

# POTENCIAL ENZIMÁTICO E TOXIGÊNICO DE FUNGOS ISOLADOS DE GRÃOS DE CAFÉ

Elisângela de Fátima Rezende<sup>1</sup>, Fabiana Aparecida Couto<sup>2</sup>, Josiane Gonçalves Borges<sup>3</sup>,  
Daiani Maria da Silva<sup>4</sup>, Luis Roberto Batista<sup>5</sup>

(Recebido: 5 de julho de 2011; aceito 29 de março de 2012)

**RESUMO:** A presença de algumas espécies de fungos filamentosos em grãos de café pode indicar redução da qualidade e riscos de micotoxinas. Por outro lado, outras espécies podem ser bioprotetoras da integridade dos grãos, indicadores de alterações ambientais e indicativo. Objetivou-se, neste estudo, avaliar a atividade enzimática e o potencial toxigênico de fungos filamentosos isolados de 12 amostras de grãos de café (11 amostras de *Coffea arabica* e uma amostra de *Coffea canephora*). Foram isolados e identificados 182 fungos pertencentes a dois gêneros: *Aspergillus* e *Penicillium*. Dos 138 fungos do gênero *Aspergillus* pertencentes à Seção *Circumdati* e Seção *Nigri* testados, 28,3% foram produtores de ocratoxina A, com destaque para as espécies *A. ochraceus* e *A. ostianus*. Dos 14 isolados de *A. flavus* testados, 78,6% foram produtores de aflatoxina B1 e B2. *A. versicolor*, *Cladosporium cladosporioides*, *P. roqueforti* e *Penicillium* sp. apresentaram índice enzimático superior a 2 ( $IE > 2$ ) para poligalacturonase e *P. funiculosum*, *P. aurantiogriseum* e *Aspergillus sclerotiorum* apresentaram atividade pectato liase acima de 2 ( $IE > 2$ ). Os isolados de *P. brevicompactum* apresentaram potencial pectinolítico para as duas enzimas testadas. Esses resultados demonstram que os grãos de café podem ser importante fonte de fungos com potencial biotecnológico e que os fungos potencialmente toxigênicos apresentam limitada capacidade enzimática de degradar substratos ricos em pectina como a mucilagem e produzir micotoxinas.

**Termos para indexação:** *Aspergillus*, *Penicillium*, café, micotoxinas, potencial biotecnológico.

## ENZYMATIC AND TOXIGENIC POTENTIAL OF FUNGI ISOLATED FROM COFFEE BEANS

**ABSTRACT:** The presence of some species of filamentous fungi in coffee beans may indicate reduced quality and risks of mycotoxins. Moreover, other species may be bioprotective of the bean integrity, indicators of environmental changes and informative. The objective of this study was to evaluate the enzymatic activity and toxigenic potential of filamentous fungi isolated from 12 samples of coffee beans (11 samples of *Coffea arabica* and 1 sample of *Coffea canephora*). 182 fungi were isolated and identified belonging to two genera: *Aspergillus* and *Penicillium*. Of the 138 fungi from the genus *Aspergillus* belonging to the Section *Nigri* and Section *Circumdati* tested, 28.3 % were producers of ochratoxin A, particularly for the species *A. ochraceus* and *A. ostianus*. Of the 14 isolates of *Aspergillus flavus* tested, 78.6 % were producers of aflatoxin B1 and B2. *Aspergillus versicolor*, *Cladosporium cladosporioides*, *Penicillium roqueforti* and *Penicillium* sp. showed an enzymatic index greater than 2 ( $IE > 2$ ) for polygalacturonase and *Penicillium funiculosum*, *Penicillium* and *Aspergillus sclerotiorum aurantiogriseum* showed pectate lyase activity above 2 ( $IE > 2$ ). The isolates of *Penicillium brevicompactum* showed potential pectinolytic for the two enzymes tested. These results demonstrate that coffee beans can be an important source of fungi with biotechnological potential and potentially toxigenic fungi have limited enzyme capacity of degrading pectin-rich substrates such as mucilage and produce mycotoxins.

**Index terms:** *Aspergillus*, *Penicillium*, coffee, mycotoxins, biotechnological potential.

### 1 INTRODUÇÃO

O café é um dos produtos agrícolas de maior geração de riquezas do planeta (ESPADALÉ; LAMPURLANÉS; AUBERT,

2008). É responsável por um grande número de empregos em todos os setores da economia, empregando direta ou indiretamente meio bilhão de pessoas em todo o mundo (PASIN; ALMEIDA; ABREU, 2009). O Brasil lidera o ranking da

<sup>1</sup>Universidade Federal de Lavras /UFLA - Departamento de Biologia/ DBI - Microbiologia Agrícola Cx. P. 3037 37200-000 - Lavras - MG - rezende.e@gmail.com

<sup>2</sup>Universidade Federal de Lavras /UFLA - Departamento de Biologia/ DBI - Microbiologia Agrícola Cx. P. 3037 37200-000 - Lavras - MG - fapcouto@yahoo.com.br

<sup>3</sup>Universidade de São Paulo/FZEA - Ciências da Engenharia de Alimentos/ ZEA - Cx. P. 23 Pirassununga - SP josianejgb@gmail.com

<sup>4</sup>Universidade Federal de Lavras /UFLA - Departamento de Biologia/ DBI - Microbiologia Agrícola Cx. P. 3037 37200-000 - Lavras- MG - daiani0905@yahoo.com.br

<sup>5</sup>Universidade Federal de Lavras /UFLA - Departamento de Ciência dos Alimentos/DCA - Cx. Postal 3037 37200-000 - Lavras- MG - luisrb@dca.ufla.br

produção mundial de café, respondendo por mais de um terço de toda a produção, seguido pelo Vietnã e Colômbia e, em conjunto, esses países respondem pela metade da produção mundial (MONTEIRO et al., 2010). O estado de Minas Gerais produz a metade do café nacional (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB, 2010).

Os frutos e grãos de café, assim como outras culturas, podem ser contaminados por microrganismos durante diferentes estágios de crescimento, colheita, processamento, transporte e estocagem (BATISTA et al., 2009; SILVA; BATISTA; SCHWAN, 2008). A diversidade de fungos encontrados nos grãos de café depende de vários fatores, como variedade do café, região geográfica, clima e método de processamento (PERRONE et al., 2007). No sistema de cultivo, a falta de Boas Práticas Agrícolas aumenta as contaminações e o desenvolvimento de microrganismos, dentre esses, os fungos toxigênicos (BATISTA et al., 2009; DUARTE; PENA; LINO, 2010).

A presença de fungos toxigênicos em grãos de café não afeta apenas a qualidade, como também coloca em risco a segurança do produto final devido à produção de micotoxinas, que podem ser nocivas aos consumidores (BERNET; KLICH, 2003; VILELA et al., 2010). Os fungos associados aos frutos e grãos de café podem, sob condições específicas, causar perdas de qualidade, produzindo odores e sabores desagradáveis (VILELA et al., 2010). Tal degradação ocorre devido ao complexo sistema enzimático produzido pelos fungos filamentosos, como celulasas, hemicelulasas, xilanases, pectinases, proteases e outros. As pectinases são utilizadas para degradar a polpa e a mucilagem do café e favorecer o desenvolvimento dos fungos. Esse desenvolvimento pode ser acompanhado pela produção de micotoxinas. A micotoxina mais comum presente no café é a ocratoxina A (OTA) (FERRAZ et al., 2010; GIL-SERNA et al., 2011). A OTA é produzida, principalmente, por espécies de fungos dos gêneros *Aspergillus* pertencentes à Seção *Circumdati* e à Seção *Nigri* e *Penicillium* (*P. nordicum* e *P. verrucosum*) (GIL-SERNA et al., 2011). A OTA possui ação nefrotóxica,

teratogênica e, possivelmente carcinogênica (INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER - IARC, 1993), sendo detectada em diversos produtos alimentícios, incluindo cereais, nozes, grãos de café, cacau, frutas secas, temperos, vinho e cerveja (BATISTA et al., 2009; PERRONE et al., 2007; SILVA et al., 2007).

Além de metabólitos secundários tóxicos, os fungos filamentosos podem ser produtores de enzimas de importância biotecnológica. As pectinases produzidas por fungos apresentam características importantes para a aplicação em bioprocessos (MALVESSI; SILVEIRA, 2004). As enzimas pectinolíticas são responsáveis pela degradação de uma molécula complexa de pectina presente em todos os tecidos vegetais jovens. Dentre as espécies de fungos capazes de produzir enzimas pectinolíticas estão: *Alternaria mali*, *Aspergillus aculeatus*, *A. awamori*, *A. japonicus*, *A. nidulans*, *A. niger*, *A. oryzae*, *A. tubingensis*, *Colletotrichum lindemuthium*, *Fusarium moniliforme*, *F. oxysporum*, *Neurospora crassa*, *Rhizopus stolonifer* (JAYANI; SAXENA; GUPTA, 2005). A utilização e o tratamento de resíduos agroindustriais por bioprocessos enzimáticos não somente proporcionam substratos alternativos, que serão convertidos em produtos de valor comercial agregado, como também ajudam a diminuir os problemas ambientais (SOCCOL; VANDENBERG, 2003). Objetivou-se, no presente trabalho, estudar a biodiversidade e avaliar, semiquantitativamente, a atividade enzimática pectinolítica e toxigênica de diferentes espécies de fungos filamentosos isolados de grãos de café.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### Amostras

Foram estudadas doze amostras de grãos de café verde (500g), obtidos na Cooperativa Alto Rio Grande Cafés, no município de Lavras, MG, das quais onze amostras eram de café arábica (*Coffea arabica* L.) e uma amostra de café robusta (*Coffea canephora* Pierre ex. A. Froehner).

### Isolamento de fungos filamentosos

Para o isolamento de fungos, foi utilizada a técnica de plaqueamento direto em meio de cultura

Dicloram Rosa de Bengala Cloranfenicol (DRBC) (glicose 10g; peptona bacteriológica 5g;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1g;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0,5g; ágar 15g; água destilada 1L; rosa de bengala 15mg; dicloran 2 mg; cloranfenicol 100g), sendo utilizados, em cada amostra, 100 grãos de café desinfectados superficialmente (álcool 70% e NaCl 1%) e 100 grãos sem desinfeção superficial, conforme Samson et al. (2000). Os fungos isolados foram purificados em extrato de malte (MA) 2% e mantidos a 25 °C, durante sete dias. Posteriormente, os isolados foram cultivados em meios específicos para identificação e identificados conforme Klich (2002), Pitt (2000), Pitt e Hocking (1997) e Samson et al. (2000). A purificação e a identificação dos fungos filamentosos foram realizadas no Laboratório de Micotoxinas e Micologia de Alimentos, no Departamento de Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Lavras.

#### Potencial ocratoxigênico e aflatoxigênico dos fungos isolados de grãos de café

Para a determinação do potencial toxigênico das espécies utilizou-se a metodologia de Plug Agar, descrita por Filtenborg e Frisvad (1980).

#### Potencial biotecnológico

Para detectar a atividade pectinolítica, foi utilizado o meio de cultura descrito por Hankin et al. (1971), que contém pectina cítrica como substrato. O meio em pH 7,0 foi utilizado para detectar a produção de pectato liase e em pH 5,0, para avaliar a atividade de poligalacturonase. Para a visualização da atividade pectinolítica, adicionou-se ao meio de cultura uma solução de bromide hexadeciltrimetilamonio 1% (cetrímida 1%).

A habilidade de degradar substâncias pécticas foi determinada pela produção das enzimas pectinolíticas: pectato liase e poligalacturonase em meios com pH ótimo para cada enzima, sendo pH 7 e pH 5, respectivamente. A atividade enzimática foi detectada pela formação de um halo claro em torno da colônia, visualizado com a adição do reagente cetrímida 1% (Figura 2a e 2b). Esse reagente precipita a pectina intacta no meio, possibilitando a formação de zonas claras ao redor das colônias, onde houve a degradação da pectina. Dessa forma, com a razão

do halo para o tamanho da colônia, foi possível quantificar (semiquantitativamente) a atividade pectinolítica dos fungos analisados. O índice de atividade enzimática é um dos parâmetros semiquantitativos mais utilizados para avaliar a produção de enzimas pelos microrganismos em meio sólido. Os microrganismos considerados produtores de enzimas possuem correlação direta entre o diâmetro do halo de degradação e a habilidade degradativa dos microrganismos (LIN; CHANG; SHEN, 1991). Os fungos filamentosos considerados potencialmente viáveis para uso biotecnológico apresentam um índice enzimático (IE – razão do diâmetro do halo pelo diâmetro da colônia) acima de 2,0 (LEALEM; GASHE, 1994; STAMFORD; ARAÚJO; STAMFORD, 1998).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O nível médio de contaminação das amostras foi de 62% com a desinfeção superficial e de 100% sem desinfeção superficial. Esses valores já eram esperados, pois, com a desinfeção superficial, somente os fungos do interior dos grãos são detectados. Todas as amostras estudadas apresentaram contaminações por várias espécies de fungos. No entanto, quando se realizou a desinfeção superficial dos grãos, houve redução do índice de contaminação por fungos filamentosos e maior presença de fungos leveduriformes (Figuras 1a e 1b) conforme já observado por Batista et al. (2003).

Em todas as amostras analisadas, a que apresentou maior índice de contaminação foi café conillon (*Coffea canephora*) sem desinfeção superficial. Das espécies de fungos filamentosos isolados, 50,5% pertenciam ao gênero *Aspergillus* Seção *Nigri* e a espécie *A. niger* foi mais frequente. Neste estudo não foi detectado a espécie *A. carbonarius* que é descrito como a espécie do gênero *Aspergillus* Seção *Nigri* com maior potencial de produção de ocratoxina A (PARDO et al., 2004). A contaminação com essa espécie é ligeiramente superior em café conillon do que em café arábica (NOONIM et al., 2008; PARDO et al., 2004). Essa afirmação foi reforçada pelos estudos de Taniwaki et al. (2003), que encontram 62,95% de *A. niger* e 6,19% de *A. carbonarius* em grãos de café e identificaram como ocratoxigênicos apenas

3% dos isolados de *A. niger* enquanto nos isolados de *A. carbonarius* essa proporção foi de 77%. Os fungos do gênero *Aspergillus* Seção *Nigri* são economicamente importantes devido à produção de ocratoxina A, e produção de enzimas que são utilizadas na indústria, como por exemplo as que são produzidas por *A. niger* (PERRONE et al., 2007; SAMSON et al., 2007; SAMSON; HONG; FRISVAD, 2006).

As principais espécies identificadas pertencem aos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*. As espécies isoladas do gênero *Aspergillus* foram: *Aspergillus flavus*, *A. foetidus*, *A. lacticoffeatus*, *A. niger*, *A. niger* Agregado, *A. ochraceus*, *A. oryzae*, *A. ostianus*, *A. sydowi*, *A. tubingensis*, *A. versicolor*, *A. wentii*, *A. westerdijkiae* e *Aspergillus* sp. As espécies isoladas do gênero *Penicillium* foram: *Penicillium brevicompactum*, *P. funiculosum*, *P. hirsutum*, *P. roquefortii* e *Penicillium* sp, esses isolados também foram relatados por outros autores (BATISTA et al., 2003, 2009; GIL-SERNA et al., 2011; SILVA; BATISTA; SCHWAN, 2008).

Cento e trinta e oito isolados do gênero *Aspergillus*, Seção *Nigri* (n = 99) e *Aspergillus* Seção *Circumdati* (n = 39) foram testados para a produção de ocratoxina A. Apenas um isolado da espécie *A. niger* foi produtor de ocratoxina A. 97,4% dos isolados pertencentes

à Seção *Circumdati* foram potencialmente ocratoxigênicos, com destaque para *A. ochraceus*, *A. ostianus* e *A. westerdijkiae* que 100% dos isolados foram produtores de OTA. Esses resultados são semelhantes aos encontrados por Batista et al. (2009) que apontaram a espécie *A. ochraceus* como a principal espécie ocratoxigênica isolada de frutos e grãos de café. *A. ostianus* e *A. westerdijkiae* podem ser produtoras de ocratoxina A e serem isoladas de grãos de café (BATISTA et al., 2003; FRISVAD et al., 2004; GIL-SERNA et al., 2011). Do total de 14 isolados de *Aspergillus* Seção *Flavi*, 78,6% foram produtores de aflatoxina. Resultados semelhantes foram obtidos por Batista et al. (2003) e a espécie testada foi *A. flavus* (Tabela 1).

A presença dessas espécies não indica, necessariamente, a presença de ocratoxina A e aflatoxinas B1 e B2 nas amostras de grãos de café. Uma série de fatores estão envolvidos na síntese de metabólitos secundários de fungos filamentosos, como composição química do café, atividade de água, fatores ambientais como temperatura e umidade (PATERSON; LIMA, 2010). A identificação das espécies produtoras de micotoxinas é essencial para serem adotadas medidas de controle fitossanitário e garantir a segurança dos produtos (SILVA; BATISTA; SCHWAN, 2008).

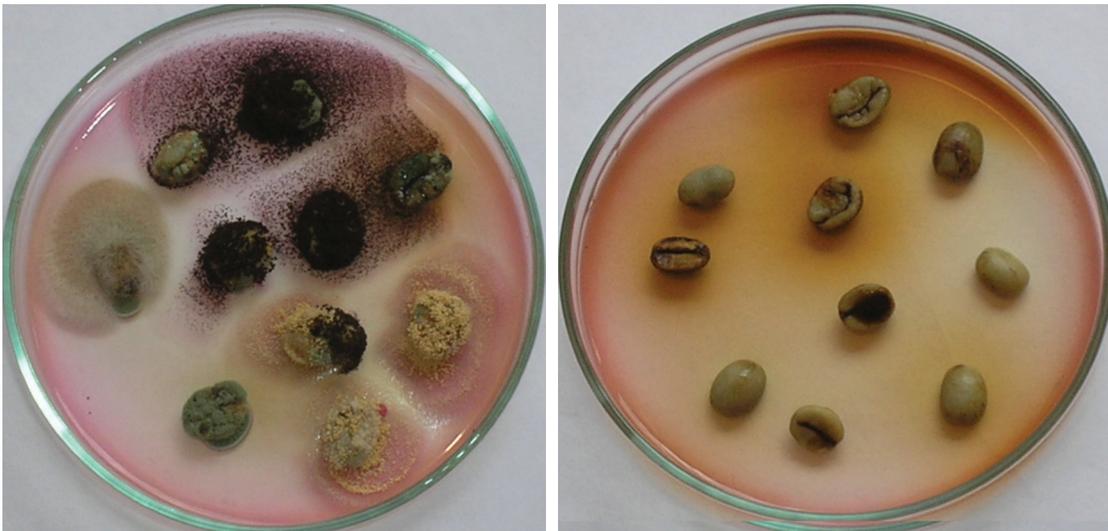


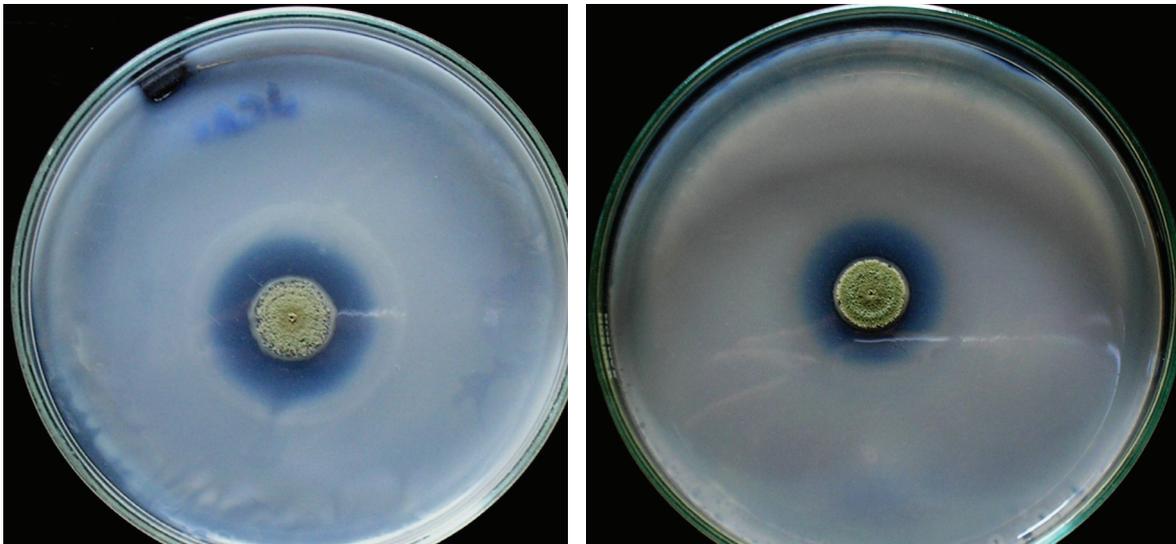
FIGURA 1 – (a) Grãos de café sem o processo de desinfecção; (b) grãos de café com o processo de desinfecção.

Dos 182 fungos analisados para o potencial enzimático, 42 apresentaram atividade pectinolítica  $\geq 2$ . Dos 32 isolados de *P. brevicompactum* testados, 18 apresentaram potencial pectinolítico para as duas enzimas testadas, pectato liase e poligalacturonase (Figura 2a e 2b). Os 4 isolados de *A. versicolor*, 75%, apresentaram potencial para poligalacturonase. *Cladosporium cladosporioides*, *P. roqueforti* e *Penicillium* sp. apresentaram boa

atividade para poligalacturonase e *P. funiculosum*, *P. aurantiogriseum* e *A. sclerotiorum* apresentaram atividade pectato liase  $\geq 2$  (Tabela 2). Quarenta e sete por cento dos fungos foram produtores de enzimas pécticas, embora nenhuma delas tenha apresentado atividade superior a 2. As espécies que apresentaram Índice Enzimático inferior a 2 foram: *Aspergillus aculeatus*, *A. flavus*, *A. foetidus*, *A. fumigatus*, *A. lacticoffeatus*, *A. niger*, *A. niger*

**TABELA 1** – Espécies de fungos produtores de ocratoxina A.

Espécie	Nº de isolados testados	Nº de isolados potencialmente toxigênicos OTA
<i>Aspergillus aculeatus</i>	1	-
<i>Aspergillus foetidus</i>	44	-
<i>Aspergillus lacticoffeatus</i>	1	-
<i>Aspergillus niger</i>	24	1 (4,17%)
<i>Aspergillus niger Agregado</i>	2	-
<i>Aspergillus ochraceus</i>	27	27 (100%)
<i>Aspergillus ostianis</i>	7	7 (100%)
<i>Aspergillus sclerotiorum</i>	1	-
<i>Aspergillus</i> sp.	1	-
<i>Aspergillus tubingensis</i>	26	-
<i>Aspergillus westerdijkiae</i>	4	4 (100%)



**FIGURA 2** – Potencial enzimático dos fungos testados. (a) *Penicillium brevicompactum* pH 5; (b) *Penicillium brevicompactum* pH 7.

Agregado, *A. ochraceus*, *A. oryzae*, *A. ostianus*, *A. sydowii*, *A. tubingensis*, *A. versicolor*, *A. wentii*, *A. westerdijkiae*, *Aspergillus* sp., *Eurotium chevalieri*, *Penicillium citrinum*, *P. hirsutum*, *P. pinophilum*, *P. hirsutum* e *Penicillium* sp.

Os isolados de *Penicillium brevicompactum* foram produtoras de pectato liase e poligalacturonase. Essa espécie já foi citada como produtora de enzimas pécticas (PIANZZOLA; MOSCATELLI; VERO, 2004). De acordo com Varavallo et al. (2005), *P. brevicompactum* apresenta potencial para a aplicação industrial, devido à sua eficiente produção de enzimas do complexo pectinolítico. *Cladosporium cladosporioides* apresentou potencial para a produção de poligalacturonase. A presença dessa espécie nos frutos pode estar relacionada à boa qualidade do café (PEREIRA; PFENNING; CASTRO, 2005). O crescimento de *Cladosporium* funciona como uma barreira para a entrada de

outros fungos prejudiciais à qualidade do café, portanto, a presença de *C. cladosporioides* pode ser considerada positiva para a segurança do café (CHALFOUN, 2010; CHALFOUN et al., 2009; MARTINS; SILVEIRA; SILVA, 2001). *C. cladosporioides* caracteriza-se por ser um fungo saprófito encontrado em intensidade máxima quando os frutos estão nos estágios de cereja, mas também é possível encontrá-lo em outros estágios dos frutos (PEREIRA; PFENNING; CASTRO, 2005). Por ser um fungo de presença frequente em café, ele pode ter um grande papel biotecnológico para tratar resíduos da produção cafeeira. Sugere-se também que sejam realizadas outras pesquisas, visando o uso de *P. brevicompactum* para processos biotecnológicos, principalmente para a degradação da pectina nos resíduos da agroindústria do café (despolpado e desmucilado), já que esse é um microrganismo presente no ambiente em grande quantidade.

**TABELA 2** – Espécies de fungos produtores de Pectato liase e Poligalacturonase.

Identificação	Espécie	Pectato liase	Poligalacturonase
DCA01	<i>Penicillium brevicompactum</i>	2,10	3,20
DCA02	<i>Penicillium brevicompactum</i>	2,20	2,90
DCA03	<i>Penicillium brevicompactum</i>	2,80	2,40
DCA04	<i>Penicillium brevicompactum</i>	2,00	2,50
DCA05	<i>Penicillium brevicompactum</i>	2,00	2,40
DCA06	<i>Penicillium brevicompactum</i>	1,50	3,60
DCA07	<i>Penicillium brevicompactum</i>	1,90	2,70
DCA08	<i>Penicillium brevicompactum</i>	1,70	2,70
DCA09	<i>Penicillium brevicompactum</i>	2,60	1,80
DCA10	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	1,80	3,40
DCA11	<i>Aspergillus versicolor</i>	1,30	2,20
DCA12	<i>Aspergillus versicolor</i>	1,10	2,50
DCA13	<i>Aspergillus versicolor</i>	1,60	2,50
DCA14	<i>Penicillium roqueforti</i>	1,10	3,20
DCA15	<i>Penicillium</i> sp.	1,10	2,00
DCA16	<i>Penicillium funiculosum</i>	2,00	1,40
DCA17	<i>Penicillium aurantiogriseum</i>	2,00	1,60
DCA18	<i>Aspergillus sclerotiorum</i>	2,00	1,20

#### 4 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos neste estudo demonstram que existe grande diversidade de fungos filamentosos em grãos de café (*Coffea arabica* e *Coffea canephora*). Foram identificadas, como espécies produtoras de ocratoxina A, *Aspergillus ochraceus*, *A. ostianus*, *A. westerdijkiae* e *A. niger* e, como produtora de aflatoxina B1 e B2, *A. flavus*. A microbiota estudada apresentou várias espécies com atividade enzimática, o que confirma o potencial biotecnológico para estudos futuros, visando à utilização desses fungos filamentosos na indústria de alimentos e agroindústria. Esses resultados também demonstram que os fungos potencialmente toxigênicos apresentam limitada capacidade enzimática, para degradar substratos dos frutos de café ricos em pectinas.

#### 5 AGRADECIMENTOS

À Cooperativa Alto Rio Grande Cafés e o apoio financeiro da FAPEMIG pelo financiamento do projeto BIODIVERSIDADE DE FUNGOS OCRATOXIGÊNICO EM GRÃOS DE CAFÉ DE CULTIVO CONVÊNÇÃO E ORGÂNICO POR TAXONOMIA POLIFÁSICA, : CBB - APQ-00781-08.

#### 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BATISTA, L. R. et al. Ochratoxin A in coffee beans (*Coffea arabica* L.) processed by dry and methods. **Food Control**, Guildford, v. 20, n. 9, p. 784-790, Sept. 2009.

\_\_\_\_\_. Toxigenic fungi associated with processed (green) coffee beans (*Coffea arabica* L.). **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 58, n. 3, p. 293-300, Aug. 2003.

CHALFOUN, S. M. Biological control and bioactive microbial metabolites: a coffee quality perspective. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 34, n. 5, p. 1071-1085, set./out. 2010.

CHALFOUN, S. M. et al. Antifungal potential of *Cladosporium cladosporioides* (Fres.) de Vries metabolites in reduction of coffee contamination by toxigenic *Aspergillus* genera. **BioMicroWorld**, Lisboa, n. 259, p. 113-117, Dec. 2009.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Balanco das exportações brasileiras de café de 2009**. Brasília, 2010. 4 p.

DUARTE, S. C.; PENA, A.; LINO, C. M. A review on ochratoxin A occurrence and effects of processing of cereal and cereal derived food products. **Food Microbiology**, London, v. 27, n. 2, p. 187-198, Apr. 2010.

ESPADALÉ, R. M. A.; LAMPURLANÉS, X. S.; AUBERT, A. C. Exposición laboral a hongos en una planta de procesamiento de café. **Medicina y Seguridad del Trabajo**, Madrid, v. 54, n. 211, p. 31-37, marzo 2008.

FERRAZ, M. B. M. et al. Kinetics of ochratoxin A destruction during coffee roasting. **Food Control**, Vurrey, v. 21, n. 6, p. 872-877, June 2010.

FILTENBORG, O.; FRISVAD, J. C. A simple screening method for toxigenic molds in pure cultures. **Lebensmittel-Wissenschaft Technologie**, London, v. 13, n. 3, p. 128-130, 1980.

FRISVAD, J. C. et al. New ochratoxin A producing species of *Aspergillus* section *Circumdati*. **Studies in Mycology**, Wageningen, v. 50, n. 4, p. 23-43, Oct. 2004.

GIL-SERNA, J. et al. Revision of ochratoxin A production capacity by the main species of *Aspergillus* Section *Circumdati*. *Aspergillus steynii* revealed as the main risk of OTA contamination. **Food Control**, Vurrey, v. 22, n. 2, p. 343-345, Feb. 2011.

HANKIN, L.; ANAGNOSTAKIS, S. L. The use of solid media for detection of enzymes production by fungi. **Mycologia**, New York, v. 67, n. 3, p. 597-607, May/June 1971.

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER. Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, some naturally occurring substances: food items and constituents, heterocyclic aromatic amines, and mycotoxins. **International Agency for Research on Cancer**, Lyon, v. 56, p. 489-521, June 1993.

**Coffe Science**, Lavras, v. 8, n. 1, p. 69-77, jan./mar. 2013

- JAYANI, R. S.; SAXENA, S.; GUPTA, R. Microbial pectinolytic enzymes: a review. **Process Biochemistry**, London, v. 40, n. 9, p. 2931-2944, Sept. 2005.
- KLICH, M. A. **Identification of common *Aspergillus* species**. Wageningen: Centraalbureau voor Schimmelcultuur, 2002. 116 p.
- LEALEM, F.; GASHE, B. A. Amylase production by a gram-positive bacterium isolated from fermenting tef (*Eraglostis tef*). **Journal of Applied Bacteriology**, Oxford, v. 77, n. 3, p. 348-352, 1994.
- LIN, J. E.; CHANG, D. C. N.; SHEN, G. J. Correlations among several screening methods used for identifying wood-decay fungi that can degrade toxic chemicals. **Biotechnology Technology**, Oxford, v. 5, n. 5, p. 275-280, Aug. 1991.
- MALVESSI, E.; SILVEIRA, M. M. Influence of medium composition and pH on the production of polygalacturonases by *Aspergillus oryzae*. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 47, n. 5, p. 693-702, Sept. 2004.
- MARTINS, A. N.; SILVEIRA, A. P.; SILVA, R. J. N. Avaliação da microbiota presente no café armazenado e recém beneficiado. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 2., 2001, Vitória. **Resumos...** Brasília: CBP&D-Café; EMBRAPA Café, 2001. p. 59.
- MONTEIRO, M. A. M. et al. Influência da torra sobre a aceitação da bebida café. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 57, n. 2, p. 145-150, mar./abr. 2010.
- NOONIM, P. et al. Isolation, identification and toxigenic potential of ochratoxin A producing *Aspergillus* species from coffee beans grown in two regions of Thailand. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 128, n. 2, p. 197-202, Dec. 2008.
- PARDO, E. et al. Occurrence of ochratoxigenic Fungi and Ochratoxin A in green coffee from diferent origins. **Food Science and Technology International**, London, v. 10, n. 1, p. 45-50, Feb. 2004.
- PASIN, L. A. A. P.; ALMEIDA, J. R.; ABREU, M. S. Fungos associados a grãos de cinco cultivares de café (*Coffea arabica* L.). **Acta Botânica Brasileira**, São Paulo, v. 23, n. 4, p. 1129-1132, out. 2009.
- PATERSON, R. R. M.; LIMA, N. How will climate change affect mycotoxins in food? **Food Research International**, Dublin, v. 43, n. 7, p. 1902-1914, Aug. 2010.
- PEREIRA, R. T. G.; PFENNING, L. H.; CASTRO, H. A. Caracterização e dinâmica de colonização de *Cladosporium cladosporioides* (Fresen.) de Vries em frutos do cafeeiro (*Coffea arabica* L.). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 29, n. 6, p. 1112-1116, nov./dez. 2005.
- PERRONE, G. et al. Biodiversity of *Aspergillus* species in some important agricultural products. **Studies in Micology**, Wageningen, v. 59, n. 1, p. 53-66, Dec. 2007.
- PIANZZOLA, M. J.; MOSCATELLI, M.; VERO, S. Characterization of *Penicillium* isolates associated with blue mold on apple in Uruguay. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 88, n. 1, p. 23-28, Jan. 2004.
- PITT, J. I. **A laboratory guide to common *Penicillium* species**. 3<sup>rd</sup> ed. Melbourne: North Ryde, 2000. 197 p.
- PITT, J. I.; HOCKING, A. D. **Fungi and food spoilage**. 2<sup>nd</sup> ed. Cambridge: Chapman & Hall, 1997. 593 p.
- SAMSON, R. A. et al. Diagnostic tools to identify black aspergilli. **Studies in Mycology**, Wageningen, v. 59, n. 1, p. 129-145, Oct. 2007.
- \_\_\_\_\_. **Introduction to food-and airborne fungi**. 6<sup>th</sup> ed. Utrecht: Centraalbureau Voor Schimmelcultures, 2000. 387 p.
- SAMSON, R. A.; HONG, S. B.; FRISVAD, J. V. Old and new concepts of species differentiation in *Aspergillus*. **Medical Mycology**, Oxford, v. 44, n. 8, p. 133-148, Sept. 2006.
- SILVA, C. F.; BATISTA, L. B.; SCHWAN, R. F. Incidence and distribution of filamentous fungi during fermentation, drying and storage of coffee (*Coffea arabica* L.) beans. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 39, n. 3, p. 521-526, July/Sept. 2008.
- Coffe Science**, Lavras, v. 8, n. 1, p. 69-77, jan./mar. 2013

- SILVA, R. A. et al. Inquérito sobre o consumo de alimentos possíveis de contaminação por micotoxinas na ingesta alimentar de escolares da cidade de Lavras, MG. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 2, p. 439-447, mar./abr. 2007.
- SOCCOL, C. R.; VANDENBERGHE, L. P. S. Overview of applied solid-state fermentation in Brazil. **Biochemical Engineering Journal**, Oxford, v. 13, n. 2/3, p. 205-218, Mar. 2003.
- STAMFORD, T. L. M.; ARAÚJO, J. M.; STAMFORD, N. P. Atividade enzimática de microrganismos isolados do jacatupé (*Pachyrhizus erosus* L. Urban). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 18, n. 4, p. 382-385, out./dez. 1998.
- TANIWAKI, M. H. et al. The source of ochratoxin A in Brazilian coffee and its formation in relation to processing methods. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 82, n. 2, p. 173-179, Apr. 2003.
- VARAVALLO, M. A. et al. Development of a transformation system for *Penicillium brevicompactum* based on the *Fusarium oxysporum* nitrate reductase gene. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 36, n. 2, p. 184-189, Apr./June 2005.
- VILELA, D. M. et al. Molecular ecology and polyphasic characterization of the microbiota associated with semi-dry processed coffee (*Coffea arabica* L.). **Food Microbiology**, London, v. 27, n. 8, p. 1128-1135, Dec. 2010.