, 29-37)

Existem também relatos da contaminação deste produto com aflatoxinas (AFs) e esterigmatocistina. (29, 38-40)

4.1 - Ocratoxina A

4.1.1 - Origem da OTA

As ocratoxinas, das quais a mais frequentemente encontrada e a mais tóxica é a OTA, são produzidas por várias espécies de fungos do género *Aspergillus* e, pelo que se sabe até à data, por uma só espécie do género *Penicillium*, o *P. verrucosum*. (23, 41, 42)

A OTA foi pela primeira vez isolada em 1965 de uma cultura de *Aspergillus ochraceus*, derivando daí a sua designação. Embora a espécie *A. ochraceus*, seja a mais importante produtora de OTA, outras espécies pertencentes ao mesmo género, também produzem a micotoxina: *A. melleus*, *A. alliaceus*, *A. sclerotiorum*, *A. sulphureus*, *A. ostianus*, *A. petrakii*, *A. niger*, *A. auricomus* e *A. carbonarius*. (6, 41-44)

O *P. verrucosum* desenvolve-se a temperaturas abaixo dos 30°C e as condições ideais de crescimento alcançam-se quando o substrato apresenta uma actividade da água (a_w) inferior a 0.80. Por isso, é sobretudo encontrado em regiões de climas frio e temperado, sendo a fonte primária de OTA em cereais armazenados e produtos derivados, na Europa e na América do Norte. (14, 42) A

espécie *Aspergillus ochraceus* é frequentemente isolada em regiões de clima tropical e quente. (32, 42)

Quimicamente, a OTA, é composta por uma dihidroisocumarina ligada, através do seu grupo carboxil na posição 7 à L-β-fenilalanina, sendo a sua fórmula molecular $C_{20}H_{18}ClNO_6$. (42)

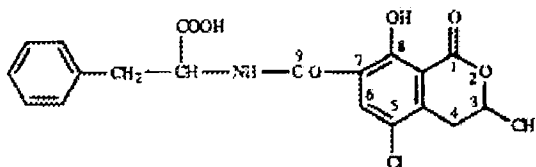


Figura 4 - Estrutura Química da OTA (42)

4.1.2 - Principais Fontes Alimentares de OTA

A exposição humana a esta micotoxina ocorre principalmente através do consumo de grãos contaminados. Para além dos cereais (por exemplo, aveia, centeio e cevada), aparece também em sementes de oleaginosas, café, malaguetas, sumo de uva, cacau, cerveja e vinho. A OTA pode ainda encontrar-se na carne de porco, sobretudo nos enchidos à base de sangue, quando o porco é alimentado com rações contaminadas. Por outro lado, não se encontra na carne de bovinos (e outros animais ruminantes), dado que é destruída pela acção enzimática de protozoários e bactérias que se encontram no rúmem destes animais. No entanto, pode encontrar-se OTA no leite de vacas expostas a elevados níveis de contaminação. (6, 7, 14, 30, 41, 42, 45, 46)

A FAO/WHO Joint Expert Committee On Food Additives (JECFA) determinou para a OTA uma "Ingestão Semanal Tolerável Provisória" (ISTP) de

100 ng/kg de peso corporal (equivalente a uma “Ingestão Diária Tolerável Provisória” (IDTP) de 14 ng/kg de peso corporal).^(35, 37, 46)

Segundo a mesma Instituição (JECFA - 2001), a Europa é a região do mundo onde a contaminação dos alimentos por OTA é mais frequente. Nesta área, os cereais contribuem com cerca de 60% para a ingestão de OTA, seguindo-se o vinho (25%), o sumo de uva (5%) e o café (7%). Todos os outros alimentos potencialmente contaminados, contribuem com menos de 1% para a ingestão desta mtx. Para grandes consumidores, a ingestão de cereais contaminados, por si só, pode ser suficiente para que se atinja o valor ISTP (100 µg/kg peso corporal) estabelecido para a OTA.⁽⁴⁷⁾

Actualmente alguns países da União Europeia têm regulamentação específica para a OTA, aplicada a um ou mais produtos alimentares, podendo esta variar, de acordo com o país, de 1 a 50 µg/kg para alimentos e de 5 a 300 µg/kg para rações animais. O quadro no anexo 1 traduz a presente regulamentação da OTA nos estados membros da União Europeia.⁽⁴⁶⁾

4.1.3 - Presença de OTA no Café

A) Ocorrência de fungos produtores de OTA nos bagos e grãos de café

Muito embora o assunto não esteja ainda completamente esclarecido, a literatura aponta para que, entre as várias espécies de bolores identificadas e testadas quanto à capacidade toxigenica, o *A. ochraceus*, o *A. niger* e o *A. carbonarius* sejam as principais responsáveis pela produção de OTA no café.^{(26,}

^{41, 48-50)} Muito recentemente, Taniwaki *et al.* (2003) estudaram a ocorrência das

espécies mencionadas, em 408 amostras de bagos e grãos de café provenientes de quatro regiões produtoras do Brasil. Os fungos *A. niger* foram os mais encontrados (63% dos isolados), mas somente 3% exibiram capacidade de produção da mtX. A ocorrência do *A. ochraceus* também foi frequente, sendo que dos 31% isolados, 75% eram capazes de sintetizar OTA. O *A. carbonarius* (6% dos isolados) foi apenas identificado no café proveniente da região com clima mais quente. Porém, cerca de 77% apresentava capacidade de produção de OTA.

A presença destas espécies foi menor nos frutos maduros obtidos directamente da árvore e mais elevada nas amostras recolhidas do chão, dos pátios de secagem e do armazenamento, como se pode verificar no quadro seguinte.⁽⁴⁸⁾

Estádio	Número de amostras	<i>A. ochraceus</i> (%)	<i>A. niger</i> (%)	<i>A. carbonarius</i> (%)
Bagos maduros (árvore)	55	0.24	1.2	0
Bagos sobremaduros (árvore)	57	0.35	4.0	0
Bagos sobremaduros (chão)	63	1.9	1.9	0
Do pátio de secagem	128	1.3	2.7	0.5
Do armazenamento	105	2.0	3.2	0.5
Total	408			

Quadro 3 - Bagos e grãos de café Brasileiro - Presença de espécies *Aspergillus* potencialmente capazes de produzir OTA. Notar que as amostras provêm de quatro regiões produtoras do Brasil, e que correspondem a duas estações consecutivas (1999 e 2000).⁽⁴⁸⁾

B) Colheita e Processamento Primário

b₁) Maturação dos Bagos de café

A contaminação dos bagos de café pelas espécies ocratoxinogénicas e a formação da mtx pode ocorrer no processo de colheita dos frutos ou durante a sua maturação na árvore. Alguns autores sugerem também que fungos saprófitas poderão sintetizar OTA no solo, que é transferida via planta, para os bagos de café. Existem, porém, dúvidas acerca da importância desta última via de contaminação, não existindo ainda dados fisiológicos que a possam suportar. ⁽⁴¹⁾ Resultados de trabalhos baseados no café Robusta (*Coffea canephora*) indicam que a OTA está sobretudo presente nos bagos muito maduros e danificados, comparativamente aos bagos verdes que, normalmente, não estão contaminados. Esta ausência de contaminação poderá dever-se ao facto dos frutos verdes serem extremamente firmes, para além de apresentarem concentrações baixas de açúcares livres, razões desfavoráveis ao crescimento de fungos. ^(23, 41)

b₂) Secagem ao Sol - Via seca

Bucheli *et al.* (2000) publicaram um trabalho acerca da ocorrência e formação da OTA durante a secagem dos grãos de café Robusta na Tailândia (processado por via seca), num período de três estações consecutivas. Os autores verificaram que a formação da OTA ocorria sobretudo durante a secagem ao sol, ^(23, 49) localizando-se no pericarpo (polpa e pergaminho) dos bagos de café. No início da secagem, os frutos contêm uma grande quantidade de água (59-

63%) para além de uma fonte de carbono acessível, na forma de açúcares livres. Estas condições, aliadas ao ambiente de secagem do Sul da Tailândia (26-27°C; 77-82% HR) são o substrato ideal para o desenvolvimento das espécies de fungos produtores. Na maioria das experiências que efectuaram durante a secagem, os autores verificaram que a contaminação ocorreu nos primeiros cinco dias e continuou a aumentar até ao final do 15º ao 20º dia. A re-hidratação experimental dos bagos entre o 5º e o 10º dia de secagem permitiu uma forte formação de OTA, o que alerta para as consequências da chuva durante a secagem. Observaram ainda que a contaminação ocorreu independentemente do local onde os bagos foram colocados para secar: cimento, terra batida ou tabuleiros de "bamboo".⁽²³⁾

No final destas experiências realizaram o descasque dos frutos e analisaram as concentrações de OTA no café verde e nas cascas. A concentração da mtX no café verde correspondia a cerca de 1% (média) da encontrada nas cascas.

A contaminação do café verde dependeu da maturidade dos frutos, sendo os mais maduros os mais susceptíveis. A presença de grãos defeituosos, nomeadamente, infectados, partidos ou danificados e particularmente a inclusão das cascas, constituíram a maior fonte de OTA no café verde.

Segundo os autores é, no entanto, possível, produzir café verde com baixos níveis de OTA, se se partir de frutos de boa qualidade e respeitando sempre as práticas comuns de pós-colheita.⁽²³⁾

b₃) Via Húmida

Apesar das informações acerca do impacto do processamento por via húmida na formação de OTA serem escassas, um estudo realizado pelo “Ministry of Agricultural, Fisheries and Food” (MAFF, 1996) indica que a despulpagem reduz significativamente o risco de contaminação pela mtx, durante os processos subsequentes de fermentação e secagem. O café processado por via húmida parece ser menos susceptível à infecção por fungos do género *Aspergillus* e contaminação por OTA. ⁽⁴¹⁾ Segundo Joosten *et al.* (2001), a polpa dos bagos de café é um excelente substrato para o fungo ocratoxigénico *A. carbonarius* e portanto, a sua eliminação acarreta um menor risco de contaminação pela mtx. ⁽⁵⁰⁾ No estudo efectuado pelo MAFF, de 291 amostras de grãos de café verde Arábica e Robusta importados para o Reino Unido, 73% das amostras de Robusta e somente 20% das Arábica estavam contaminadas com OTA. Tendo em conta que praticamente todo o café Robusta é processado por via seca, este resultado aponta para o papel crucial que o método de processamento pode ter na elevada incidência da contaminação. No entanto, a qualidade inicial dos bagos na colheita, a presença dos fungos produtores da mtx e as condições do local onde se efectua o processamento vão certamente contribuir para a formação ou não de OTA. ⁽⁴¹⁾

b₄) Armazenamento

Bucheli *et al.* (1998) tentaram verificar o impacto de diferentes condições de armazenamento no desenvolvimento de fungos e formação de OTA. Compararam os resultados do armazenamento de café verde Robusta (Tailândia)

em silos submetidos a diferentes condições: ar-condicionado (30°C, 60% HR), silo ventilado e silo não ventilado, com o armazenamento em sacos. A temperatura média durante os 8 meses de estudo nas três condições testadas para os silos foi de 28°C (ar-condicionado), 28.9°C (ventilado) e 30.3°C (não ventilado). A temperatura média no armazém (onde estavam os sacos) foi de 29.4°C e aquela medida entre cada saco armazenado correspondeu a 28.4°C. A HR no armazém permaneceu elevada (média de 81%) ao longo do tempo de armazenamento, especialmente durante o período chuvoso. O ar-condicionado aplicado ao silo baixou consideravelmente a HR (aproximadamente 60% ao final de três meses). A HR média dos silos ventilado e não ventilado e aquela encontrada entre os sacos de café foi aproximadamente igual a 70%. Em termos gerais, o conteúdo em humidade do café verde, em todas as condições testadas, situou-se abaixo dos 14%, sendo que o café armazenado em silo com ar-condicionado apresentou o menor valor. O café armazenado em sacos e aquele guardado em silo não ventilado, apresentou teores superiores a 14% aquando do período chuvoso, diminuindo posteriormente. A a_w foi também analisada nos diferentes tipos de armazenamento. Durante os 8 meses, encontraram-se os valores mais extremos para o café em silo com ar-condicionado ($a_w=0.58$) e para aquele guardado em sacos e silo não ventilado ($a_w=0.75$). Nestes últimos, a a_w aumentou durante o tempo de chuva. As análises microbiológicas indicaram, em média, uma redução de 18% na contagem total de fungos em todas as condições testadas. As principais espécies encontradas foram *A. fumigatus*, *A. niger*, *A. section Restricti*, *Penicillium* spp. e *Wallemia sebi*. Os autores não detectaram crescimento de fungos, nem produção de OTA durante o armazenamento. Segundo os mesmos, o conteúdo em OTA das amostras de café verde analisadas durante o período do

estudo (valores médios de 4.9 µg/kg para o silo ventilado, 4.5 µg/kg para o silo com ar-condicionado, 2.8 µg/kg para o silo não ventilado e 1.9 µg/kg para os sacos), resultou da presença de grãos defeituosos, especialmente nos silos. Assim, a presença de OTA não foi consequência do armazenamento, mas das condições empregues na produção do café verde (colheita e secagem dos bagos). Este estudo demonstra, assim, que mesmo sob condições húmidas tropicais e ocorrência de chuvas, consegue-se armazenar o café verde Robusta sem que ocorra formação de OTA. ⁽⁵¹⁾

Estudos efectuados no Quênia com a *C. arabica* sugerem que o café deverá conter um máximo de 12% de humidade para ser armazenado e que a sua deterioração é minimizada quando a HR do armazém se encontra entre os 50-70% e a temperatura não excede os 26°C. Outros autores verificaram que um conteúdo em humidade de 14% no café e uma HR de 75% correspondem aos limites máximos para que não ocorra crescimento de fungos. ⁽⁵¹⁾

***b₅*) Transporte**

Até à data, os dados acerca do impacto do transporte na presença de OTA no café são bastante limitados. Durante o transporte do café verde para os países consumidores poderá ocorrer condensação, que promove o aumento da a_w do café, podendo ocasionar, desta, forma o crescimento de fungos. Blanc *et al.* (2001) efectuaram uma série de testes durante o transporte marítimo de café verde para o Norte da Europa, no sentido de detectarem as condições que favoreciam o crescimento de fungos e a produção de OTA. Detectaram que as fases mais críticas correspondem ao transporte do café verde entre o local de

produção e o porto de expedição (devido ao aumento da temperatura e da HR no topo dos sacos de café) e o período de tempo que o café fica armazenado na gare marítima do porto europeu durante o Inverno. ^(41, 52)

C) Processamento Industrial do Café

c.) Torra e Extracção

Os dados referentes à influência da torra e operações subsequentes na redução da quantidade de OTA no café são controversos. ^(25, 41) Levi *et al.* (1974) demonstraram que a torra efectuada em condições experimentais similares às efectuadas durante a operação de torra típica (20 min. a $200\pm 5^{\circ}\text{C}$) permitia a destruição de cerca de 77-87% da OTA adicionada ao café verde. Em 1976, Gallaz e Stader também examinaram o efeito de torra e verificaram que o processo normal destruía cerca de 80 a 90% da mtx. ^(41, 54) Cantafora *et al.* (1983), não conseguiram detectar OTA depois de torrarem duas amostras de café verde naturalmente contaminado com 3.8 e 23.0 ppb de OTA. Mico *et al.* em 1989 verificaram uma redução de 90 a 100% do nível de OTA depois de duas amostras naturalmente contaminadas com 4.0 e 8.6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de OTA terem sofrido o processo de torra. Além disso, observaram, também, uma redução de 60% da OTA inicialmente presente no café verde aquando do processo de descafeinização industrial. ^(25, 38, 41, 53-55) Em contraste, Tsbouchi *et al.* em 1987 verificaram que o nível de OTA foi apenas parcialmente reduzido (0-12%) quando grãos de café verde artificialmente contaminados foram submetidos a tratamento térmico (200°C , 10-20 min) e que praticamente toda a OTA passou para a bebida. ^(25, 56)

Studer-Rohr *et al.* (1995) verificaram que a torra reduzia o nível de OTA em apenas 14-62%, porém, a operação não demorou mais que 3 minutos. Os mesmos autores também verificaram a transferência da OTA do café (verde e torrado) para a bebida. ⁽³⁰⁾

Blanc *et al.* (1998) investigaram a evolução da OTA, presente num lote de café verde Thai Robusta (correspondente a 50 sacos de 60 kg), ao longo de uma linha industrial de produção de café solúvel (incluindo a torra do café verde). As concentrações de OTA encontradas em cada saco individual de café verde (não limpo) variavam de 4.0 a 22.1 µg/kg, sendo a concentração média de 7.3 µg/kg. Verificaram que, embora a limpeza (remoção de pedras, fragmentos da planta, parte da película prateada) dos grãos, tenha contribuído para uma ligeira diminuição da contaminação, a redução mais significativa ocorreu durante a torra, pelo calor e pela eliminação da película prateada. O café torrado e moído continha cerca de 16% da OTA inicialmente presente no café verde. Durante a produção de café solúvel, observaram ainda, uma redução de 20%.

A passagem da OTA para a bebida foi também analisada, tendo os autores verificado uma extracção de 80%, o que confirma a solubilidade da mtx em água quente. ⁽²⁵⁾

Heilmann *et al.* (1999) confirmaram que a torra é um método eficaz para a descontaminação do café e que o processo de descafeinização é outro dos meios para a redução de OTA. ^(41, 57)

Em 2001 (van der Stegen *et al.*), num outro estudo sobre o efeito das condições de torra na redução de OTA, observou-se uma diminuição de 69%. A maior redução do conteúdo da mtx no café verde ocorreu nos grãos sujeitos a torra severa (240°C, 10 min). Este valor é ligeiramente inferior ao encontrado

noutros estudos anteriormente mencionados, devido, provavelmente, à escolha do método mecânico de mistura dos grãos de café verde, de modo a compensar a distribuição não homogénea da OTA no café e possibilitando, conseqüentemente, uma ligeira separação das cascas antes da torra. ⁽²⁴⁾

Muito recentemente, Romani *et al.* (2003) estudaram o efeito das diferentes condições de torra (leve, média e escura) no conteúdo de OTA de 4 amostras de café verde contaminado naturalmente. Tal como outros autores verificaram uma diminuição geral dos níveis da mtz após a torra. Em termos absolutos, a maior redução deu-se nas amostras mais contaminadas. De facto, a quantidade de OTA nas amostras com maior nível de contaminação diminuiu cerca de 70% após torra ligeira, o que não aconteceu para a amostra de café verde que apresentava o menor conteúdo em OTA. Porém, para as 4 amostras, verificou-se uma redução superior a 90% do conteúdo inicial da mtz, após o processo de torra mais severo (escura). ⁽⁵⁸⁾

Muito embora os resultados dos diferentes estudos sejam controversos, a maioria refere que na torra (e também na produção de café solúvel) se dão reduções significativas dos níveis da mtz. ^(21, 39, 41, 49) Existem, actualmente, três explicações plausíveis para a redução da OTA durante esta operação: degradação térmica, remoção da película prateada e isomerização da OTA na posição C₃, transformando-se num diasteómero menos tóxico. ^(21, 24, 25, 30, 57, 58)

c₂) Ocorrência de OTA no produto final e estimativas da exposição humana à micotoxina pelo consumo de café

Nos últimos anos realizaram-se estudos em diferentes países acerca da presença de OTA no café torrado e solúvel colocados à venda no mercado e, portanto, acessíveis aos consumidores. No Reino Unido, Patel *et al.* (1997) analisaram 100 amostras de café adquiridas no mercado nacional sem atender ao modo de processamento (via seca ou via húmida) nem ao tipo de espécie (Robusta ou Arábica). Destas, 80 amostras correspondiam a café solúvel, das quais 9 eram de descafeinado e 20 correspondiam a café torrado. Detectaram OTA em 64 amostras de café solúvel, variando os níveis de 0.1 a 8 µg/kg. Das amostras de café solúvel descafeinado, 4 apresentavam valores entre 0.3 a 2.5 µg/kg. Dezassete das amostras de café torrado moído apresentavam níveis de contaminação de 0.2 e 2.1 µg/kg. Perante os resultados, os autores estimaram a ingestão da mtx pelo consumo de café solúvel. Verificaram que para adultos grandes consumidores, a ingestão semanal de OTA proveniente desta fonte correspondia a 1.9 ng/kg de peso corporal, o que é menos de 2% da ISTP estabelecida pela JECFA, concluindo-se portanto, que o café não é uma das maiores fontes de exposição à OTA no Reino Unido. ⁽³²⁾

Van der Stagen *et al.* (1997) efectuaram um estudo a nível europeu para determinar a ocorrência da mtx em cafés torrados e solúveis. No total, analisaram 633 amostras provenientes dos 8 países participantes: Bélgica (50), Finlândia (50), França (70), Alemanha (111), Itália (102), Holanda (100), Suíça (50) e Reino Unido (100). O número de amostras de café recolhido em cada país, foi proporcional à sua distribuição nos mercados, simulando, assim, uma situação

real. Das 633 amostras, 484 eram de café torrado e 149 de café instantâneo. Das 484 amostras de café torrado, 39 eram de café descafeinado. Das 149 amostras de café instantâneo, 20 correspondiam a café descafeinado e 10 a café de mistura. Estas amostras foram analisadas de forma independente em nove laboratórios. Para o total de amostras de café torrado o valor médio de OTA foi de 0.8 ng/g, enquanto que, para o total de amostras de café instantâneo foi de 1.3 ng/g. Cerca de metade das amostras não apresentavam contaminação com OTA (334 amostras negativas). Nas restantes detectaram-se níveis baixos de OTA e só três amostras excederam o nível de 10 ng/g, tendo uma atingido o valor de 20 ng/g. Oito laboratórios verificaram ainda a presença de OTA (quase na totalidade) na bebida preparada a partir do café torrado contaminado. Com base nos resultados obtidos, os autores estimaram a ingestão de OTA proveniente do consumo de café torrado e café solúvel, atendendo a que nos países europeus se utilizam cerca de 5-28g/dia de café torrado para se fazer café expresso (utilizando os países mediterrâneos as quantidades mais baixas e os escandinavos as mais altas) e que 4 chávenas/dia (24g de café torrado e 8g de café instantâneo) correspondem ao nível médio de consumo da maioria da população europeia. Um consumo diário de 24g de café torrado ou 8g de instantâneo contribui em média com 19 ou 10 ng de OTA/dia, respectivamente. Assim, comparando com a ISTP de 100 ng/kg de peso corporal/semana, o consumo de 28 chávenas/semana corresponde aproximadamente a 2% desse valor. ⁽³¹⁾

Jørgensen (1998) analisou, entre outros produtos alimentares, 11 amostras de café torrado adquiridas no mercado dinamarquês. Todas as amostras apresentavam OTA, sendo o valor médio de contaminação 0.51 µg/kg. Atendendo a este valor e partindo do princípio que, em média, um adulto dinamarquês

consome cerca de 821 ml de café/dia e que são utilizadas cerca de 6g de café torrado para 170 ml de café, o autor estima que a ingestão diária de OTA proveniente desta fonte seja de aproximadamente 0.2 ng/kg peso corporal. Concluiu portanto que, na Dinamarca, o consumo de café não é o principal factor de exposição à OTA. ⁽³³⁾

Leoni *et al.* (2000) estudaram também a ocorrência de OTA em amostras de cafés torrado e solúvel, adquiridos em estabelecimentos comerciais da cidade de Campinas, no Brasil, pertencentes a diferentes marcas e com venda em todo o país. Das 34 amostras de café torrado, 23 apresentavam OTA, variando o nível de contaminação de 0.3 e 6.5 ng/g (nível médio 0.9 ng/g). Todas as 14 amostras de café solúvel estavam contaminadas com níveis de 0.5 a 5.1 ng/g (nível médio 2.2 ng/g). A ocorrência da toxina na bebida foi também estudada recorrendo-se aos dois métodos mais usados no Brasil: filtração e método brasileiro (o café é fervido com a água, brevemente, e depois é filtrado), tendo os autores verificado que a OTA, independentemente do método de preparação utilizado, continuava presente quase na sua totalidade. Atendendo a que em média, os consumidores brasileiros ingerem cerca de 5 chávenas de café/dia (60 ml) utilizando para tal, 30 g de café torrado moído, os autores estimaram que a ingestão de OTA corresponderá aproximadamente a 0.4 ng/kg peso corporal (adulto 70 kg), o que está abaixo da IDTP estabelecida pela JECFA. ⁽³⁵⁾

Lomberti *et al.* (2002) estudaram a ocorrência de OTA em 101 amostras de café adquiridas no mercado canadiano. Quarenta e duas das 71 amostras de café torrado apresentavam a mtx, sendo o nível médio de OTA de 0.6 ng/g. Das 30 amostras de café solúvel analisadas, 20 continham OTA, sendo o nível de 1.1 ng/g. As análises efectuadas aos cafés torrado e solúvel descafeinados revelaram

níveis de OTA inferiores aos encontrados nos correspondentes não descafeinados. ⁽³⁷⁾ Estes resultados são semelhantes aos de outros autores, que também indicam que o processo de descafeinização remove alguma da contaminação. ^(21, 44) Porém, os estudos focados anteriormente não referem a influência do processo de descafeinização na quantidade da mtx.

Os resultados dos trabalhos mencionados permitem afirmar que a OTA nos grãos de café não é completamente destruída pela torra, pelo processo de descafeinização, nem mesmo durante o processamento de café solúvel. ⁽³²⁻³⁷⁾ De facto, o café solúvel parece mesmo apresentar níveis ligeiramente superiores de contaminação. Este facto poderá explicar-se, por exemplo, pela adição fraudulenta das cascas, que poderão apresentar maiores níveis de contaminação ⁽²³⁾, aquando da produção de café solúvel. A inclusão de grãos defeituosos (quebrados, danificados, pretos) poderá também contribuir para o aumento desses níveis. ⁽⁴¹⁾

Convém referir ainda que o café analisado nos estudos europeus provém, geralmente, de países asiáticos ou do norte de África enquanto que, o café consumido na América do Norte provém da América Central e do Sul. ⁽³⁷⁾ Romani *et al.* (2000), verificaram que o café verde de proveniência africana tem uma incidência e um nível de contaminação de OTA superior aquele de outras regiões, nomeadamente Ásia e América. As condições climatéricas locais e sazonais, as condições de armazenamento e os métodos de processamento, podem influenciar não só o crescimento da espécie produtora, mas também a produção da mtx. ⁽⁵⁸⁾ É necessário sensibilizar os países em desenvolvimento para estes problemas de forma a que as práticas agrícolas sejam melhoradas procurando diminuir as quantidades de OTA no café. ⁽³⁷⁾

4.1.4 - Toxicidade da Ocratoxina A, Mecanismo de Acção e Consequências

A OTA tem sido objecto de muitos estudos, sobretudo depois de se ter verificado uma provável ligação entre esta mtx e a Nefropatia Endémica dos Balcãs (NEB). A NEB foi caracterizada, como sendo uma doença crónica dos rins que afecta predominantemente as pessoas que vivem em zonas rurais dos Balcãs (antiga Jugoslávia, Roménia, Bulgária). Verificam-se, para além de outros, degenerescência tubular, fibrose intersticial e hialinização glomerular, dores de cabeça frequentes, dor lombar, anemia, perda de peso, poliúria, sede, gosto amargo e prejuízo da função renal. O problema da NEB não é apenas nefrológico mas também oncológico, dada a associação da doença a tumores do tracto urinário (ureter e pélvis renal). ^(6, 7, 8, 44, 60)

Existem evidências significativas que suportam a implicação da OTA na etiologia da NEB. Quantidades elevadas da mtx, foram encontradas não só nos alimentos, como também, em amostras de sangue e urina de habitantes das zonas endémicas. ^(44, 60) Além disso, a NEB é estrutural e funcionalmente idêntica à nefropatia induzida no porco quando alimentado com rações contaminadas com OTA. O facto da NEB ter incidência mais elevada nas regiões onde se encontram alimentos mais contaminados pela mtx, reforça também esta hipótese ⁽⁴⁴⁾

A semi-vida da OTA é diferente consoante a espécie animal em causa, por exemplo: 24-39h nos ratinhos, 55-120h em ratos, 72-120h nos porcos, 456-504h em macacos. ⁽¹⁴⁾ No organismo humano, estima-se que a semi-vida da OTA seja de aproximadamente 35 dias. ^(6, 14)

A OTA é nefrotóxica para todas as espécies animais testadas até à data e é, muito provavelmente, tóxica para os humanos, que apresentam o maior tempo

de eliminação da micotoxina. Para além de nefrotóxica, estudos animais indicam que a OTA é também imunossupressora, hepatotóxica, teratogénica e nefrocarcinogénica. Experiências em animais demonstraram a sua capacidade de induzir tumores no trato urinário, bem como de provocar quebras no ADN, de formar aductos com este nas células dos rins de roedores e nas do fígado e baço, se bem que, estes últimos, em menor extensão. ^(6-8, 14, 44, 61) Muito recentemente, Schwartz (2002) sugeriu poder a OTA estar envolvida na etiologia do cancro testicular. ⁽⁶²⁾

O seu mecanismo de acção diz respeito à inibição da enzima envolvida na síntese do complexo fenilalanina-tARN, interferindo, desta forma, no metabolismo da fenilalanina. Para além disso, a mtz parece também impedir a produção de ATP mitocondrial e ainda estimular a peroxidação lipídica. ^(6, 7)

Os resultados dos estudos de carcinogénese levaram a IARC (International Agency For Research On Cancer) a incluir a OTA na lista dos possíveis carcinogénicos para humanos (Grupo 2B). ⁽⁴⁴⁾

4.2 - Aflatoxinas (AFs)

4.2.1 - Origem das AFs

As AFs foram identificadas pela primeira vez em 1961 em rações animais contaminadas por *Aspergillus parasiticus*. ^(40, 63) São conhecidas, no entanto, outras espécies produtoras: *A. flavus* e uma mais rara, *A. nomius*. ^(6, 14, 63) Presentemente conhecem-se 17 compostos similares designados pelo termo comum aflatoxinas, no entanto, os principais tipos são aflatoxina B₁ (AFB₁),

aflatoxina B₂ (AFB₂), aflatoxina G₁ (AFG₁) e aflatoxina G₂ (AFG₂). As AFs são derivados difuranocumarínicos e a classificação B e G deve-se à fluorescência que emitem quando submetidas a radiação UV (B-Blue e G-Green). Os números 1 e 2 refletem o índice de mobilidade das Afs durante a técnica de cromatografia em camada fina. ^(6-8, 64)

É geralmente aceite que o *A. flavus* produz aflatoxinas B₁ e B₂, enquanto que *A. parasiticus* produz aflatoxinas B₁, B₂, G₁ e G₂. ^(6, 63, 65, 66) As aflatoxinas B₁ e B₂ quando sofrem hidroxilação originam as aflatoxinas M₁ e M₂, respectivamente. ^(6, 7, 65, 66)

A AFB₁ é o mais potente carcinogénico natural conhecido até à data e é a mais frequentemente encontrada nos alimentos. As outras AFs, G₁, G₂ e B₂, geralmente não se encontram na ausência de B₁. ^(7, 63, 65)

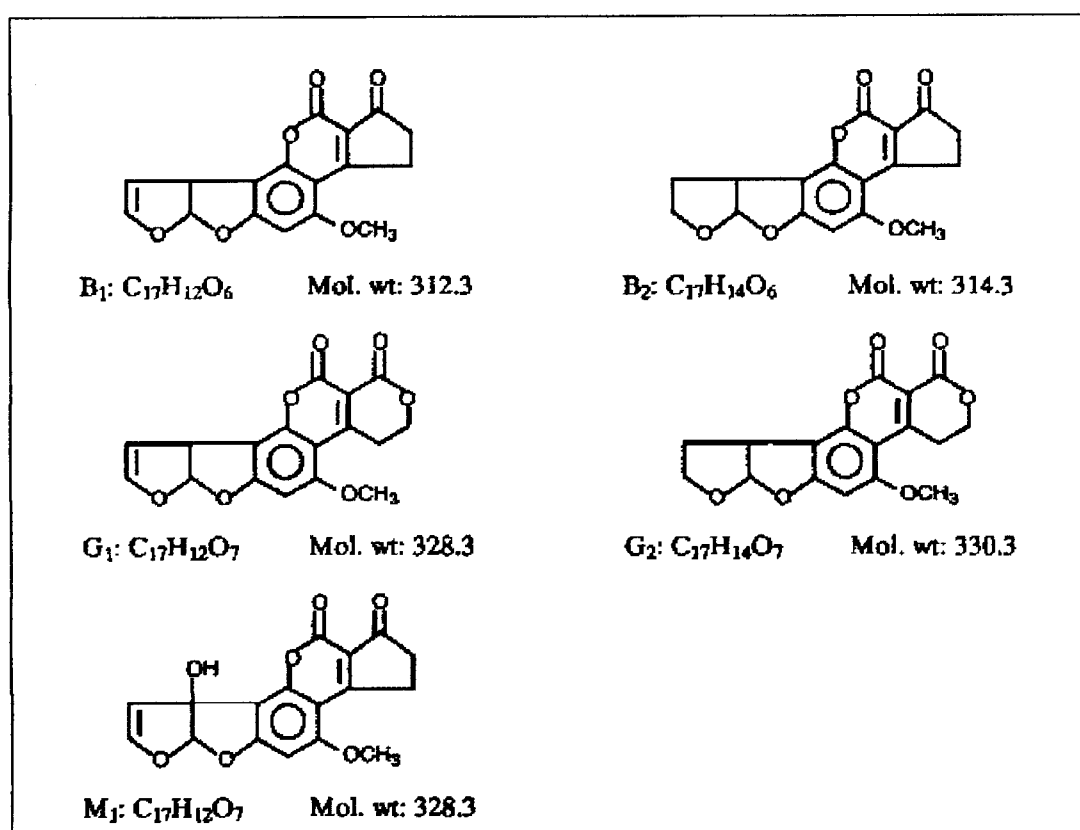


Figura 5- Estrutura química, fórmula e peso molecular das principais aflatoxinas ⁽⁶³⁾

4.2.2 - Principais Fontes Alimentares de AFs

A exposição a estas micotoxinas ocorre maioritariamente através da alimentação. Os alimentos podem contaminar-se tanto durante o cultivo como após a colheita. ⁽⁶⁵⁾

O grau de contaminação varia em função da temperatura, da humidade, do tipo de solo, dos métodos de cultivo e colheita, das condições de armazenamento e de transporte. ⁽⁶⁵⁾ Muitos são os alimentos contaminados por estas mtX, contudo os mais frequentemente implicados são: cereais (milho, sorgo, trigo, centeio), frutos de oleaginosas (amendoim, avelãs, nozes, pistachios, amêndoas), sementes de algodão, frutos secos, especialmente figos, óleos vegetais e especiarias. Quando os animais são alimentados com rações contaminadas também se podem encontrar no leite destes e nos seus derivados. ^(7, 8, 63, 65, 66)

4.2.3 - Presença de AFs no Café

Levi *et al.* (1980) estudaram a produção de AFs no café verde e no arroz (termo de comparação) artificialmente contaminados com 13 estirpes de *A. flavus* previamente isoladas de café verde. Verificaram que 11 delas produziram níveis elevados de AFs no arroz (níveis entre 3000-90000 µg/kg), 2 não produziram mtX em nenhum dos substratos e somente uma estirpe sintetizou AFs em elevada quantidade no café e no arroz (52000 e 47000 µg/kg, respectivamente). Em todos os outros casos, a contaminação do café foi significativamente inferior à do arroz. Amostras do café, do qual se isolou a estirpe que mostrou produzir maior quantidade de AFs, foram incubadas durante 16 dias a 28°C e diferentes teores

de humidade (16, 23, 29, 33, 38, 41 e 44%). Apesar do fungo se ter desenvolvido, não se verificou a produção de AFs em nenhum dos casos. Os mesmos autores verificaram, noutros trabalhos, que a operação de torra (200°C, 20 min) destruiu cerca de 80% de AFB₁, artificialmente presente no café verde. ⁽³⁹⁾

Soliman (2002) determinou a presença de *A. flavus* e a produção de AFs nos cafés verde e torrado, bem como verificou os efeitos da torra e da descafeinação no grau de contaminação. O *A. flavus* foi isolado em 17 das 30 amostras de café verde analisadas. A determinação da quantidade de AFs produzidas nas 17 amostras infectadas revelou níveis entre 0.76 a 8.92 µg/kg. No que diz respeito ao café torrado moído, o *A. flavus* foi isolado em 22 de 30 amostras. Porém, somente 12 das 22 amostras infectadas com o fungo produtor estavam contaminadas com AFs, variando os níveis de 0.79 a 5.08 µg/kg.

Utilizou uma amostra naturalmente contaminada com 8.92 µg/kg, para verificar o comportamento das aflatoxinas durante a torra, recorrendo a 3 meios: microondas, forno (150°C, 15 min) e torra (180°C, 10 min). Todos se revelaram eficazes na parcial destruição de aflatoxinas, tendo, no entanto, a torra apresentado os melhores resultados (55.9% de destruição).

No estudo da influência da descafeinação no grau de contaminação, o autor verificou que a remoção da cafeína no café verde e torrado permitiu uma maior produção de AFs, comparativamente, aos respectivos cafés não descafeinados.

O efeito da cafeína no crescimento de *A. flavus* e produção de AFs foi também estudado, usando-se 5 meios de cultura com diferentes quantidades de cafeína. Embora o autor tenha verificado produção de AFs nos meios com 0.1 e 0.5% de cafeína, a quantidade foi menor que no meio control (0.0% de cafeína).

Nos meios com 1.0 e 2.0% de cafeína observou-se uma redução superior a 50% no crescimento de *A. flavus* e não se detectou produção de mtX.

Os resultados, sugerem assim, que a maior redução do nível de contaminação se dá durante a torra, ao contrário da descafeinização, na qual se verifica um ligeiro aumento dos níveis de AFs. ⁽⁴⁰⁾

Já em 1983/1984 Buchanan *et al.*, à semelhança do estudo anterior, verificaram que a cafeína afectava o crescimento e a síntese de AFs produzidas por espécies de *Aspergillus*. A cafeína parece afectar a síntese destas micotoxinas através da inibição dos transportadores de glicose. Elas são altamente dependentes do catabolismo dos hidratos de carbono. Esta propriedade, ou pelo menos parte dela, contribui para a diminuição da contaminação dos grãos de café. Foi ainda sugerido que a cafeína funciona como um agente anti-aflatoxigénico natural do café. ⁽⁶⁷⁻⁶⁹⁾ No entanto, também se observou a produção de AFB₁ por *A. parasiticus*, mesmo na presença de concentrações relativamente elevadas de cafeína. ⁽⁷⁰⁾

Hassan *et al.* (2002) compararam a produção de AFs em amostras de café regular e café isento de taninos e de cafeína, artificialmente contaminados com a espécie *Aspergillus parasiticus*. Os resultados indicaram que a produção destes compostos é cinco vezes maior no café sem taninos e cafeína do que no normal. A remoção destas substâncias parece, assim, aumentar o risco de contaminação. Adicionalmente, verificaram, em meios de cultura, uma inibição de cerca de 95% da síntese de AFs, utilizando concentrações de 0.3 e 0.6% de taninos e cafeína, respectivamente. A cafeína e principalmente os taninos poderão ser, assim, os responsáveis pelas propriedades anti-aflatoxinogénicas do café.

Os autores investigaram ainda a influência da torra no conteúdo de AFs, verificando, no final do processo (200°C, 20 min), uma redução de 100% dos níveis de AFB₁, AFB₂, AFG₁ e AFG₂ quer no café normal, quer no café sem taninos e cafeína. ⁽⁶⁹⁾

Tendo em conta a pouca informação, ainda existente, acerca da contaminação do café por estas mtx é necessário implementar não só medidas preventivas, como também métodos de determinação específicos. Como precaução, e atendendo aos resultados dos estudos mencionados, os grãos de café verde deverão ser sujeitos ao processo de descafeinização antes de serem torrados e moídos. ⁽²⁶⁾

4.3.4 Toxicidade, Mecanismos de Acção e Consequências das AFs

Estudos experimentais sugerem que as AFs são mutagénicas, carcinogénicas, teratogénicas, imunossupressoras e nefrotóxicas (B₁ e G₁) sendo o fígado o principal órgão atingido. ^(6-8, 14, 64, 66) A AFB₁, como referido, é sem dúvida a mais tóxica, seguida, por ordem decrescente de toxicidade, da AFM₁, AFG₁, AFB₂ e AFG₂. A toxicidade das aflatoxinas G₁, B₂ e G₂ é, respectivamente 50, 80 e 90% menor que a da B₁. ^(7, 66) Nos animais testados, a AFB₁ induz a formação de carcinoma hepatoceular, mesmo quando ingerida em pequenas quantidades. Em animais alimentados com rações contaminadas, o fígado é o órgão mais afectado, embora se tenham observado tumores noutros órgãos, nomeadamente pâncreas e intestino. ⁽⁶⁴⁾

A maioria dos estudos epidemiológicos mostram a existência de uma relação entre a exposição à AFB₁ e o aumento da incidência de cancro hepático.

Este é um dos tipos mais comuns de cancro, sendo a sua incidência maior nalguns países de África, Ásia e ilhas do Pacífico. O facto da incidência ser maior nestes países sugere o envolvimento de factores ambientais na sua etiologia, destacando-se as aflatoxinas e o vírus da hepatite B como os mais importantes. De facto, o efeito das AFs parece ser significativamente maior em indivíduos afectados com VHB do que em indivíduos não afectados. Estes dados obtiveram-se através de estudos epidemiológicos em áreas geográficas onde a prevalência de hepatite B e de AFs é elevada; a relação entre a fraca prevalência de hepatite B e factores de risco em áreas de baixa contaminação em AFs não é ainda conhecida. Esta interacção torna assim difícil interpretar o papel das AFs enquanto factor de risco independente. ^(6, 7, 64, 65, 71)

Os efeitos mutagénicos e carcinogénicos da AFB₁ estão relacionados com o facto desta mtz sofrer bioactivação pelo citocromo P₄₅₀ da fracção microssomal das células do fígado, mais especificamente pelas fracções CYP1A2 e CYP3A4. Desta bioactivação resulta um epóxido, AFB₁-8,9-epóxido, com capacidade de ligação covalente com o ADN, ARN e proteínas, originando-se assim aductos, responsáveis pela lesão bioquímica primária produzida pelas aflatoxinas, os quais se podem dosear no soro e urina de muitos doentes que contraíram hepatocarcinoma. ^(64, 65) Estes carcinomas têm sido associados a uma transversão G → T no codão 249 do gene supressor de tumores p53. De facto, sabe-se que o epóxido reactivo da AFB₁ se liga covalentemente à posição N7 da guanina e que este aducto pode resultar em transversões GC para TA, com subsequente lesão do ADN, mutação e formação de tumores. ^(6, 7)

A AFB₁ enquadra-se, segundo a classificação da IARC, no grupo 1, ou seja, é carcinogénica em humanos. A AFM₁, por sua vez, é uma substância possível de provocar carcinogénese em humanos (grupo 2B).⁽⁶³⁾

3.3 - Esterigmatocistina

A esterigmatocistina é uma mtz estrutural e biologicamente relacionada com as AFs. A esterigmatocistina pode ser formada na fase final da síntese das AFs ou ser o metabolito secundário final produzido pelas espécies *Aspergillus versicolor* e *A. nidulans*. A toxicidade aguda e as propriedades carcinogénicas desta micotoxina são semelhantes às das AFs, embora menos potentes. Durante a biotransformação sofre activação metabólica, de forma equivalente à AFB₁, e reage com o ADN, exibindo desta forma propriedades mutagénicas e hepatocarcinogénicas.

A esterigmatocistina encontra-se sobretudo em queijos e cereais.^(7, 8, 9) Os dados existentes acerca da sua presença no café são muito reduzidos.

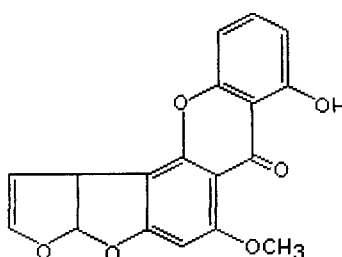


Figura 6 - Estrutura Química da esterigmatocistina.⁽⁷²⁾

Purchase e Pretorius (1973) verificaram a ocorrência de esterigmatocistina (1143 ppb) numa de duas amostras de café verde previamente rotulado como impróprio para consumo humano.⁽³⁸⁾

Outros autores estudaram também a produção de esterigmatocistina em grãos de café verde inoculados com *A. versicolor*. Após 14 dias de incubação a 28°C e 30% de humidade, não detectaram síntese da micotoxina, muito embora o fungo se tenha desenvolvido. A produção de esterigmatocistina foi máxima no 28º dia (3000 µg/kg) não se tendo detectado aumento posterior ao longo dos 35 dias de incubação. Outros trabalhos mostraram que cerca de 70% da esterigmatocistina artificialmente presente no café verde é destruída durante a operação de torra (200°C, 20 min.).⁽³⁹⁾

4 - ANÁLISE CRÍTICA

A ocorrência de mtx nos alimentos é, muitas vezes, imprevisível e inevitável, dado que são compostos naturais produzidos por diversas espécies de fungos, algumas das quais ubiqüitárias. A sua presença nos alimentos constitui, desta forma, um desafio para a Segurança Alimentar.^(45, 73)

De acordo com os resultados de todos os trabalhos mencionados, o café não é a maior fonte de mtx na alimentação. Porém, e atendendo especialmente à ocorrência de OTA, é certo que poderá contribuir para a sua ingestão, sobretudo nos grandes consumidores. Dado que a maioria da população tem uma dieta variada, a exposição a concentrações baixas, mas frequentes por um longo período de tempo, poderá ter repercussões sérias na Saúde Pública.

A maneira mais eficaz de se proteger a população mundial dos efeitos tóxicos das mtx, consiste na aplicação de boas práticas durante toda a cadeia de

produção e processamento de alimentos, prevenindo-se o crescimento de fungos e, por conseguinte, a síntese destes metabolitos. ⁽⁴²⁾ No caso específico do café, também as boas práticas agrícolas (BPA) e as boas práticas de fabrico (BPF), são procedimentos necessários para controlar esta contaminação, minimizando-se, desta forma, a ingestão de mtz pelo consumo de café, procedendo: ⁽²¹⁾

- Apenas os bagos maduros devem ser colhidos e processados. Bagos muito maduros, fermentados, danificados ou apanhados do chão devem ser rejeitados, reduzindo-se desta forma, a contaminação por fungos produtores e a sua propagação nos locais de secagem.
- Depois de colhidos, os bagos devem ser processados o mais rapidamente possível. Deve evitar-se o seu armazenamento (especialmente se os bagos estiverem maduros e sobremaduros) seja em sacos, ou em pilhas, dado que esta prática induz a fermentação e aumenta a probabilidade de crescimento de fungos. Assim, se o café for processado por via húmida, os bagos deverão ser despulpados no mesmo dia da colheita, ou, no caso da via seca, deverão ser rapidamente submetidos à secagem.
- Não deve proceder-se à secagem em pátios de terra batida, evitando-se, desta forma, eventuais esporos de fungos provenientes de lotes anteriores que poderão contaminar os novos bagos ou o pergaminho.
- O café a secar deverá ser colocado em camadas de espessura não superior a 4 cm, as quais devem ser frequentemente mexidas (5 a 10 vezes/dia).
- Durante a secagem, o café deverá ser protegido da chuva, da humidade nocturna e de qualquer outra fonte de re-hidratação.

- Após cada utilização, todo o equipamento (máquinas e utensílios) terá que ser sujeito a limpeza. No caso particular da via húmida, a água a utilizar durante todo o processamento deverá ser potável.
- O conteúdo em humidade do café verde, depois de seco, não deve nunca ser superior a 12% (qualquer que seja o método de processamento). Este valor deverá ser sempre mantido durante as etapas subsequentes até que o café seja industrialmente processado.
- Na operação de descasque, o café verde, deve ser separado das cascas para evitar contaminação cruzada.
- Quanto melhor for a qualidade do café, menor será o risco de contaminação, por isso, será útil reduzir os grãos defeituosos sensíveis de se contaminarem durante o transporte e armazenamento.
- O café verde deve ser acondicionado em sacos perfeitamente limpos, e armazenado em locais onde não haja cascas e material previamente rejeitado. Se for acondicionado em contentores, deverá dar-se preferência aos ventilados.
- Durante as fases de armazenamento e transporte, as elevadas temperaturas e a re-hidratação do café, são indiscutivelmente os maiores perigos associados à proliferação de fungos e produção de mtx. Apenas o café verde bem seco (humidade máxima dos grãos de 12%) deve ser sujeito a transporte marítimo para impedir a condensação à superfície dos contentores, evitando a formação de bolores durante o transporte.
- Nos países importadores, o café verde a utilizar, deverá ser previamente limpo de poeiras, resíduos de cascas, grãos pretos e outras impurezas, que não deverão entrar em contacto com o café a processar.

- Depois de torrado (e moído) a humidade do café deverá ser mantida abaixo dos 5%, humidade que não permite o crescimento de fungos. (37, 41, 74, 23)

A prevenção da contaminação dos produtos de origem agrícola em geral, não passa somente pelas BPA e BPF. A par disto, deve implementar-se um sistema permanente de vigilância, bem como estabelecer regulamentos que permitam controlar o comércio nacional e internacional dos produtos contaminados, visando os seus perigos para a saúde. (73)

Em todos os estádios de processamento e produção de café, deveriam efectuar-se análises de rotina para detectar a ocorrência de mtX, sobretudo de OTA, que, como se sabe, é aquela que mais contamina este produto. Desenvolveu-se, recentemente, um método analítico de cromatografia em camada fina (*thin-layer chromatography*) para detectar a ocorrência de OTA no café verde. Esta técnica permite detectar valores a partir de 10 µg/kg. Segundo os investigadores, este método de análise, para além de rápido e simples, é de baixo custo, sendo portanto, ideal para os países produtores de café, que, na sua grande maioria, atravessam restrições orçamentais. (75)

É igualmente fundamental que as empresas de processamento de produtos alimentares tenham equipamentos e métodos de análise apropriados para detectarem a presença de mtX nas matérias-primas a utilizar, bem como no produto final resultante. (6)

A educação dos cidadãos quanto à problemática da presença destes tóxicos nos alimentos é também importante. Quanto mais informada estiver a opinião pública, mais exigente será. Consequentemente, maior terá que ser o

esforço de todos os responsáveis pelas várias fases da cadeia de produção, para que, quando o produto atinge o consumidor, os riscos associados à sua contaminação sejam mínimos.

6 - CONCLUSÕES

O café, à semelhança de muitos outros produtos de origem agrícola, não escapa à contaminação por fungos toxinogénicos que, ao encontrarem condições adequadas, se poderão desenvolver e sintetizar metabolitos tóxicos característicos. De facto, são vários os estudos que referem a ocorrência de OTA, tanto nos cafés verde como no torrado. Apesar dos dados serem bem mais limitados, existem trabalhos nos quais também já foi detectada a presença de AFs e de esterigmatocistina.

Estudos experimentais sugerem que as aflatoxinas, das quais a mais potente é a AFB1, são mutagénicas, teratogénicas, imunossupressoras e carcinogénicas, sendo o fígado o principal alvo. Alguns autores sugerem até que estes compostos poderão estar envolvidos na etiologia do carcinoma hepático humano. A contaminação do café com este tipo de metabolitos parece não ser muito frequente, possivelmente devido à presença de taninos e cafeína, que segundo alguns autores, contribuem para as propriedades anti-aflatoxigénicas do café. A operação de torra, parece também contribuir para a redução da contaminação. Porém, como precaução, na produção de café descafeinado, a extracção da cafeína deve ser realizada previamente à operação de torra.

A esterigmatocistina, composto estrutural e biologicamente análogo às aflatoxinas, exibe, à sua semelhança, propriedades mutagénicas e hepatocarcinogénicas, embora a sua toxicidade seja menor. A ocorrência deste composto no café foi verificada em trabalhos antigos, nos quais se observou uma redução da contaminação após a torra. A presença desta micotoxina no café, parece, assim, também não ser muito frequente.

A OTA é, sem dúvida, a micotoxina mais frequentemente associada à contaminação do café. Pensa-se que este contaminante natural tenha origem nas espécies *A. ochraceus*, *A. carbonarius* e *A. niger*, fungos encontrados nas regiões quentes e húmidas, de onde o café provém, muito embora ainda não estejam esclarecidas as condições necessárias à formação de OTA. Sabe-se, no entanto, que uma secagem inadequada e um armazenamento sem as devidas precauções, são factores que podem exacerbar a contaminação. Nas espécies animais estudadas, a OTA revelou ser sobretudo nefrotóxica, exibindo também propriedades teratogénicas, imunossupressoras, hepatotóxicas e nefrocarcinogénicas. Muito embora a causa seja desconhecida, existem evidências significativas que implicam a OTA na etiologia da NEB, uma doença crónica dos rins associada a tumores do tracto urinário, que afecta predominantemente as pessoas que vivem em zonas rurais dos Balcãs. No que se refere à transformação do café verde, a OTA parece não ser completamente destruída pela torra (embora a maioria dos trabalhos sugira uma redução bastante significativa), pelo processo de descafeinização e na produção de café solúvel. A maior parte das experiências realizadas, demonstraram que esta toxina passa quase na totalidade do café torrado para a bebida. Segundo os resultados dos vários trabalhos efectuados, o café não é a principal fonte de exposição a esta

micotoxina. No entanto, para indivíduos grandes consumidores, a ingestão de café poderá ter alguma importância. Dadas as implicações nefastas da OTA na saúde, os sectores agrícola, de processamento e de segurança alimentar deverão permanecer altamente vigilantes. Acrescente-se que, para além da Saúde Pública, há ainda que considerar o aspecto económico que envolve a rejeição de grandes quantidades de café.

BIBLIOGRAFIA

1. Smith RF. A History of Coffee. In: Clifford MN, Willson KC, editors. Coffee; botany, biochemistry and production of beans and beverage. London: Croom Helm Ltd; 1985. p.1-11.
2. Ramalakshmi K, Raghavan B. Caffeine in Coffee: Its Removal. Why and How? Crit Rev Food Sci Nut 1999;39:441-456
3. Escotado A. Historia general de las drogas, 1. 3ª Edición revisada y ampliada. Madrid: Alianza Editorial; 1995
4. Thorn J. O Guia do café – Guia dos conhecedores das melhores infusões do mundo. Livros e Livros; 1998.
5. International Coffee Organization (ICO)
<http://www.ico.org>
6. Hussein HS, Brasel JM. Toxicity, metabolism, and impact of mycotoxins on humans and animals. Review. Toxicology 2001;167:101-134.
7. Bennett JW, Klich M. Mycotoxins. Clin Microbiol Rev 2003;16:497-516.
8. Neal G, Coker R. Metabolism and Toxicology of Mycotoxins. Food Safety Proceedings Book 2000, p. 83-93.
9. Fonseca AF. Mycotoxins - Morbid Effects and occurrence in foods. Introductory Advanced Course and Practicals in Public Health Microbiology of Food and Drinking Water. 17-22 September 2001
10. Pfohl-Leskowicz A. Définition et origins des mycotoxines. In: Pfohl-Leskowicz A., coordonnatrice. Conseil supérieur d'hygiène publique de France, Section de l'alimentation et de la nutrition, Les Mycotoxines dans l'alimentation - Évaluation et gestion du risque. Paris: Editions TEC & DOC ; 1999 p. 3- 16.

11. Bhatnagar D, Yu J, Ehrlich KC. Toxins of filamentous fungi [Abstract].
Chem Immunol 2002;81:167-206.
12. Peraica M, Radic B, Lucic A, Pavlovic M. Toxic effects of mycotoxins in humans [Abstract]. Bull World Health Organ. 1999;77:754-766.
13. Park DL, Njapau H, Boutrif E. Minimizing risks posed by mycotoxins utilizing the HACCP concept. FNA 1999;23:49-56.
14. Creppy EE. Update of survey, regulation and toxic effects of mycotoxins in Europe - Review. Toxicol Letters 2002;127:19-28.
15. Pfohl-Leszkowicz A. Écotoxicogenèse. In: Pfohl-Leszkowicz A., coordonnatrice. Conseil supérieur d'hygiène publique de France, Section de l'alimentation et de la nutrition, Les Mycotoxines dans l'alimentation - Évaluation et gestion du risque. Paris: Editions TEC & DOC ; 1999 p.17-29
16. Clark RJ. Green Coffee Processing. In: Clifford MN, Willson KC, editors. Coffee; botany, biochemistry and production of beans and beverage. London: Croom Helm Ltd; 1985. p.230-250
17. Ily E. The Complexity of Coffee. Sci Am 2002;286:86-91.
18. International Agency for Research on Cancer, 1991, IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans: Coffee, Tea, Mate, Methylxanthines and Methylglyoxal, Lyon, France: International Agency for Research on Cancer. p.41-206.
19. Correia, A. M. Manual da Tecnologia do Café. 1ª Edição. Porto: CULTIVAR – Associação de Técnicos De Culturas Tropicais; 1995.
20. Cardoso, A. P. S. Café – Cultura e Tecnologia Primária. Lisboa: Ministério do Planeamento e da Administração do Território, Secretaria de Estado da Ciência e Tecnologia, Instituto de Investigação Científica Tropical; 1994.

21. Viani, R. Fate of ochratoxin A (OTA) during processing of coffee. *Food Addit Contam* 1996; 13 Supplement, 29-33.
22. Mutua, J. Post Harvest Handling and Processing of Coffee in African Countries. Food and Agriculture Organization of the United Nations - FAO; 2000: <http://www.fao.org/DOCREP/003/X6939E/X6939E00.HTM>
23. Bucheli, P., Kanchanomai, C., Meyer, I. and Pittet, A. Development of Ochratoxin A during Robusta (*Coffea canephora*) Coffee Cherry Drying. *J Agric Food Chem* 2000;48:1358-136.
24. Stegen, G. v. d., Essens, P. J. M. and van der Lijn, J. Effect of Roasting Conditions on Reduction of Ochratoxin A in Coffee. *J Agric Food Chem* 2001;49: 4713-4715.
25. Blanc, M., Pittet, A., Muñoz-Box, R. and Viani, R. Behavior of ochratoxin A during green coffee roasting and soluble coffee manufacture. *J Agric Food Chem* 1998;46:673-675.
26. Urbano GR, Taniwaki MH, Leitão MF, Vicentini MC. Occurrence of Ochratoxin A-Producing Fungi in Raw Brazilian Coffee. *J Food Prot* 2001;64:1226-1230.
27. Batista LR, Chalfon SM, Prado G, Schwan RF, Wheals AE. Toxigenic fungi associated with processed (green) coffee beans (*Coffea arabica* L.). *Int J Food Microbiol* 2003;85:293-300.
28. Silva CF, Schwan F, Dias ES, Wheals AE. Microbial diversity during maturation and natural processing of coffee cherries of *Coffea arabica* in Brazil. *Int J Food Microbiol* 2000;60:251-260.
29. Steigmeier ME, Schlatter C. Mycotoxins in Coffee [Abstract]. 14th ASIC Coffee Conference, San Francisco, 1991.

<http://www.asic-cafe.org>

30. Studer-Rohr, Dietreich, D. R., Schlatter, J. and Schlatter, C. The Occurrence of Ochratoxin A in Coffee. *Food Chem Toxic* 1995; 5:341-355.
31. Stegen, G. v. d., Jörissent, U., Pittet, A., Saccon, M., Steiner, W., Vincenzi, M. et al. Screening of European coffee final products for occurrence of ochratoxin A (OTA). *Food Addit Contam* 1997; 14:211-216.
32. Patel, S., Hazel, C. M., Winterton, A. G. M. and Gleadle, A. E. Survey of ochratoxin A in UK retail coffees. *Food Addit Contam* 1997; 14:217-222.
33. Jørgensen K. Survey of pork, poultry, coffee, beer and pulses for ochratoxin A. *Food Addit Contam* 1998;15:550-554.
34. Trucksess SW, Giler J, Young K, White KD, Page SW. Determination and Survey of Ochratoxin A in Wheat, Barley and Coffee - 1997. *J. AOAC Int.* 1999;82:85-89.
35. Leoni, L. A. B., Soares, L. M. V. and Oliveira, P. L. C. Ochratoxin A in Brazilian roasted and instant coffees. *Food Addit Contam* 2000;17:867-870.
36. Otteneder, H. and Majerus, P. Ochratoxin A (OTA) in coffee: nations-wide evaluation of data collected by German Food Control 1995-1999. *Food Addit Contam* 2001;18:431-435.
37. Lombaert, G. A., Pellaers, P., Chettiar, M., Lavalee, D., Scott, P. M. and Lau, B. P.-Y. Survey of Canadian retail coffees for ochratoxin A. *Food Addit Contam* 2002;19: 869-877.
38. Purchase IF, Pretorius ME. Sterigmatocystin in Coffee Beans. *J. AOAC* 1973;56:225-226.
39. Levi C. Mycotoxins in Coffee. *J Assoc Off Anal Chem* 1980;63:1282-1285.

40. Soliman, K. M. Incidence, Level, and Behavior of Aflatoxins during Coffee Bean Roasting and Decaffeination. *J Agric Food Chem* 2002,50:7477-7481.
41. Bucheli, P. and 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. *Food Addit Contam* 2002;19:655-665.
42. Abarca ML, Accensi F, Bragulat MR, Cabañes FJ. Current Importance of Ochratoxin A-Producing *Aspergillus* spp. - Review. *J. Food Prot.* 2001;64:903-906
43. Bayman P, Baker JL, Doster MA, Michailides TJ, Mahoney NE. Ochratoxin Production by the *Aspergillus ochraceus* Group and *Aspergillus alliaceus*. *Appl Environ Microbiol* 2002;68:2326-2329.
44. International Agency for Research on Cancer, 1993, IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans: Some naturally Occurring Substances, Food Items and Constituents, Heterocyclic Amines and Mycotoxins, Lyon, France: International Agency for Research on Cancer, pp.489-521.
45. Park DL. Control Methods for Mycotoxins. *Food Safety Proceedings Book* 2000, p. 75-82.
46. Miraglia, M. and Brera, C. Reports on Tasks for Scientific Cooperation, Report of experts participating in Task 3.2.7, January 2002 *Assessment of dietary intake of Ochratoxin A by the population of EU Member States*, Directorate-General Health and Consumer Protection, Istituto Superiore di Sanità, Rome, Italy.

<http://www.mykotoxin.de/Dokumente/SCOOPOA%2012.02.pdf>

47. Pitt JI. The Importance of Ochratoxin A in foods: Report on the 56th Meeting of JECFA [Abstract]. 19th ASIC Coffee Conference. Trieste, Italy. 14-18 May. <http://www.asic-cafe.org>
48. Taniwaki MH, Pitt JI, Teixeira AA, Iamanaka BT. The source of Ochratoxin A in Brazilian coffee and its formation in relation to processing methods. *Int J Food Microbiol* 2003;82:173-179.
49. Viani, R. Effect of processing on ochratoxin A (OTA) content of coffee [Abstract]. *Adv Exp Med Biol* 2002;504:189-193.
50. Joosten HMLJ, Goetz J, Pittet A, Scheellenberg M, Bucheli P. Production of Ochratoxin A by *Aspergillus carbonarius* on coffee cherries. *Int J Food Microbiol* 2001;65:39-44
51. Bucheli P, Meyer I, Pittet A, Vuataz G, Viani R. Industrial Storage of Green Robusta Coffee under Tropical Conditions and Its Impact on Raw Material Quality and Ochratoxin A. *J Agri Food Chem* 1998;46:4507-4511.
52. Blanc M, Vuataz G, Hilckmann L. Green Coffee Transport Trials [Abstract]. 19th ASIC Coffee Conference. Trieste, Italy, 14-18 May, 2002. <http://www.asic-cafe.org>
53. Levi CP, Trenk HL, Mohr HK. Study of the occurrence of Ochratoxin A in green coffee beans [Abstract]. *J Assoc Off Anal Chem* 1974;57:866-870.
54. Cantafora A, Grossi M, Miraglia M, Benelli L. Determination of ochratoxin A in green coffee beans using reversed-phase high performance liquid chromatography [Abstract]. *Riv Soc Ital Sci Aliment* 1983;12:103-108.
55. Micco C, Grossi M, Miraglia M, Brera C. A study of the contamination by ochratoxin A of green and roasted coffee beans [Abstract]. *Food Addit Contam* 1989;6:333-339.

56. Tsubouchi H, Terada H, Yamamoto K, Hisada K, Sakabe Y. Ochratoxin A found in commercial roast coffee[Abstract]. *J Agric Food Chem* 1988;36:540-542.
57. Heilman W, Rehfeldt AG, Rotzoll F. Behaviour and reduction of Ochratoxin A in green coffee beans in response to various processing methods [Abstract]. *Eur Food Res Technol* 1999;209:297-300.
58. Romani S, Pinnavaia G, Rosa MD. Influence of Roasting Levels on Ochratoxin A Content in Coffee. *J Agric Food Chem* 2003;51:5168-5171.
59. Romani, S., Sacchetti, G., López, C. C., Pinnavaia, G. G. and Rosa, M. D. Screening on the Occurrence of Ochratoxin A in Green Coffee Beans of Different Origins and Types. *J Agric Food Chem* 2000;48:3616-3619.
60. Pfohl-Leszkowics A, Petkova-Bocharova T, Chernozemsky IN, Castegnaro M. Balkan endemic nephropathy and associated urinary aetiological causes and the potencial role of mycotoxins. *Food Addit Contam* 2002;19:282-302.
61. Ehrlich, V., Darroudi, F., Uhl, M., Steinkellner, H., Gann, M., Majer, B. J. et al. Genotoxic effects of ochratoxin a in human-derived hepatoma (HepG2) cells. *Food Chem Toxicol* 2002;40:1085-1090.
62. Schwartz GG. Hypothesis: Does Ochratoxin A cause testicular cancer? *Cancer Causes Control* 2002;13:91-100.
63. International Agency for Research on Cancer, 1993, IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans: Some naturally Occurring Substances, Food Items and Constituents, Heterocyclic Amines and Mycotoxins, Lyon, France: International Agency for Research on Cancer, pp.245-395.

64. Oliveira, C. A. F. Aflatoxins in foodstuffs: current concepts on mechanisms of toxicity and its involvement in the etiology of hepatocellular carcinoma. *Rev Saúde Pública* 1997;31:417-424.
65. Aflatoxins - Safety Evaluation of Certain Food Additives and Contaminants, WHO Food Additives Series 40, International Programme on Chemical Safety, World Health Organization (WHO), Geneva, 1998. p.70-87.
<http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v040je16.htm>
66. Conseil supérieur d'hygiène publique de France, Section de l'alimentation et de la nutrition, *Les Mycotoxines dans l'alimentation – Évaluation et Gestion du risque*, Editions TEC & DOC ;1999, Paris. pp. 199-247.
67. Buchanan, R. L., Hoover, D. G. and Jones, S. B. Caffeine Inhibition of Aflatoxin Production: Mode of Action. *Appl Environ Microbiol* 1983;46:1193-1200.
68. Buchanan, R. L. and Lewis, D. F. Caffeine Inhibition of Aflatoxin Synthesis: Probable Site of Action. *Appl Environ Microbiol* 1984;47:1216-1220.
69. Hasan, H. A. H. Aflatoxin In Detannin Coffee and Tea and Its Destruction. *J Natural Tox* 2002;11:133-137.
70. Rauch, P., Viden, I., Davídek, T., Velíšek, J. and Fukal, L. Caffeine as Main Interfering Compound in Radioimmunoassay of Aflatoxin B₁ in Coffee Samples. *J Ass Off Anal Chem* 1989;72:1015-1017.
71. Bañuelos MTA, Moreno MC, Peón NR, Rojo F. Aductos-ADN-Aflatoxina como biomarcadores de exposición en grupos de riesgos de cáncer de hígado. *Rev Cubana Oncol* 2000;16:35-39.
72. Branch KR, Bennett JW, Bhatnagar D. Sterigmatocystin production by *Aspergillus nidulans*: <http://www.fgsc.net/fgn/branch.html>

73. Lopez-Garcia R., Park DL, Phillips TD. Integrated mycotoxin management systems. FDA 1999;23:38-48.
74. European Coffee Co-Operation: AFCASOLE, CECA, EUCA, ECF, EDA, ASIC, ISIC, PEC. Code of Practice: Enhancement of Coffee Quality through Prevention of mould formation. 14 June 2002. <http://www.ico.org>
75. Pittet A, Royer D. Rapid, Low Cost Thin-Layer Chromatographic Screening Method for the Detection of Ochratoxin A in Green Coffee at a Control Level of 10 µg/kg. J Agric Food Chem 2002;50:243-247.

ANEXOS

Índice de Anexos

xvi

**ANEXO 1 - Regulamentação actual da OTA nos Estados Membros da
União Europeia**

a1

Regulamentação actual da OTA nos Estados Membros da União Europeia

Country	Commodity	Maximum Limit (µg/kg)	Legal basis	Comments
Denmark	Pig Kidneys	25	Official	Whole carcass condemned
	Pig Kidneys	10	Official	Viscera condemned
	Cereals and cereals products	5	Official	From 1 July 1995
Finland	Coffee	5	Guideline level	
France	Cereals	4	Guideline level	Recommendation of CSHPF (1999)
Germany	No specific regulation			
Greece	Coffee (all types)	20	Official	Decision of the Minister of Agriculture No. 91587/1992
Ireland	From 9 June 1999			
Italy	Cereals and derived products	3	Guideline level	
	Baby foods	0,5		
	Green coffee	8		
	Roasted and instant coffee	4		
	Cocoa derived products	0,5		
	Beer	0,2		
	Pork meat and derived products	1		
Norway				
Portugal				
Spain	No specif regulation			
Sweden	Cereals and cereal products	5	Official	Organisation: FIS
The Netherlands	All foods	10	Action level	
United Kingdom	No specific regulations			
EU	Cereals raw	5		
	Cereals intended for human consumption	3	Official	Taken into force from 1 October 2001
	Vine dried fruits	10		

Fonte : Miraglia, M. and Brera, C. Reports on Tasks for Scientific Cooperation, Report of experts participating in Task 3.2.7, January 2002 *Assessment of dietary intake of Ochratoxin A by the population of EU Member States*, Directorate-General Health and Consumer Protection, Istituto Superiore di Sanià, Rome, Italy.