



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS
DEPARTAMENTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

TRANSPORTE DE CAFÉ: INFLUÊNCIA DOS FATORES CLIMÁTICOS (TEMPERATURA E UMIDADE RELATIVA) SOBRE O TEOR DE UMIDADE E PRODUÇÃO DE OCRATOXINA A EM CAFÉ CRU BENEFICIADO

Héctor Abel Palacios Cabrera

Químico-Farmacêutico, Msc. Tecnologia de Alimentos

Orientadora

Prof^a Dr^a Hilary Castle de Menezes

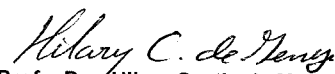
Co-orientadora

Dr^a Marta Hiromi Taniwaki

PARECER

Este exemplar corresponde
redação final da tese defendida
Héctor Abel Palacios Cabrera
aprovada pela Comissão Julgadora
em 20 de junho de 2005.

Campinas, 20 de junho de 2005


Prof^a. Dr^a. Hilary Castle de Menezes
Presidente da Banca

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de
Campinas para obtenção do Título de Doutor em Tecnologia de Alimentos

Campinas, SP

2005

UNIDADE	BC
Nº CHAMADA	T UNICAMP
	P171t
V	EX
TOMBO BC/	65220
PROC.	10-D-00036-05
C	☐
D	☒
PREÇO	11,00
DATA	11/08/05
Nº CPD	

-Publ. id 360894

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA F.E.A. – UNICAMP

P171t Palácios Cabrera, Héctor Abel
Transporte de café: influência dos fatores climáticos
(temperatura e umidade relativa) sobre o teor de umidade e
produção de ocratoxina A em café cru beneficiado / Héctor Abel
Palácios Cabrera. – Campinas, SP: [s.n.], 2005.

Orientador: Hilary de Castle de Menezes
Co-orientador: Marta Hiromi Taniwaki
Tese (Doutorado) – Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Engenharia de Alimentos.

1. Café. 2. Transporte. 3. Transporte marítimo. 4.
Umidade. 5. Ocratoxina. I. Hilary Castle Menezes. II.
Marta Hiromi Taniwaki. III. Universidade Estadual de
Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos. IV. Título.

Título em inglês: Coffee transportation: influence of climatic factors (temperature and relative humidity) on moisture content and ochratoxin A production on raw coffee beans.

Palavras-chave em inglês (Keywords): Coffee, Transport, Transport maritime, Moisture, Ochratoxin

Titulação: Doutor em Tecnologia de Alimentos

Banca examinadora: Hilary Castle de Menezes

Mauro Faber de Freitas Leitão

Myrna Sabino

José Guilherme Cortez

Aldir Alves Teixeira

Homero Fonseca

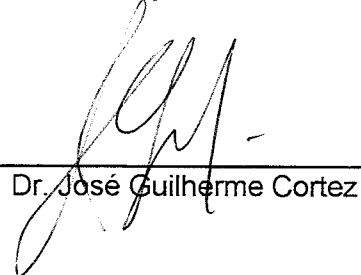
Edir Nepomuceno da Silva

BANCA EXAMINADORA


Prof. Dra. Hilary Castle de Menezes


Dr. Mauro Faber de Freitas Leitão


Dra. Myrna Sabino


Dr. José Guilherme Cortez


Dr. Aldir Alves Teixeira

Prof. Dr. Homero Fonseca (Suplente)

Prof. Dr. Edir Nepomuceno da Silva (Suplente)

DEDICATÓRIA

Em especial a Deus, a minha esposa Alexandra e a minha filha Laurinha, aos meus pais (Héctor e Laura) por serem minhas bases divinas e humanas nesta vida. Ao meu irmão Ricardo e família (Alicia, Danielito e Gabriel) por suas preces e carinho. Aos amigos do Brasil e do Equador.

A Marta pelo seu exemplo de profissionalismo e luta.

A minha prezada professora Hilary.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela vida e saúde, pelo seu amor e misericórdia para comigo.

A minha esposa Alexandra e a minha filhinha Laurinha por fazer a vida ter mais sentido. Aos meus pais Héctor e Laura por acreditarem em mim e me darem palavras de apoio, ao meu irmão Ricardo e sua família porque sempre torcem de longe com carinho.

A Marta pela sua co-orientação, profissionalismo, luta e confiança no trabalho de equipe. A Hilary pela ajuda oportuna em todos os momentos da minha formação profissional. A Beatriz (Bia) pelo seu apoio e amizade constante. A Claudia Martins, Carolina Vicentini, Karina e Daniel Bonadia pela força neste projeto.

A Federico Canepa da empresa Porto de Santos-Brasil, Nelson Carvalhaes (Escritório Carvalhaes), Tadeu Leme (Armazéns Leme), Aldir Teixeira e Anna Belcci (Illy Café), Domenico Santi (Grimaldi Group Brazil), ao capitão do Navio Republica do Brasile e todos os seus 35 tripulantes.

Aos pesquisadores Alfredo Vitali, Flavio Schmidt e Katumi pela sua amizade e valiosa colaboração neste trabalho. A Flavio Toledo Piza do Cetea pelo apoio coragem de ser meu companheiro de jornada na Itália (Valeu Flávio). Ao pesquisador Assis do Cetea pelo apoio ao projeto.

Aos meu colegas e estagiários do Laboratório de microbiologia sem exceção. A Neliane, Neusely, Valeria e Fernanda pelos apoios objetivos durante a minha corrida. A Rosana pela sua generosidade. A Dionir pelo seu carinho. A Luciara e Adelaide pela sua alegria. A Margarete pela sua prestatividade e bondade.

Aos colaboradores e amigos Araujo (picanha com alho) e Carlinhos.

Ao corpo docente da Universidade de Engenharia de Alimentos (Unicamp) pelo conhecimento compartilhado e a Fapesp pelo apoio financeiro deste pesquisa.

A todos os que sem querer esqueci e fazem parte de alguma forma desta jornada concluída.

Aos meus amigos simbolizados por Isaías e Carlos Arruda que são felizes com meus triunfos e sentem minhas derrotas. Ao Cito que nos deixou sem falar Adeus mais que sempre nos doou um sorriso e um abraço.

ÍNDICE

RESUMO	xvi
SUMMARY	xvii
INTRODUÇÃO GERAL.....	1
REVISÃO DA LITERATURA.....	3
1. Cultura e Produção Agrícola	3
1.1 Produção e Exportação Mundial do Café cru beneficiado	4
2. Fatores que afetam a qualidade do café no transporte e armazenamento de café cru	5
3. Fungos no café	7
3.1 Fungos produtores de ocratoxina A.....	7
4. Ocorrência de OTA em café.....	8
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	8
 CAPÍTULO I	
OTIMIZAÇÃO DA METODOLOGIA DE INOCULAÇÃO DE ESPOROS DE <i>ASPERGILLUS OCHRACEUS</i> EM GRÃOS DE CAFÉ CRU	13
1. INTRODUÇÃO.....	13
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	13
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	15
4. CONCLUSÃO	18
 CAPÍTULO II	
INFLUÊNCIA DA ALTERNÂNCIA DE TEMPERATURA SOBRE A PRODUÇÃO DE OCRATOXINA A POR <i>ASPERGILLUS OCHRACEUS</i>.....	19
1. INTRODUÇÃO.....	19
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	20
2.1 Seleção das cepas e preparação da suspensão de esporos de <i>A. ochraceus</i>	20
2.2 Inoculação de esporos de <i>A. ochraceus</i> no café.....	20
2.3 Determinação de umidade e atividade de água em café cru beneficiado.	20
2.4 Preparação das soluções saturadas de sais dos dessecadores para atingir a umidade relativa de equilíbrio (URE)	21
2.5 Montagem do ensaio de isotermas à temperaturas alternadas de 25 e 14°C, e temperaturas constantes de 25°C em três umidades relativas de equilíbrio (80, 87 e 95%)	21
2.6 Extração de ocratoxina A nos grãos de café cru	21
2.7 Condições do equipamento (CLAE)	22
2.7.1 Validação do método para detecção de ocratoxina A em café cru.....	22
2.7.2 Quantificação da Ocratoxina A no café	23
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	23

3.1 Produção de ocratoxina A por <i>Aspergillus ochraceus</i> em temperaturas alternadas e em diferentes Umidades Relativas de Equilíbrio e tempo de incubação após o equilíbrio	25
4. CONCLUSÕES.....	27
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS	27

CAPÍTULO III

PRODUÇÃO DE OCRATOXINA POR <i>ASPERGILLUS CARBONARIUS</i> EM GRÃOS DE CAFÉ CRU, UTILIZANDO DIFERENTES VALORES DE ATIVIDADE DE ÁGUA A 25°C.....	29
1. INTRODUÇÃO.....	29
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	29
2.1 Seleção das cepas de <i>A. carbonarius</i> produtoras de ocratoxina A.....	29
2.2 Esterilização dos grãos de café.....	30
2.3 Preparação da suspensão de esporos	30
2.4 Inoculação dos esporos de <i>A. carbonarius</i> no café.....	30
2.5 Determinação de umidade e atividade de água do café.....	30
2.6 Preparação das soluções	30
2.7 Montagem do equipamento.....	31
2.8 Extração da ocratoxina nos grãos de café cru	31
2.9 Condições cromatográficas	31
2.10 Quantificação e Validação do método para determinação de ocratoxina A no café por CLAE	32
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	33
3.1 Isoterma de adsorção do café	33
3.2 Produção de ocratoxina A por <i>A. carbonarius</i> a 25°C, em diferentes valores de atividade de água e tempos de incubação.....	34
4. CONCLUSÕES.....	36
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	36

CAPÍTULO IV

CONSOLIDAÇÃO DE ISOTERMAS DE CAFÉ CRU.....	39
RESUMO.....	39
1. INTRODUÇÃO.....	39
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	40
2.1 MATERIAL.....	40
2.2 MÉTODOS	40
3. MODELOS MATEMÁTICOS	41
3.1 EQUAÇÃO DE KUHN (KUHN, 1967)	41
3.2 EQUAÇÃO DE OSWIN (OSWIN, 1946)	42
3.3 EQUAÇÃO DE SMITH (SMITH, 1947)	42
3.4 EQUAÇÃO DE BET (BRUNAUER <i>et al.</i> , 1938)	42

3.5 EQUAÇÃO DE GAB (GUGGENHEIM, ANDERSON & BOER, 1966)	43
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
5. ANÁLISE ESTATÍSTICA	47
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	48

CAPÍTULO V

MONITORAMENTO DURANTE O ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE DO CAFÉ CRU

BENEFICIADO	53
1. INTRODUÇÃO	53
2. OBJETIVOS	53
3. JUSTIFICATIVAS	54
4. MATERIAL E MÉTODOS	55
4.1 CONTEINER REAL (CR)	56
4.2 CONTEINERES PROTÓTIPOS (CP)	56
5. PARÂMETROS INTRINSECOS MONITORADOS NO CAFÉ	57
5.1 Avaliação quantitativa da incidência de <i>A.ochraceus</i> na superfície do café beneficiado	57
5.2 Avaliação quantitativa da incidência de <i>A.ochraceus</i> na porção interna do café beneficiado.	57
5.3 Porcentagem de umidade do café	57
6. PARÂMETROS EXTRÍNSECOS MONITORADOS	58
6.1 Temperatura	58
6.2 Umidade relativa	58
6.3 Outros parâmetros	58
7. ANÁLISES REALIZADAS NO LABORATÓRIO	59
7.1 Determinação da atividade de água do café	59
7.2 Análise quantitativa de ocratoxina por CLAE	59
8. AMOSTRAGEM	59
8.1 Amostragem dos sacos colocados nos containeres reais	59
8.2 Amostragem das sacas colocadas nos containeres protótipos	60
9. ETAPAS DO PERCURSO DO CAFÉ MONITORADO	60
9.1 Reensacagem e Armazenamento (Leme Armazéns) 4 dias	60
9.2 Transporte Rodoviário	61
9.3 Estufagem em Santos (S. Magalhães) - 1 dia	61
9.4 Armazenamento do café em containeres antes do embarque (Santos - Terminal Tecondi) 12 dias	62
9.5 Embarque (Porto de Santos)	63
9.6 Transporte marítimo - 14 dias	63
9.7 Desembarque dos Containeres	64
9.8 Armazenamento no Porto de Livorno e Transporte Ferroviário - (9 dias)	65
9.9 Desova dos Containeres - (Trieste)	65

10 RESULTADOS E DISCUSSÃO	66
10.1 ANÁLISE DE OCRATOXINA EM CAFÉ	72
10.1.2 Validação do método para detecção de ocratoxina A em café cru.....	72
10.1.3 Quantificação da Ocratoxina A no café	72
ANEXOS	75
11. CONCLUSÕES.....	77
12. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	77
 CAPITULO VI	
ENSAIOS DE PREVENÇÃO DE CONDENSAÇÃO EM CONTEINERES PROTÓTIPOS	97
1. INTRODUÇÃO.....	97
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	97
2.1 Acondicionamento dos Containeres Protótipos.....	98
2.2 Condições do Ensaio	98
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	99
4. CONCLUSÕES.....	101
 CONCLUSÕES GERAIS.....	111
 CONSIDERAÇÕES FINAIS	113

ÍNDICE DE TABELAS

REVISÃO DA LITERATURA

TABELA 1. Café cru beneficiado - Safra 2004/2005 - Produção e Produtividade.	3
TABELA 2. Produção mundial de café - Principais Países (MAPA, 2004).	4
TABELA 3. Exportação Mundial - Principais Países.	5

CAPÍTULO I

TABELA 1. Contagem de Unidades Formadoras de Colônias (UFC/mL)*, utilizando-se 2 diferentes veículos de contaminação com diferentes granulometrias (300 e 850 μm), e contagem da suspensão pelo método direto.	16
TABELA 2. Porcentagem dos grãos contaminados com diferentes veículos em diferentes granulometrias. Comparação da homogeneização dos grãos contaminados com o método direto.	16
TABELA 3. Valores de atividade de água (Aa) dos grãos de café antes e após a inoculação da suspensão de esporos com veículos (solo e café moído) e do método direto.	17

CAPÍTULO II

TABELA 1. Valores de umidade e atividade de água (Aa), medida no tempo de equilíbrio, submetidos a alternância de temperatura de 14°C por 12 horas e 25°C por 12 horas.	24
TABELA 2. Produção de ocratoxina A ($\mu\text{g/kg}$) no café cru, em diferentes valores de atividade de água, à temperaturas alternadas de 14-25°C em diferentes tempos de incubação após o equilíbrio.	25
TABELA 3. Produção de ocratoxina A ($\mu\text{g/kg}$) por <i>A. ochraceus</i> em café cru, à temperatura constante de 25°C, em diferentes valores de atividade de água à 0 e 21 dias após o equilíbrio.	26

CAPÍTULO III

TABELA 1. Valores de umidade em base seca e atividade de água do café medidos no equilíbrio.	33
TABELA 2. Produção de ocratoxina A ($\mu\text{g/kg}$), produzida por <i>A. carbonarius</i> em grãos de café cru, na atividade de água 0,80; 0,87; 0,95 e 1,00 e nos tempos de equilíbrio (tempo zero), e após 7 e 21 dias, em condições de temperatura constante (25°C).	35

CAPÍTULO IV

TABELA 1. Isotermas analisadas neste estudo de consolidação de isotermas de café cru beneficiado.	41
TABELA 2. Faixa de atividade de água (Aa) e coeficiente de correlação (R^2) das diferentes isotermas e seus respectivos modelos matemáticos.	44

TABELA 3. Parâmetros dos modelos matemáticos calculados das isotermas de adsorção do café cru beneficiado.....	45
TABELA 4. Dados de umidade em base seca obtidos com ajuste de regressão linear.....	47

CAPÍTULO V

TABELA 1. Porcentagem da microbiota fúngica em café cru.	66
TABELA 2. Condições iniciais e finais de Aa e Umidade do café monitorado em containeres reais.	67
TABELA 3. Monitoramento de Umidade e atividade de água inicial e final nos containeres protótipos.....	68
TABELA 4. Concentração de Ocratoxina A em café transportado em containeres reais µg/Kg (ppb).....	73
TABELA 5. Concentração de Ocratoxina A em café transportado em containeres protótipos µg/kg (ppb).	74

CAPÍTULO VI

TABELA 1. Ganho de Umidade do café com diferentes acondicionamentos dentro de containeres protótipos.....	100
--	-----

ÍNDICE DE FIGURAS

CAPÍTULO II

- FIGURA 1.** Curva padrão (1) e (2) de ocratoxina, utilizadas para análise quantitativa de OTA nos grãos de café..... 23
- FIGURA 2.** Isoterma de Adsorção do café submetido a alternância de temperatura 14-25°C em intervalos de 12 horas cada temperatura. 24

CAPÍTULO III

- FIGURA 1.** Curva padrão da ocratoxina utilizada para análise quantitativa de OTA nos grãos de café. 32
- FIGURA 2.** Isoterma de adsorção do café inoculado com *A. carbonarius* a 25°C. 34

CAPÍTULO IV

- FIGURA 1.** Isoterma consolidada gerada segundo o modelo de Oswin com os dados de umidade em base seca corrigidos segundo o método da ISO..... 46
- FIGURA 2.** Isoterma consolidada gerada segundo o modelo de Oswin com os dados de umidade em base seca originais (Não corrigidos pelo método da ISO)..... 46
- FIGURA 3.** Isoterma Consolidada com o modelo de Oswin com 95% graus de confiabilidade..... 51
- FIGURA 4.** Isoterma Consolidada com o modelo de Oswin com 99,99% graus de confiabilidade. 51

CAPÍTULO V

- FIGURA 1.** Container real junto ao container protótipo no convés do navio. 57
- FIGURA 2.** Atividade de reensacagem em Leme. 61
- FIGURA 3.** Sacas de café pequenas e grandes reensacadas. 61
- FIGURA 4.** Caminhão tipo carrete transportador de café..... 61
- FIGURA 5.** Café sendo estufado..... 62
- FIGURA 6.** Carga de café sendo forrada com papel Kraft. 62
- FIGURA 7.** Terminal Tecondi em Santos. 62
- FIGURA 8.** Embarque do container real. 63
- FIGURA 9.** Embarque do container protótipo. 63
- FIGURA 10.** Embarque do container no porão. 63
- FIGURA 11.** Caminhão saindo do navio..... 63
- FIGURA 12.** Monitoramento no convés..... 64
- FIGURA 13.** Monitoramento no primeiro andar. 64
- FIGURA 14.** Monitoramento no porão..... 64
- FIGURA 15.** Rede ferroviária em Itália..... 65
- FIGURA 16.** Desova dos containeres..... 66

FIGURA 17. Condensação externa.....	69
FIGURA 18. Condensação interna.....	69
FIGURA 19. Grãos de café com defeitos.....	70
FIGURA 20. Valores de umidade relativa (%) do ambiente, monitorados durante o percurso marítimo.....	71
FIGURA 21. Valores de temperatura (°C) do ambiente, monitorados durante o percurso marítimo.....	71
FIGURA 22. Curva padrão da ocratoxina A.....	72
FIGURA 23. Descrição das principais etapas do percurso. Figura descritiva.....	79
FIGURA 24. Temperatura da região inferior e externa do container localizado no convés do navio.....	79
FIGURA 25. Temperatura da região superior e externa do container localizado no convés do navio.....	80
FIGURA 26. Temperatura externa e do espaço livre do container localizado no convés do navio.....	80
FIGURA 27. Temperatura da região inferior e externa do container localizado no primeiro andar do navio.....	80
FIGURA 28. Temperatura da região superior e externa do container localizado no primeiro andar do navio.....	81
FIGURA 29. Temperatura externa e do espaço livre do container localizado no primeiro andar do navio.....	81
FIGURA 30. Temperatura da região inferior e externa do container localizado no porão do navio.....	81
FIGURA 31. Temperatura da região superior e externa do container localizado no porão do navio.....	82
FIGURA 32. Temperatura externa e do espaço livre do container localizado no porão do navio.....	82
FIGURA 33. Umidade relativa da região inferior e externa do container localizado no convés do navio.....	82
FIGURA 34. Umidade relativa da região superior e externa do container localizado no convés do navio.....	83
FIGURA 35. Umidade relativa do espaço livre e externa do container localizado no convés do navio.....	83
FIGURA 36. Umi. relativa da região inferior e externa do container localizado no primeiro andar do navio.....	83
FIGURA 37. Umi. relativa da região superior e externa do container localizado no primeiro andar do navio.....	84
FIGURA 38. Umi. relativa do espaço livre e externa do container localizado no primeiro andar do navio.....	84
FIGURA 39. Umidade relativa da região inferior e externa do container localizado no porão do navio.....	84
FIGURA 40. Umidade relativa da região superior e externa do container localizado no porão do navio.....	85
FIGURA 41. Umidade relativa do espaço livre e externa do container localizado no porão do navio.....	85
FIGURA 42. Temp (°C) e UR(%) do espaço livre do container localizado no convés do navio.....	85
FIGURA 43. Temp (°C) e UR(%) do espaço livre do container localizado no primeiro andar do navio.....	86

FIGURA 44. Temp (°C) e UR(%) do espaço livre do container localizado no porão do navio.....	86
FIGURA 45. UR (%) da carga próxima ao espaço livre no container localizado no convés do navio.....	86
FIGURA 46. UR (%) da carga próxima ao espaço livre no container localizado no primeiro andar do navio.....	87
FIGURA 47. UR (%) da carga próxima ao espaço livre no container localizado no porão do navio.	87
FIGURA 48. Cinética da temperatura na região superior dos containeres localizados no porão (Deck 1), primeiro andar (Deck 3) e convés (Deck 7) do navio.	88
FIGURA 49. Cinética da temperatura na região superior dos containeres localizados no porão (Deck 1), primeiro andar (Deck 3) e convés (Deck 7) do navio.	88
FIGURA 50. Cinética da Umidade relativa na região inferior dos containeres localizados no porão (Deck 1), primeiro andar (Deck 3) e convés (Deck 7) do navio.	89
FIGURA 51. Cinética da Umidade relativa na região superior dos containeres localizados no porão (Deck 1), primeiro andar (Deck 3) e convés (Deck 7) do navio.	89
FIGURA 52. Temperatura da região superior e inferior de containeres reais e protótipos. (Convés).....	90
FIGURA 53. Temperatura da região superior e inferior de containeres reais e protótipos. (1 andar).....	90
FIGURA 54. Temperatura da região superior e inferior de containeres reais e protótipos. (Porão).....	91
FIGURA 55. UR (%) da região superior e inferior de containeres reais e protótipos. (Convés).....	91
FIGURA 56. UR (%) da região superior e inferior de containeres reais e protótipos (Primeiro andar).....	92
FIGURA 57. UR (%) da região superior e inferior de containeres reais e protótipos. (Porão).....	92
FIGURA 58. Cinética de Umidade relativa e temperatura no espaço livre do <u>container protótipo</u> localizado no convés (Deck 7).....	93
FIGURA 59. Cinética de Umidade relativa e temperatura no espaço livre do <u>container real</u> localizado no convés (Deck 7).....	93
FIGURAS 60 e 61. Cinética de Temperatura do Deck 1 e do Deck3.	94
FIGURA 62. Cinética de Temperatura do Container localizado no Deck7.....	95

CAPÍTULO VI

FIGURA 1. Container Protótipo. Regiões Monitoradas.....	99
FIGURA 2. Container Protótipo controle embrulhado com papel Kraft.....	99
FIGURA 3. Temperatura das regiões internas do Container Controle. Etapa 1.....	103
FIGURA 4. Temperatura das regiões internas do container Controle. Etapa 2.....	103
FIGURA 5. Temperatura das regiões internas do container Tyvec. Etapa 1.....	104
FIGURA 6. Temperatura das regiões internas do container Tyvec. Etapa 2.....	104
FIGURA 7. Temperatura das regiões internas do container Isopor. Etapa 1.....	105
FIGURA 8. Temperatura das regiões internas do container Isopor. Etapa 2.....	105
FIGURA 9. Umidade relativa das regiões internas do container Controle. Etapa 1.....	106
FIGURA 10. Umidade relativa das regiões internas do container Controle. Etapa 2.....	106
FIGURA 11. Umidade relativa das regiões internas do container Tyvec. Etapa 1.....	107

FIGURA 12. Umidade relativa das regiões internas do container Tyvec. Etapa 2	107
FIGURA 13. Umidade relativa das regiões internas do container Isopor. Etapa 1	108
FIGURA 14. Umidade relativa das regiões internas do container Isopor. Etapa 2.....	108
FIGURA 15. Container Controle.....	109
FIGURA 16. Container Controle.....	109
FIGURA 17. Container Controle.....	109
FIGURA 18. Container Tyvec.	109
FIGURA 19. Container Tyvec. Condensação.	109
FIGURA 20. Container Isopor.	109

RESUMO

Os objetivos do presente trabalho foram: 1) Estudar a influência das condições ambientais durante o transporte para o desenvolvimento de *Aspergillus ochraceus* e produção de ocratoxina no café. 2) Levantar dados das condições reais de transporte e validar containeres protótipos, e 3) Propor medidas preventivas para evitar o aumento da umidade do café dentro dos containeres.

Seis containeres (três comerciais e três protótipos) foram monitorados durante o transporte do Brasil até a Itália. Os containeres foram colocados em três diferentes posições (convés, abaixo do convés e porão) no navio. Cada protótipo foi colocado ao lado do container convencional. Dados de temperatura, umidade relativa, condensação e mudanças no conteúdo de umidade dos grãos foram monitorados. O container de café localizado abaixo do convés foi o menos afetado pela variação em relação ao conteúdo de umidade (0,7%). Os cafés dos containeres localizados no porão sofreu a maior variação no conteúdo de umidade (3%). Este container apresentou sinais visíveis de condensação. O café transportado no convés teve uma variação da umidade intermediária (2%) e não apresentou uma condensação visível. A variação no conteúdo de umidade dos containeres protótipos foi similar ao convencional. Houve um aumento na produção de ocratoxina A nos cafés que apresentaram aumento no conteúdo de umidade.

O ensaio sobre simulação do transporte estudou a prevenção da condensação dos containeres. O ensaio feito com os containeres protótipos testou duas alternativas: uma utilizando isolamento do container com isopor, tentando criar um ambiente isotérmico, e a outra utilizando uma embalagem (tyvec) que tem barreira à água no estado líquido (não vapor). Ambas alternativas foram comparadas a uma situação rotineira de transporte. Este estudo mostrou que o uso do tyvec seria uma alternativa melhor que o uso de papel kraft ou o isopor, como barreira protetora contra a umidade formada nos containeres durante o transporte.

SUMMARY

The objectives of the present work were: 1) To study the influence of climatic conditions during transportation, for the development of *A. ochraceus* and ochratoxin production in coffee. 2) To obtain data under real coffee transport conditions and validate prototypes containers and 3) Propose prevention measures to avoid an increase in coffee moisture content inside the containers.

Six containers (three commercial ones and three prototypes) were monitored during a shipment from Brazil to Italy. The containers were stowed in three different places (hold, below deck and deck) on the ship. Each prototype was located next to a conventional container. Temperatures, relative humidity, condensation and changes in moisture content, were monitored. The coffee container located below deck was less affected by variations (0.7%) in relation to the moisture content. Coffee located in the hold showed the highest variation in moisture content (3%). This container showed visible condensation. Coffee transported on the deck had an intermediary moisture variation (2%) and there was no visible condensation. The coffee moisture content in the prototype containers varied in a similar way to that in the commercial ones. There was an increase in ochratoxin A production with an increase in coffee moisture content.

The transport simulation trial studied alternatives to prevent container condensation. Two packaging alternatives were tested in prototype containers: one using polystyrene to give an isothermic environment, and another using tyvec package film which provides a water barrier. Both alternatives were compared in a routine transport situation. This study showed that the tyvec film would be a better alternative than kraft paper or polystyrene as a barrier against the humidity formed inside the containers during transportation.

INTRODUÇÃO GERAL

Com o avanço da tecnologia em todas as áreas, a agroindústria também se aderiu a esta tendência. O controle de qualidade do produto é monitorado desde antes da sua produção no campo, até o consumidor. Sendo o Brasil, um país agro-industrial por excelência e o primeiro exportador de café do mundo, cabe ao governo, iniciativa privada e pesquisadores, otimizar todas as etapas de produção do café e monitorar todas as atividades e processos que tenham relação com o produto. Uma barreira fito-sanitária atual à exportação do café vem sendo a presença de ocratoxina A. Embora não possua um limite oficial para café cru, existe a recomendação da Comunidade Européia (2002) que o limite máximo não deve exceder 5µg/kg (ppb). Em consequência disso, nestes últimos anos vêm se pesquisando muito sobre a incidência de ocratoxina A (OTA) em café brasileiro. A ocratoxina A é uma toxina, nefrotóxica, carcinogênica e teratogênica produzida pelos fungos *Penicillium verrucosum*, *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus niger* e *Aspergillus carbonarius*. As espécies de *A. ochraceus*, *A. carbonarius* e *A. niger* toxigênicas, bem como a ocratoxina A foram encontradas em várias amostras de cafés crus do Brasil (TANIWAKI *et al.*, 2003; URBANO *et al.*, 2001; BATISTA *et al.*, 2003). Os fungos presentes na microbiota do grão de café podem representar um risco na produção de ocratoxina A, em qualquer etapa após a colheita, quando condições ótimas de temperatura (20-30°C) e umidade relativa acima de 80% estiverem presentes.

Aspergillus ochraceus no café cru beneficiado tem sido encontrado nas tulhas de armazenamento. Problemas originados por fungos durante o transporte marítimo não são novos, no entanto poucos trabalhos foram realizados nesta área. O risco do aumento da umidade na carga dentro dos containeres durante o percurso de regiões de clima tropical a regiões frias é real. A condensação na superfície das paredes internas do container pode ocorrer especialmente em containeres sem ventilação (sweat container). Como consequência, pode ocorrer a coalescência e precipitação do condensado sobre a carga. Além disso as diferenças nos gradientes de temperatura dentro da carga originam a migração da umidade das regiões mais quentes para as regiões mais frias, a umidade relativa da atmosfera do espaço livre é controlado pelo teor de umidade da carga PIXTON (1982). O transporte de café do Brasil para a Europa ocorre geralmente nos meses de novembro a janeiro. No Brasil estamos em pleno verão brasileiro, contudo na Europa ocorre o inverno. Este fato leva a uma situação de risco para a carga não só do ponto de

vista do desenvolvimento fúngico e produção de micotoxinas, como também da perda da qualidade sensorial dos cafés. Poucos trabalhos têm se preocupado em monitor a carga durante o percurso marítimo. Na literatura os trabalhos de SHARP *et al.* (1982), e SAUER (1988), reportaram o risco da contaminação por fungos durante percurso marítimo. LEE (1999) mencionou algumas situações reais de percurso marítimo e as consequências na qualidade morfológica e sensorial dos grãos.

Até o momento vários trabalhos foram realizados no Brasil e no mundo levantando a ocorrência de fungos produtores de ocratoxina A e a toxina no café em vários estádios de produção desde o pé de café até a estocagem. Dados sobre o controle durante o transporte desde a ensacagem até a desova no armazém industrial eram inexistentes, justificando assim a realização do presente trabalho. Nestas condições o objetivo principal do presente trabalho foi:

Quantificar a cinética de umidade relativa e temperatura dentro dos containeres reais e protótipos em condições de transporte marítimo e avaliar a influência desta etapa na produção de ocratoxina A produzida pelo fungo *Aspergillus ochraceus* (Capítulo IV).

Como complemento deste objetivo outros estudos foram realizados com os seguintes objetivos:

- Desenvolver uma metodologia de inoculação de fungos para verificar a produção de ocratoxina A nos grãos de café cru, em diferentes condições de umidade relativa de equilíbrio e temperatura (Capítulo I).
- Verificar a produção de ocratoxina A nos grãos de café cru, por *Aspergillus ochraceus* em diferentes condições de umidade relativa de equilíbrio e temperatura (Capítulo II).
- Verificar a produção de ocratoxina A nos grãos de café cru, por *Aspergillus carbonarius* em diferentes condições de umidade relativa de equilíbrio à temperatura de 25°C (Capítulo III).
- Consolidar as isotermas de adsorção do café cru beneficiado (Capítulo V).

Como uma alternativa preventiva do re-umedecimento dos grãos de café durante o transporte o objetivo da etapa seguinte foi:

- Simular o transporte marítimo em condições piloto, para prevenir o re-umedecimento dos grãos de café devido a condensação (Capítulo VI).

REVISÃO DA LITERATURA

1. Cultura e Produção Agrícola

O café pertence a família das Rubiáceas, gênero *Coffea* L, que inclui mais de 500 gêneros e cerca de 800 espécies. Acredita-se que sua origem seja na Etiópia que hoje é o décimo produtor mundial (ILLY & VIANI, 1996). Das espécies cultivadas no mundo as principais são: *Coffea canephora* v. Conillon (robusta) e *Coffea arábica*. Até 1997, 85 a 90 % da produção de café do Brasil foi de arábica enquanto 10 a 15% de robusta (CARVALHO *et al.*, 1997). Na atualidade a produção de arábica diminuiu para 74,4%, e a de robusta passou para 25,60% (MAPA, 2004), conforme mostra a Tabela 1.

TABELA 1. Café cru beneficiado - Safra 2004/2005 - Produção e Produtividade.

Estados	Produção (mil sacas de 60 Kg beneficiadas)			Produtividade (sacas/ha)
	Arábica	Robusta	Total	
Minas Gerais	18.630	30	18.660	18,57
Espírito Santo	1.950	4,450	6.400	12,60
São Paulo	5.071	-	5.071	24,77
Paraná	2.500	-	2.500	20,05
Bahia	1.870	390	2.260	22,65
Rondônia	-	1.996	1.996	11,09
Mato Grosso	60	315	375	10,19
Pará	-	320	320	17,30
Rio de Janeiro	220	12	232	21,11
Outros	160	290	450	20,00
BRASIL	30.461	7.803	38.264	17,31

Agosto de 2004 / Convênio: MAPA - S.P.C / CONAB

1.1 Produção e Exportação Mundial do Café cru beneficiado

O Brasil continua sendo o líder mundial da produção e exportação de café cru beneficiado, e como tal tem a responsabilidade de se manter na vanguarda das pesquisas relacionadas à constante garantia de qualidade (Tabelas 2 e 3).

TABELA 2. Produção mundial de café - Principais Países (MAPA, 2004).

Países	2003/2004		2002/2003		2001/2002		2000/2001	
	Produção (mil sacas de 60kg)	Particip. (%)	Produção (mil sacas de 60kg)	Particip. (%)	Produção (mil sacas de 60kg)	Partic ip. (%)	Produção (mil sacas de 60kg)	Particip. (%)
Brasil (*)	28.820	28,44	48,480	40,09	31.300	28,62	31.100	27,68
Colômbia	11.750	11,60	11,889	9,83	11.999	10,97	10.532	9,37
Vietnã	11.250	11,10	11,555	9,56	13.133	12,01	14.775	13,15
Indonésia	6.012	5,93	6,785	5,61	6.833	6,25	6.947	6,21
Índia	4.508	4,45	4,565	3,78	4.970	4,54	4.526	4,03
México	4.550	4,49	4,000	3,31	4.200	3,84	4.815	4,29
Etiópia	4.333	4,28	3,693	3,05	3.756	3,43	2.768	2,46
Guatemala	3.000	2,96	4,070	3,37	3.669	3,35	4.940	4,40
Peru	2.525	2,49	2,900	2,40	2.749	2,51	2.596	2,31
Costa do Marfim	2.325	2,29	2,483	2,05	3.492	3,19	4.846	4,31
Outros países	22.251	21,96	20,505	16,96	23.265	21,27	24.491	21,80
TOTAL	101.324	100,0	120.925	100,0	109.366	100,0	112.363	100,0

Fonte: OIC / (*) MAPA, 2004.

TABELA 3. Exportação Mundial - Principais Países.

Países	2003/2004		2002/2003		2001/2002		2000/2001	
	Produção (mil sacas de 60kg)	Particip. (%)	Produção (mil sacas de 60kg)	Particip. (%)	Produção (mil sacas de 60kg)	Particip. (%)	Produção (mil sacas de 60kg)	Particip. (%)
Brasil (*)	25.555	30,07	28.296	32,18	23.273	25,82	18.083	20,28
Colômbia	10.244	12,05	10.273	11,68	9.944	11,03	9.175	10,29
Vietnã	11.641	13,70	11.771	13,39	13.946	15,47	11.619	13,03
Indonésia	4.301	5,06	4.286	4,87	5.243	5,82	5.355	6,01
Índia	3.623	4,26	3.516	4,00	3.740	4,15	4.447	4,99
México	2.595	3,05	2.645	3,01	3.333	3,70	5.304	5,95
Etiópia	2.229	2,62	2.055	2,34	1.376	1,53	1.982	2,22
Guatemala	3.821	4,50	3.491	3,97	4.110	4,56	4.852	5,44
Peru	2.412	2,84	2.789	3,17	2.663	2,95	2.361	2,65
Costa do Marfim	2.627	3,09	2.901	3,30	4.174	4,63	6.110	6,85
Outros países	15.933	18,75	15.895	18,08	18.331	20,34	19.881	22,30
TOTAL	84.981	100,00	87.918	100,00	90.133	100,00	89.169	100,00

Fonte: OIC / (*) MDIC e SECEX (2004)

Atualizado em 11/10/04.

2. Fatores que afetam a qualidade do café no transporte e armazenamento de café cru

O transporte de grãos é um fator importante na cadeia produtiva. Este deve proporcionar um conjunto de serviços, que possam garantir a chegada do produto ao seu destino sem alterações, na qualidade extrínseca (grão embolorado, úmido, descolorido), e intrínseca (odor estranho, produção de toxinas por fungos). Os fatores capazes de favorecer ou limitar o crescimento de fungos durante o armazenamento e transporte são: teor de umidade, temperatura, atmosfera favorável, condição de sanidade dos grãos e presença de insetos e ácaros. Durante o armazenamento e transporte do café ocorre a respiração aeróbia, sendo necessários o controle da umidade e temperatura para evitar altas taxas de respiração (ILLY & VIANI, 1996, ATHIE *et al.*, 1998). No entanto, a quantidade de água produzida pela atividade metabólica é inexpressiva sendo necessário

um incremento de 150°C de temperatura para aumentar 1% no teor de umidade da carga (PIXTON, 1982).

Observações sistemáticas de carregamentos de grãos (milho) sugerem que o excesso de umidade foi o fator responsável pelo crescimento dos fungos. Estes, por sua vez podem produzir toxinas em 2 ou 3 dias (SAUER, 1988). Problemas concernentes à qualidade do transporte de grãos nos mercados internacionais não são novos. BOERNER (1919 citado por SAUER, 1988), observou que o fato do grão ser seco em condições adequadas, não assegurou a integridade do mesmo, e que fatores durante o transporte como acondicionamento da carga no porão, estação do ano e as distâncias das rotas, influenciaram na qualidade da carga.

Durante o transporte o café transpira e essa umidade pode condensar em função das condições de acondicionamentos e do ambiente externo. Isto é uma grande preocupação aos grandes exportadores de café cru, pois necessitam de container e embalagens mais adequadas para reduzir os riscos da perda de qualidade por excesso de umidade (GROB, 1991; International Trade Centre (ITC); 1992, PFEIFF, 1998). Estudos realizados em laboratório relatam que, a água absorvida pelos grãos localizada na superfície migra rapidamente para o centro, e com isto há um aumento uniforme da umidade (FRANK, 1999). Isto também ocorre com as mudanças de temperatura. No calor a transpiração dos grãos é maior. Ao esfriar esse vapor se condensa havendo um aumento de umidade.

Atualmente, o transporte do café na rota interna é 100% rodoviário. As empresas têm frota própria ou utilizam o serviço de terceiros. Quanto ao café tipo exportação o transporte é feito em navios. O maior porto cafeeiro de Brasil e do mundo é o porto de Santos que garante ao Brasil o privilegio de exportar em um único mês, volumes de cafés que os países concorrentes exportam em um ano. Santos foi pioneiro mundial da “conteneurização” e “granelização” das exportações do café. Hoje Santos dispõe de 10 terminais que podem estufar até 500 containeres a granel por dia, equivalente a mais de 170.000 sacas de café. Os embarques realizados em sacaria solta (sacas de juta) em porão é muito raro hoje em dia e tende a desaparecer.

No futuro próximo a maioria dos embarques marítimos deverá ser realizada em container. Os embarques a granel tendem a crescer. Hoje estima-se que estes embarques representem de 30 a 35% do total. A containerização é um grande avanço na

área de logística pois facilita a manipulação e protege a carga. Na movimentação de café, no ano de 1997 foram utilizados cerca de 43 mil contêineres. O uso de ferrovias e hidrovias farão uma redução do transporte interno em trechos longos, e já foram privatizadas 6 malhas de ferrovias. Em relação às hidrovias, o uso desse tipo de transporte principalmente do Porto Velho, Rondônia pelo Rio Amazonas depende do crescimento da produção e da competitividade da exportação de café robusta do Brasil. Com a continuação da privatização e da melhoria dos portos, o transporte de produtos tende a se otimizar cada vez mais (SETTE , 1998)

3. Fungos no café

Os fungos mais freqüentes em grãos são espécies de *Aspergillus* e *Penicillium*. Estes fungos têm sido denominados de fungos xerofílicos, pela capacidade de se desenvolver em grãos com baixos teores de umidade, ao redor de 13-18% (70-85% de Umidade relativa). Os fungos podem descolorar os grãos, alterar o teor de ácidos graxos livres, aquecer a massa de grãos e produzir micotoxinas. A produção de micotoxinas é de suma importância neste estudo uma vez que elas apresentam uma alta toxicidade e poder carcinogênico em animais e homens.

3.1 Fungos produtores de ocratoxina A

Dentre as espécies de *Aspergillus*, a principal espécie conhecida como produtora de ocratoxina, é *Aspergillus ochraceus*. Porém outras espécies, raramente associadas com alimentos, também podem produzir a toxina, tais como *A. sulphureus*, *A. sclerotiorum*, *A. meleus* (MOSS, 1996). *A. ochraceus* já foi chamado de *A. alutaceus* por SAMSON & GAMS (1985), contudo mais recentemente, houve um acordo de que o nome mais apropriado para esta espécie é *A. ochraceus* (PITT & SAMSON, 1993). Outras espécies de *Aspergillus* relatadas, recentemente, como produtoras de OTA incluem: *A. niger* e *A. carbonarius* (HEENAN *et al.*, 1998).

Das espécies de *Penicillium*, o *P. verrucosum* é o maior produtor de OTA em climas temperados. Em climas quentes e tropicais as espécies de *Aspergillus* tem sido mais relacionados com a produção de OTA.

A. ochraceus, *A. carbonarius* e *A. niger* foram encontrados em amostras de cafés em várias partes do mundo (URBANO *et al.*, 2001; JOOSTEN *et al.*, 2001; TANIWAKI *et al.*, 2003; SUÁREZ-QUIROZ *et al.*, 2004).

4. Ocorrência de OTA em café

Além de cereais e derivados, a ocratoxina A tem sido encontrada em café de diferentes origens e com relativa frequência. A ocorrência natural de OTA em café cru foi reportada em concentrações entre 0,1 a 360 µg/Kg (LEVI *et al.*, 1974; LEVI 1980; NORTON *et al.*, 1982., CANTAFORA *et al.*, 1983; TSUBOUCHI *et al.*, 1988; MICCO *et al.*, 1989.; STUDER-ROHR *et al.*, 1995; VIANI, 1996; STEGEN *et al.*, 1997; BUCHELI *et al.*, 1998; BLANC *et al.*, 1998; JORGENSEN, 1998; TRUCKSESS *et al.*, 1999; ROMANI *et al.*, 2000).

As ocorrências de OTA reportadas em café brasileiro também foram relatadas (LEVI *et al.*, 1974; STUDER-ROHR *et al.*, 1995, FURLANI, 1998, PRADO *et al.*, 2000, URBANO *et al.*, 2001, TANIWAKI *et al.*, 2003). As concentrações encontradas nas diversas amostras analisadas variaram entre 0,2 - 147 µg/Kg.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, E., População fúngica associada ao café (*caffea arabica* L.) beneficiado e às fases de pré e pós colheita: relação com a bebida e local de cultivo. Lavras: UFLA, 1996, 49p.

ATHIE, I., CASTRO, M.F.P., GOMES, R.A.R, VALENTINI, S.R.T. **Conservação de grãos**. Campinas: Fundação Cargill, 1998, 236p.

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

BLANC, J.; PITTET, A.; MUÑOZ-BOX, R.; VIANI, R. Behavior of Ochratoxin A during green coffee roasting and soluble coffee manufacture. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 46, n.2, p. 673-675, 1998.

- BUCHELI, P.; MEYER, I.; VUATAZ, A.; VIANI, R. Industrial storage of green robusta coffee under tropical conditions and its impact on raw material quality and ochratoxin A content. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 46, n.11, p. 4507-4511, 1998.
- BURDASPAL, P.A.; LEGARDA, T.M. Ochratoxina A em Muestras de Café Comercializado em España. *Alimentaria*, Madrid, v.35, n. 296, p.31-35, 1998.
- CANTAFORA, A.; GROSSI, M.; MIRAGLIA, M.; BENELLI, L. Determination of Ochratoxin A in coffee beans using reversed high performance liquid chromatography. *La Rivista Della Societa Italiana Di Scienza Dell' Alimentazione*, Roma, v.12, n. 2, p.103-108, 1983.
- CARVALHO, V.D.; CHAGAS, S.JR.; SOUZA, S.M.C. Fatores que afetam a qualidade do café. **Informe agropecuário**, Belo Horizonte, v.18, n.187, p. 5-20, 1997.
- CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION. Codex Committee on Food Additives and Contaminants. FAO/WHO, Rome, 1998.
- FRANK, M. Mycotoxin Prevention and Decontamination. Third Joint FAO/WHO/UNEP INTERNATIONAL, Tunis, Tunisia, 3-6 March. 1999.
- FURLANI, R.P. Ocratóxina A em café brasileiro. 1998. 61p. Dissertação (Mestre em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1998.
- GROB, K.; LANFRANCHI, M.; EGLI, J.; ARTHO, A. Determination of food contamination by mineral oil from yute sacks using coupled LC-GC. **Journal Of Association Of Official Analytical Chemists**, Arlington, v. 74, n.3, p. 506-512, 1991.
- HEENAN, C.N.; SHAW, K.I.; PITT, J.I. Ochratoxin A production by *Aspergillus carbonarius* and *A. niger* isolates and detection using coconut cream agar. **Journal of Food Mycology**, USA, v.1, n.2, p. 67-72, 1998.
- ILLY, A. and VIANI, R. The Raw Bean In: ILLY, A., VIANI, R. Espresso Coffe: The Chemistry of Quality. Sao Diego: Academic Press Inc, chap 4, p. 39-86, 1996.
- INTERNATIONAL TRADE CENTRE (ITC) UNCTAD/GATT. Coffee and Exporter's Guide. Geneva, 1992, 364p.

JOOSTEN, H.M.L.J.; GOETZ, J.; PITTET, A.; SCHELLENBERG, M. & BUCHELI, P. Production of ochratoxin A by *Aspergillus carbonarius* on coffee cherries. **International Journal of Food Microbiology**, v.65, p. 39-44. 2001.

JORGENSEN, K. Survey of pork, poultry, coffees, beer and pulses for ochratoxin A. **Food Additives and Contaminants**, London, v.15, p.550-554, 1998.

LEVI, C. Mycotoxins in coffee. **Journal of Association of Official Analytical Chemists**, Arlington, v.63, p.1282-1285, 1980.

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

MICCO, C.; GROSSI, M.; MIRAGLIA, M and BRERA, C. A study of the contamination by ochratoxin A of green and roasted coffee beans. **Food Additives and Contaminants**, London, v.6, p.333-339, 1989.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (MAPA) -
<http://www.abic.com.br/estat_exportacoes2.html#principais_paises. Acesso em: 17 de Novembro de 2004.

MOSS, M.O., Mode of formation of ochratoxin A. **Food Additives and Contaminants**, London, v.13 (supplement), p. 5-9, 1996.

NORTON, D.M., TOULE, G.M., COOPER, S.J., PARTINGTON, S.R., CHAPMAN, W.B. The surveillance of mycotoxin in human food. In: PEPIN, G.A., PETTERSON, D.S.P., GRAY, D.E., **Proceedings**, fourth meeting on mycotoxin in animal disease. Northumberland : p. 77-81, 1982.

OFFICIAL JOURNAL OF THE EUROPEAN COMMUNITIES, L.106, p.3-5, Bruxelas, 2002.

PFEIFF, L.H., Question of the Month. **Tea & Coffe Trade Journal**, USA, v.170, n.2, p.84, 1998.

PITT, J.I., SAMSON R.A. Species names in current use in tjhe thricotomaceae (Fungi, Eurotiales) In : GREUTER, W. Names in current use in the families Trichotomaceae, cladomiceae, Pineceae and Lemnaceae, Konigstein, Koeltz Scientific Book. Regnum Vegetabile, v. 28, p.13-57, 1993.

- PRADO, G.; OLIVEIRA, M.S.; ABRANTES, F.M.; SANTOS, L.G.; VELOSO, T.; BARROSO, R.E.S. Incidência de ocratoxina A em café torrado e moído e em café solúvel consumido na cidade de Belo Horizonte, MG. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 20, p. 192-196, 2000.
- ROMANI, S.; SACCHETTI, G.; LOPEZ, C.CH.; PINNAVAIA, G.G.; ROSA, M.D. Screening of the Occurrence of Ochratoxin A in Green Coffee Beans of Different Origin and Types. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.48, p.3616-3619, 2000.
- SAMSON R.A, GAMS, W. Typification of the species of *Aspergillus* and associated teleomorphs In: SAMSON R.A, PITT, J.I., *Advances in Penicilium and Aspergillus Systematics*, New York, Plenum Press, p. 31-54, 1985.
- SAUER, D.B. Effects of Fungal Deterioration on Grain: Nutritional Value, Toxicity, Germination. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.7, p. 267-275, 1988.
- SETTE, J.D. O Café na Virada do Milênio. 12º Seminário Internacional de café: Guarujá-SP, 18, 1998.
- STEGEN, G.V.D.; JORISSEN, U.; PITTET, A.; SACCON, M.; STEINER, W.; VINCENZI, M.; WINKLER, M.; ZAPP, J.; SCHLATTER, C. Screening of european coffee final products for occurrence of ochratoxin A (OTA). **Food Additives and Contaminants**, London, v.14, p. 211-216, 1997.
- STUDER-ROHR, I., DIETRICH, D.R., SCHLATTER, J., SCHLATTER, C., The occurrence of ochratoxin A in coffee. **Food Chemical and Toxicology**, Oxford, v.33, p. 341-355, 1995.
- SUÁREZ-QUEIROZ, M.; GONZÁLEZ-RIOS, O.; BAREL, M.; GUYOT, B.; SCHORR-GALINDO, S. & GUIRAUD, J.P. Study of ochratoxin A producing strains in coffee processing. **International Journal Food Science and Technology**, Oxford, v. 39, p. 501-507, 2004
- TANIWAKI, M.H.; PITT, J.I.; TEIXEIRA, A.A.; IAMANAKA, B.T. The source of ochratoxin A in Brazilian coffee and its formation in relation to processing methods. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 82, p. 173-179, 2003.

TRUCKSESS M.W.; GILER, J.; YOUNG, K.; WHITE, K.D.; PAGE, S.W. Determination and survey of ochratoxin A in wheat, barley and coffee. **Journal of Association of Official Analytical Chemists**, Arlington, v.82, p. 85-89, 1999.

TSUBOUCHI, H.; TERADA, H.; YAMAMOTO, K.; HISADA, K.; SAKABE, Y. Ochratoxin A found in commercial roast coffee. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.36, p. 540-542, 1988.

URBANO, G.R.; TANIWAKI, M.H.; LEITÃO, M.F.; VICENTINI, M.C. Occurrence of ochratoxin A producing fungi in raw Brazilian coffee. **Journal of Food Protection**, London, v.64, p.1226-1230, 2001.

VERARDI, G; ROSNER, H., Some Reflections on Establishing a Community Legislation on Mycotoxin. **Natural Toxins**, New York, v.3, p. 337-340, 1995.

VIANI, R., Fate of Ochratoxin A (OTA) During Processing Coffee. **Food Additives and Contaminants**, London, n°13 (Suppl.), p. 29-33, 1996.

CAPÍTULO I

OTIMIZAÇÃO DA METODOLOGIA DE INOCULAÇÃO DE ESPOROS DE *ASPERGILLUS OCHRACEUS* EM GRÃOS DE CAFÉ CRU

1. INTRODUÇÃO

Tradicionalmente a inoculação da suspensão de esporos de fungos para fins de estudos sobre o crescimento fúngico ou produção de algum metabólito em laboratório é feita de forma direta, que consiste em adicionar um volume da concentração líquida do esporo diretamente ao substrato. A objeção que se faz deste procedimento é a variação de atividade de água do grão após a inoculação, o que possivelmente altera o crescimento do fungo e a produção da toxina. Devido a isto, o presente estudo testou material particulado (solo, café moído e amido) como veículo da suspensão de esporos de fungos antes de ser inoculada no café visando não alterar a atividade de água do grão. O estudo visa coadjuvar uma simulação de monitoramento de ganho de umidade no café como ocorreria durante o armazenamento na tulha e durante o transporte marítimo dentro dos containeres, já que em condições reais, nas fases iniciais destas duas etapas, o café está praticamente seco com umidade menor que 12% e atividade de água menor que 0,68. Comparou-se a eficiência entre a inoculação através de veículos e a inoculação direta, a partir do estudo de três parâmetros: a homogeneização do esporo no veículo, a homogeneização do esporo no grão e a atividade de água do grão, antes e após a inoculação.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material - O café utilizado para este estudo foi o arábica, doado pelo Instituto Agrônomo de Campinas. Os grãos de café foram esterilizados, através de irradiação, com uma dose de 10 KGY e fonte de Cobalto 60, no Centro de Energia Nuclear da Agricultura (CENA), USP - Piracicaba.

2.2 Material utilizado como veículo - Foram testados três veículos para a inoculação do fungo *Aspergillus ochraceus*:

- Amido em pó grau laboratorial. (< 100µm).

- Café moído (850 e 300 μm) - O café foi moído e posteriormente peneirado nas peneiras respectivas.
- Solo vermelho - Colhido na fazenda do Instituto Agronômico de Campinas e posteriormente peneirado até obter granulometrias de 300 e 850 μm .

Os veículos foram esterilizados a 121°C durante 30 minutos e foram realizados testes de diluição em meios de cultura para comprovar a esterilidade.

2.3 Preparação da suspensão de esporos - Cepas produtoras de ocratoxina A isoladas de grãos de café provenientes do Paraná foram inoculadas em placas de malt extract agar (MEA) e incubadas a 25°C por 5 dias. Com a ajuda de uma alça, as colônias foram colocadas em um tubo de ensaio com 40 mL de tampão fosfato + 0,1% de tween 80 e pérolas de vidro. Fez-se uma diluição de 10^7 UFC / mL de esporos.

2.4 Metodologia - Os ensaios foram realizados tendo como controle a metodologia do método direto (vide 2.4.1). As metodologias alternativas que consistem no uso do veículo (vide item 2.2) foram comparadas ao método direto em relação a:

- A atividade de água no grão antes e após a inoculação com esporos
- A homogeneidade dos esporos no veículo
- A homogeneidade dos esporos no grão.

2.4.1 Método direto - Foram adicionados 1 mL da suspensão 10^7 UFC / mL de esporos em 25 g de café cru e agitados durante 15 minutos em agitador modelo Wagner.

2.4.2 Método alternativo utilizando solo (300 e 850 μm) - Foi adicionado 1 mL da suspensão 10^7 UFC / mL de esporos em 10 g de veículo (solo com granulometria de 300 ou 850 μm), agitados por 10-15 minutos e logo em seguida, 1 g dessa mistura foi adicionado em 25 g de café cru agitando durante 15 minutos em agitador modelo Wagner.

2.4.3 Método alternativo utilizando café moído (300 e 850 μm) Procedeu-se da mesma forma que no item (2.4.2).

2.4.4 Método alternativo utilizando amido (granulometria < 100 µm) Procedeu-se da mesma forma que nos itens 2.4.2 e 2.4.3.

2.5 Determinação da Atividade de água - Foi utilizado o equipamento Aqualab Cx2 (Decagon-USA) para medir a atividade de água com e sem inóculo. A umidade foi determinada em estufa à vácuo à 70°C durante 24 horas.

2.5.1 Determinação da homogeneidade dos esporos no veículo - Para realizar este teste, adicionou-se 1 mL de suspensão de esporos 10^7 UFC/mL em 10 g do respectivo veículo (solo, café moído, amido) com granulometria de (300, 850 e <100 µm respectivamente). A mistura suspensão-veículo foi dividida em três porções de 3 g cada um, adicionando-se a cada uma destas 27 mL de água peptonada 0.1%. A similaridade das contagens, após a diluição e plaqueamento serviu para determinar homogeneização da suspensão no veículo. Para avaliar no método direto a homogeneização dos esporos no veículo (água peptonada), dividiu-se 1 mL da suspensão em três partes de 0,3 mL e diluiu-se em 2,7 mL de água peptonada 0,1% e plaqueou-se cada parte separadamente.

2.5.2 Determinação da homogeneidade da mistura (suspensão-veículo) no grão de café cru - Um grama da mistura (suspensão - veículo) foi adicionada em 25 g de café cru beneficiado. A nova mistura foi homogeneizada durante 15 minutos em um agitador modelo Wagner. Posteriormente 60 grãos foram plaqueados em 6 placas com o meio de cultura DG18, com 10 grãos cada. As placas foram incubadas durante 5 dias à 25°C.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1, são apresentados os resultados obtidos do teste da homogeneidade da suspensão de esporos de *Aspergillus ochraceus* nos respectivos veículos e a uniformidade foi comparada com o método direto. O amido foi descartado desde o início e não foi testado em nenhum ensaio como veículo, devido à formação de grumos grandes em contato com a suspensão de esporos.

TABELA 1. Contagem de Unidades Formadoras de Colônias (UFC/mL)*, utilizando-se 2 diferentes veículos de contaminação com diferentes granulometrias (300 e 850 μm), e contagem da suspensão pelo método direto.

Repetição	Métodos alternativos veículos (UFC/mL)				
	Café moído		Solo		Método direto
	300 μm	850 μm	300 μm	850 μm	Café + suspensão
1º	9×10^6	4×10^6	$4,5 \times 10^6$	2×10^6	$1,4 \times 10^7$
2º	8×10^6	3×10^6	$4,5 \times 10^6$	$5,5 \times 10^6$	$1,5 \times 10^7$
3º	9×10^6	$1,5 \times 10^6$	7×10^6	$1,5 \times 10^6$	-

* Unidades formadoras de colônias por mililitros

Os resultados apresentam pouca diferença entre as homogeneidades do solo e café de 300 μm quando comparados ao método direto, ressaltando que a diferença de um ciclo logarítmico é lógica, devido pois ao utilizar veículos se dilui 10 vezes a suspensão de esporos (1mL de suspensão em 10 g de veículo). O valor obtido no teste de homogeneização do veículo + inoculo, depois de incorporados aos grãos de café, e o teste do método direto é mostrado na Tabela 2.

TABELA 2. Porcentagem dos grãos contaminados com diferentes veículos em diferentes granulometrias. Comparação da homogeneização dos grãos contaminados com o método direto.

	Porcentagem de Contaminação de grãos de café cru (%)									
	Veículos								Método direto	
	Café moído				Solo				Café cru + inoculo	
	300 μm		850 μm		300 μm		850 μm			
Granulometria do veículo	100	100	50	60	100	100	100	100	100	100
% de grãos contaminados	100	100	50	50	100	100	100	100	100	100
	100	100	30	60	100	100	100	100	100	100
	100	100	30	60	100	100	100	100	100	100

Segundo os valores mostrados na Tabela 2, os veículos café moído e solo de 300 μm contaminaram a mesma porcentagem de grãos que o solo de 850 μm . O veículo café moído de 850 μm contaminou aproximadamente 50% dos grãos. Este último ensaio, foi o único que não teve a mesma eficiência de contaminar os 100% dos grãos que se obteve através do método direto. Na Tabela 3 estão apresentados os valores de atividade de água antes e após a inoculação com os diferentes veículos, assim como a inoculação pelo método direto.

Atividade de água Aa	Café cru sem inóculo	Método direto (Café + inóculo)	Métodos alternativos (café + veículo + inóculo)	
			Solo(300µm)	Café moído (300µm)
Repetições	0,654 x=0,654	0,765 X=0,766	0,669 x=0,67	0,693 x=0,682
	0,654	0,766	0,670	0,671

Cabe ressaltar que a medição da atividade de água dos grãos de café cru foi realizada 24 horas após a adição da suspensão no veículo respectivo, no caso dos métodos alternativos, e diretamente nos grãos de café no caso do método direto. Em relação à atividade de água, aparentemente é positiva a influência do uso de métodos alternativos no estudo de isotermas em grãos em armazenamento assim como os transportados, pois a variação da atividade de água inicial é mínima. A diferença do método direto, não foi só pelo valor, mas também, pelo tempo em que o grão não passou pelas fases gradativas de ganho de umidade, adquirindo um valor de A_w maior em menor tempo que o normal. A influência disto sobre o crescimento do fungo assim como da produção de ocratoxina será tema de estudos posteriores.

4. CONCLUSÃO

As alternativas de inoculação de esporos de *Aspergillus ochraceus* em grãos de café cru tiveram relativo sucesso, especialmente em relação à atividade de água, quando o veículo solo 300 µm modificou quase sem expressão da atividade de água do café ao ser comparado com o método direto de inoculação, onde a atividade de água foi alterada. Em relação à homogeneidade os resultados foram similares, com ligeiras diferenças entre as granulometrias dos veículos. Isto torna viável a substituição do método direto pelos métodos alternativos pelo menos no caso de simular contaminação durante o armazenamento e transporte de grãos.

CAPÍTULO II

INFLUÊNCIA DA ALTERNÂNCIA DE TEMPERATURA SOBRE A PRODUÇÃO DE OCRATOXINA A POR *ASPERGILLUS OCHRACEUS*

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior produtor e exportador de café do mundo, e os desafios na pesquisa agrícola e tecnológica do produto, principalmente na cadeia produtiva que vai desde a semente até a torrefadora são muitos. As exigências dos países importadores de café são muitas, análise de pesticidas, aditivos, exames patológicos entre outros. Ultimamente, a análise de micotoxinas, principalmente a ocratoxina A (OTA) em café está sendo solicitada. Para cada parâmetro, o país importador tem o seu limite máximo de tolerância, e este limite está cada vez mais baixo.

O café que o Brasil exporta geralmente é de qualidade, entretanto existem fatores que muitas vezes estão fora do controle do produtor e exportador. Estes fatores, principalmente climáticos e podem favorecer as mudanças das características ideais do grão e permitir que certos fungos possam crescer, multiplicar e produzir toxinas, como a ocratoxina A. A presença desta toxina tem preocupado os países europeus. O fungo *Aspergillus ochraceus* que é o principal produtor desta toxina, é xerofílico (se desenvolve em atividade de água abaixo de 0,85). A contaminação de ocratoxina A em café tem sido reportado por STEGEN *et al.*, 1997; TRUCKSSES, *et al.*, 1999; KONOKENKO *et al.*, 2000. A ocratoxina A já foi detectada em café brasileiro embora em quantidades baixas e o fungo produtor foi isolado em algumas amostras provenientes dos frutos do solo e grãos armazenados na tulha. (MICCO, *et al.*, 1989; STUDER-ROHR, *et al.*, 1995; FURLANI & SOARES, 1999; URBANO, *et al.*, 2001; TANIWAKI, *et al.*, 2003).

O presente estudo teve por finalidade estudar a influência da alternância da temperatura (14-25°C) e umidades relativas de equilíbrio (URE) à 80, 87 e 95% sobre, o crescimento do fungo *Aspergillus ochraceus* e produção de OTA. Estas temperaturas foram escolhidas através dos dados anuais fornecidos pelos técnicos agrícolas das fazendas do Estado de São Paulo e se constituem os valores médios de temperatura das principais variações que ocorrem, principalmente entre o dia, e a noite, neste Estado.

Este estudo se justifica devido ao fato de que as mudanças bruscas de temperatura podem causar estresse metabólico nos fungos, o que pode desencadear uma maior ou menor produção de toxina. O trabalho também teve por objetivo simular o comportamento dos grãos contaminados com *Aspergillus ochraceus* dentro de um container que suporta mudanças drásticas de temperatura durante o transporte marítimo.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O grão de café utilizado para realizar este estudo foi do tipo arábica, doado pelo Instituto Agrônomo de Campinas. Foi esterilizado por irradiação com uma dose de 10 KGY no Centro de Energia Nuclear de Agricultura (CENA), na USP - Piracicaba

2.1 Seleção das cepas e preparação da suspensão de esporos de *A. ochraceus*

Três cepas foram selecionadas em experimentos anteriores e isoladas de grãos de café provenientes do Paraná. As cepas foram inoculadas em MEA a 25°C por 5 dias. A cultura em crescimento foi adicionada em um tubo de ensaio com 40 mL de tampão fosfato + 0,1% tween 80 e pérolas de vidro. Agitou-se a suspensão em vortex por 1 minuto. A concentração foi de 10^7 UFC/mL de esporos.

2.2 Inoculação de esporos de *A. ochraceus* no café.

Na inoculação adicionou-se 1 mL da suspensão de esporos concentração 10^7 em 10 g de solo esterilizado de granulometria de 300µm. Posteriormente, tomou-se 4 g desta mistura e se adicionou em 100 g de café. O café + inoculo foram homogeneizados em agitador modelo Wagner por 15 minutos. O mesmo se repetiu até contaminar aproximadamente 1,5 kg de café. Detalhes do procedimento de inoculação são descritos por Palacios *et al.* (2001) e apresentados no capítulo I.

2.3 Determinação de umidade e atividade de água em café cru beneficiado.

A umidade foi determinada pelo método de estufa a vácuo à 70°C por 24 h e seus valores corrigidos pelo método de rotina para café cru da ISO referência 1447 (1978), de acordo ao trabalho de PALACIOS & TANIWAKI (2003). A atividade de água (Aa) foi determinada no equipamento AquaLab 3TE (Decagon-USA) à 25°C.

2.4 Preparação das soluções saturadas de sais dos dessecadores para atingir a umidade relativa de equilíbrio (URE).

Foram preparadas soluções saturadas de sulfato de amônio (NH₄)₂SO₄, tartarato de sódio e potássio NaKC₄H₄O₆ e nitrato de chumbo Pb(NO₃)₂ para obter soluções de 80, 87 e 95% de URE respectivamente. As soluções foram deixadas nos dessecadores por 7 dias até atingirem o equilíbrio.

2.5 Montagem do ensaio de isotermas à temperaturas alternadas de 25 e 14°C, e temperaturas constantes de 25°C em três umidades relativas de equilíbrio (80, 87 e 95%).

Potes plásticos com 25 g de café cru beneficiados foram inoculados com uma suspensão de esporos (10⁵ UFC/g) veiculados através do solo. Foram colocados 5 potes em cada dessecador (4 contaminados e um controle sem inóculo). Os dessecadores foram colocados em câmaras de 25°C por 12 h e 14°C por 12 h, alternadamente. As URE testadas de 80, 87 e 95% já haviam sido atingida com as soluções respectivas de sais. O pote sem inóculo foi pesado com intervalos de uma semana para observar o ganho de umidade e determinar o tempo de equilíbrio dos grãos de café com o sal através da mudança do peso dos grãos. O tempo zero foi considerado quando os grãos do café atingiram a URE dos sais respectivos. A produção de ocratoxina A foi quantificada nos tempos 0 (equilíbrio), 7, 14 e 21 dias. Todas as análises foram realizadas em triplicatas.

Visando obter resultados que apresentem o efeito da alternância de temperaturas sobre a produção de ocratoxina foi realizado paralelamente um experimento nas mesmas condições, à temperatura constante de 25°C. A produção de ocratoxina neste ensaio só foi quantificada no tempo 0 e 21 dias.

2.6 Extração de ocratoxina A nos grãos de café cru

O método empregado para a extração de ocratoxina A foi proposto por PITTET *et al.* (1996) utilizando-se a coluna de imunoafinidade desenvolvida por NAKAJIMA *et al.* (1990). Foram retirados os potes dos dessecadores com 25 g de café e triturados em blender com 200 mL de solução de metanol: bicarbonato de sódio 3% (50:50) por 4 minutos. A solução foi filtrada com auxílio de bomba de vácuo. Tomou-se 5mL do filtrado e 100mL de solução tampão fosfato (PBS) foi adicionado. Os 100mL foram eluídos numa coluna de imunoafinidade (Vicom-USA), a qual foi lavada com 10 mL de água destilada

após a eluição. A amostra detida na coluna foi eluída com 4 mL de metanol, sendo filtrada ao mesmo tempo com o auxílio de um manifold. O extrato foi levado à secura sob corrente de nitrogênio. O resíduo foi ressuspensionado em 1 mL de 42% acetonitrila: 58% solução 4mM de acetato de sódio /ácido acético (19:1) que constituiu a solução utilizada como fase móvel.

2.7 Condições do equipamento (CLAE)

O equipamento utilizado foi (CLAE) Shimadzu LC-10VP com detecção de fluorescência/ excitação: 330 nm, emissão 470nm.

Coluna: Spherisorb 5 μ m, 4,6 mm x 250 mm OD5 Hypersil

Pre-coluna: ODS Hypersil 5 μ m, 4,6 mm x 25 mm

Fase móvel: 58% de solução 4 mM de acetato de sódio/ácido acético (19:1) e 42% de acetonitrila).

Fluxo: 1 mL/ min

Pressão máxima: 200 kgf/cm²

Volume injetado: 50 μ L

2.7.1 Validação do método para detecção de ocratoxina A em café cru

Para a quantificação da Ocratoxina A foi utilizada padronização externa de acordo com a curva padrão descrita abaixo na Figura 1. Para os testes de validação foram realizados os ensaios de recuperação e o calculo do limite de detecção e quantificação. Amostras de café (3 repetições) foram fortificadas como ocratoxina utilizando três níveis de contaminação (4,8, 8, e 80 μ g/kg. Os respectivos valores de recuperação foram de 86,5%, 78.0% e 81%. Os limites de detecção e quantificação foram obtidos pela análise de 10 amostras naturalmente contaminadas com baixos níveis de ocratoxina A (< 1 μ g/kg). O limite de detecção de 0,16 μ g/kg, foi obtido pela multiplicação do desvio padrão pelo valor t-student segundo grau de liberdade apropriados para 99% de confiabilidade. O limite de quantificação de 0,58 μ g/kg, foi determinado como 10x o desvio padrão (KEITH *et al.*, 1983, LONG & WINEFORDNER, 1983).

2.7.2 Quantificação da Ocratoxina A no café

Para a quantificação da ocratoxina A foi utilizada padronização externa de acordo com as duas curvas padrões descritas na Figura 1. A curva 1 para amostras mais diluídas e a 2 para amostras mais concentradas.

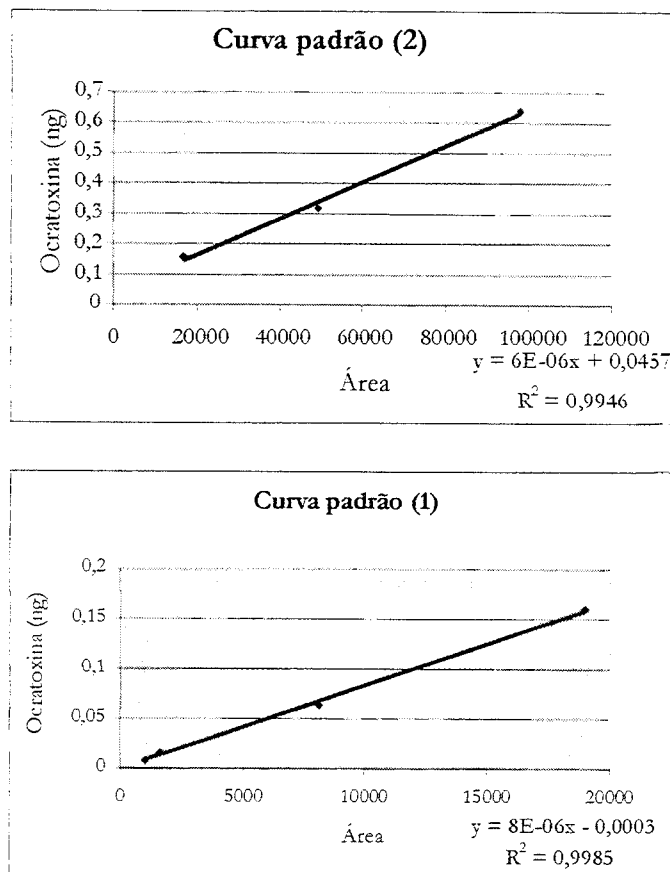


FIGURA 1. Curva padrão (1) e (2) de ocratoxina, utilizadas para análise quantitativa de OTA nos grãos de café.

O resultado final, expresso em ng/g, foi obtido pela divisão da massa de ocratoxina obtida na curva pela massa injetada (0,0312 g)

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1 é apresentado o valor de umidade em base seca e atividade de água dos grãos do café que foram determinados no tempo de equilíbrio (tempo quando os grãos atingiram o equilíbrio do meio saturado ou não houve incremento de massa dos mesmos).

TABELA 1. Valores de umidade e atividade de água (Aa), medida no tempo de equilíbrio, submetidos a alternância de temperatura de 14°C por 12 horas e 25°C por 12 horas.

Atividade de água	Atividade de água medida	Ubs/UBU (Umidade em base seca/Umidade em base úmida)
Aa 0,80	0,791	18,62/15,70
	0,801	19,21/16,11
	0,798	19,01/15,97
Aa 0,87	0,859	26,19/20,75
	0,862	26,26/20,80
	0,860	25,24/20,15
Aa 0.95	0,925	33,04/24,83
	0,915	31,85/24,16

Com estes dados foi construída a curva de isoterma, no entanto é importante esclarecer que a Aa de 0,95 não foi atingida. Isto foi devido à contaminação dos grãos do café antes de terem atingido o equilíbrio.

A relação, umidade em base seca e atividade de água é apresentada na isoterma da Figura 2. Esta figura nos permite conhecer o valor da Atividade de água do grão do café pelos dados da umidade ou vice-versa.

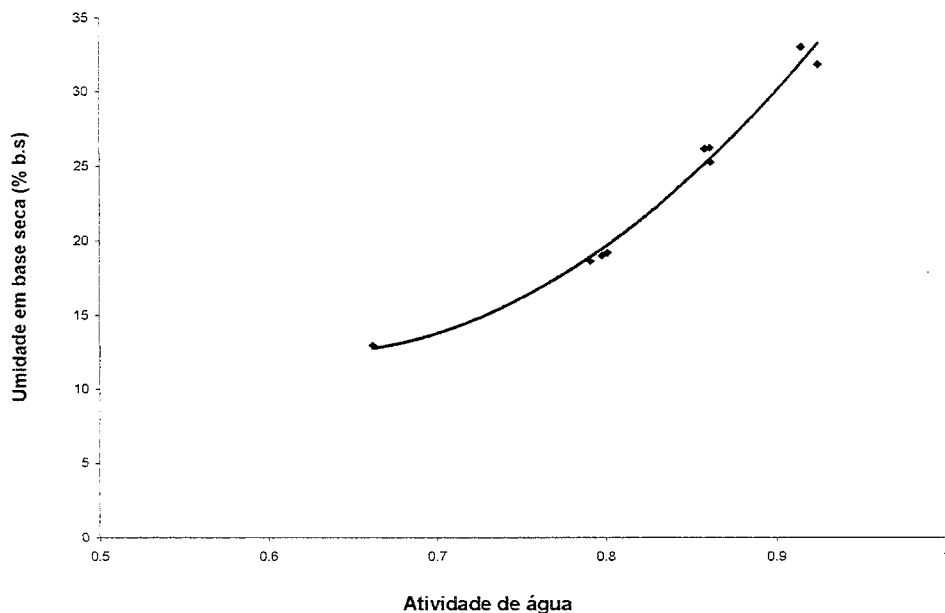


FIGURA 2. Isoterma de Adsorção do café submetido a alternância de temperatura 14-25°C em intervalos de 12 horas cada temperatura.

3.1 Produção de ocratoxina A por *Aspergillus ochraceus* em temperaturas alternadas e em diferentes Umidades Relativas de Equilíbrio e tempo de incubação após o equilíbrio

A produção de ocratoxina A após os grãos terem atingido a URE de 80, 87 e 95%, à temperaturas alternadas de 14-25°C, é apresentada na Tabela 3

TABELA 2. Produção de ocratoxina A ($\mu\text{g/kg}$) no café cru, em diferentes valores de atividade de água, à temperaturas alternadas de 14-25°C em diferentes tempos de incubação após o equilíbrio.

Ocratoxina ($\mu\text{g/kg}$)					
	0 dias	7 dias	14 dias	21 dias	Controle
Aa 0,80	ND*	ND	1,70	0,61	ND
	ND	ND	3,49	0,45	
	ND	ND	0,52	ND	
Média	ND	ND	1,90	0,35	
Aa 0,87	955	1854	1907	4260	ND
	796	1347	1763	2999	
	631	1440	1778	4347	
Média	794	1547	1816	3869	
Aa 0,95	2250	5483	7239	9253	6,71
	2273	7554	8917	9723	
	2399	7343	8443	6037	
Média	2307	6793	8200	8338	

* Não detectado (limite de detecção 0,16($\mu\text{g/kg}$)).

De acordo com estes resultados, é evidente que a Aa é um fator limitante para a produção de ocratoxina A, já que com 0,80 de Aa a produção de ocratoxina foi bem menor que à 0,87 e 0,95. É muito importante ressaltar que quando os valores de equilíbrio foram atingidos, a ocratoxina já havia sido produzida nas atividade de água de 0,87 e 0,95. O valor de ocratoxina encontrado no controle de 0,95 (6,71 ($\mu\text{g/kg}$), não alterou muito o resultado obtido, mas deve ser descontado dos valores encontrados nas amostras. Na Tabela 3 são apresentados os dados de produção de ocratoxina A por *Aspergillus*

ochraceus no café mantido à temperatura constante de 25°C, nas mesmas condições de URE (90, 87, 95%) que o ensaio anterior.

TABELA 3. Produção de ocratoxina A ($\mu\text{g/kg}$) por *A. ochraceus* em café cru, à temperatura constante de 25°C, em diferentes valores de atividade de água à 0 e 21 dias após o equilíbrio.

Atividade de água		Ocratoxina A ($\mu\text{g/kg}$)	
	0 dias	21 dias	Controle
0,80	ND	0,25	ND
	ND	<0,2	
	ND	ND	
Média	ND	0,15	
0,87	154,78	3197	ND
	89,37	2056	
	252,63	2244	
Média	165,6	2499	
0,95	2059	7544	6,58
	1749	6896	
	2239	7095	
Média	2016	7178	

Analisando as Tabelas 2 e 3 é possível observar que houve pouca variação na produção de ocratoxina A pelo efeito da alternância da temperatura, mas que a variação de temperatura se tornou mais importante nas atividades de água menores que 0,95. À 0,87 no tempo de equilíbrio (tempo zero), a produção de ocratoxina com alternância de temperatura foi aproximadamente 80% maior do que às mesmas condições à temperatura constante. À 0,80 as diferenças foram mínimas, e à 0,95 houve uma maior produção de ocratoxina nas temperaturas alternadas. MANTLE & CHOW (2000) também reportaram que *A. ochraceus* pode produzir altas concentrações de ocratoxina em café cru, quando as condições de umidade e temperatura são favoráveis.

Este ensaio mostrou uma tendência que pode se ocorrer durante o transporte marítimo de café, onde as mudanças de temperaturas são bem drásticas.

4. CONCLUSÕES

A produção de ocratoxina nos ensaios de 87 e 95% de URE foram bem altas, tanto nas temperaturas alternadas como na temperatura constante. À URE de 87% nas temperaturas alternadas, observou-se as maiores diferenças na produção de OTA, principalmente no momento em que o café entrou em equilíbrio. À URE de 80% a produção de ocratoxina foi baixa ou estava abaixo do limite de detecção.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS

FURLANI, R.P.Z.; SOARES, L.M.V. Ocratoxina A em café. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v.2, n (1/2), p. 1-6, 1999.

KEITH, L.H.; CRUMMETT, W.; DEEGAN J.; LIBBY, R.A.; TAYLOR, J.K.; WENTLER, G. Principles of environmental analysis. **Analytical Chemistry**, Washington, v.55, p.2210-2218, 1983.

KONONENKO, G.P.; BURKIN, A.A.; ZOTOVA, E.V & SOBOLEVA, N.A. Ochratoxin A: Contamination of grain. **Applied Biochemistry and Microbiology**, Moscou, v.36, p.177-180, 2000.

LONG, G.L.; WINEFORDNER, J.D. Limit of detection. A closer look at the IUPAC definition. **Analytical Chemistry**, Washington, v.55, p. 712A-724A, 1983.

MANTLE, P.G.; & CHOW, A.M. Ochratoxin formation in *Aspergillus ochraceus* with particular reference to spoilage of coffee. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.56, p.105-109, 2000.

MICCO, C.; GROSSI, M.; MIRAGLIA, M.; AND BRERA, C. A study of the contamination by ochratoxin A of green and roasted coffee beans. **Food Additives and Contaminants**, London, v.6, p.333-339, 1989.

NAKAJIMA, M.; TEREWDA, H.; HISADA, K.; TSUBOUCHI, H.; YAMAMOTO, K.; UDA, T.; ITOH, Y.; KAWAMURA, O.; UENO, Y. Determination of ochratoxin A in coffee beans and coffee products by monoclonal antibody affinity chromatography. **Food and Agricultural Immunology**, Chester, v.2, p.189-195, 1990.

NORM INTERNATIONAL ISO 1447. Green coffee determination of moisture content (routines method), 1978.

- PALACIOS-CABRERA, H.A.; TANIWAKI M.H.; MENEZES H.C.; VICENTINI M.C.; IAMANAKA, B.T and TANIWAKI, N.N. Optimisation of the inoculation of *Aspergillus ochraceus* in coffee for isothermal studies simulating storage and marine transport of raw coffee. **Proceedings of the 19th ASIC Coffee Conference (CD room)**. Trieste, Italy: ASIC, 2001.
- PALACIOS-CABRERA, H. A., M.H, TANIWAKI. Determinação do teor de umidade do café cru beneficiado: comparação entre diferentes metodologias. **Revista Brasileira de Armazenamento**, Viçosa, v.6, p.25-29, 2003.
- PITTET, A.; TORNARE, D.; HUGGET, A. & VIANI, R. Liquid chromatographic determination of ochratoxin A in pure and adulterated soluble coffee using na immunoaffinity column cleanup procedure. **Journal Agricultural Food Chemistry, Washington**, v. 44, p.3564-3569, 1996.
- STEGEN, G.V.D.; JORISSEN, U.; PITTET, A.; SACCON, M.; STEINER, W.; VINCENZI, M.; WINKLER, M.; ZAPP, J.; & SCHLATTER, C. Screening of European coffee final products for occurrence of ochratoxin A (OTA). **Food Additives and Contaminants**, London, v.14, p. 211-216, 1997.
- STUDER-ROHR, I.; DIETRICH, D.R.; SCHLATTER, J.; SCHLATTER, C. The occurrence of ochratoxin A in coffee. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, v.33, n.5, p. 341-355, 1995.
- TANIWAKI, M.H.; PITT, J.I.; TEIXEIRA, A.A. & IAMANAKA, B.T. The source of ochratoxin A in Brazilian coffee and its formation in relation to processing methods. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 82, p.173-179, 2003.
- TRUCKSESS, M.W.; GILER, J.; YOUNG, K.; WHITE, K.D. & PAGE, W. Determination and survey of ochratoxin A in wheat, barley, and coffee-1997. **Journal of the Association of Official Analytical Chemist**, Baltimore, v.82, p.85-89, 1999.
- URBANO, G.R.; TANIWAKI, M.H.; LEITÃO, M.F. & VICENTINI, M.C. Occurrence of ochratoxin A producing fungi in raw Brazilian coffee. **Journal of Food Protection**, London, v.64, p.1226-1230, 2001.

CAPÍTULO III

PRODUÇÃO DE OCRATOXINA POR *ASPERGILLUS CARBONARIUS* EM GRÃOS DE CAFÉ CRU, UTILIZANDO DIFERENTES VALORES DE ATIVIDADE DE ÁGUA À 25°C

1. INTRODUÇÃO

O estudo das condições ótimas de crescimento e produção de toxina pelos fungos toxigênicos é de suma importância. O gênero *Aspergillus* tem se destacado por apresentar algumas espécies que são produtoras de micotoxinas, dentre estas as espécies de *A. flavus*, *A. ochraceus*, *A. carbonarius*, e mais recentemente *A. niger*, (GALVANO *et al.*, 2001), devido a frequência destas espécies nos alimentos e ao grau de toxidez.

Até recentemente, *A. carbonarius* havia sido, muitas vezes, confundido com *A. niger*, devido as suas semelhanças na morfologia e coloração da colônia, contudo estas duas espécies têm sido relatadas por vários autores como produtores de ocratoxina A. HEENAN *et al.*, 1998; ABARCA, *et al.*, 2001; BUCHELI, *et al.*, 2000 e JOOSTEN *et al.*, 2001 verificaram a produção de ocratoxina A por *A. carbonarius* em café cereja. Os trabalhos em café beneficiado são poucos ou inexistentes.

Desta forma, o presente trabalho teve por objetivo estudar o efeito da umidade relativa de equilíbrio (80, 87, 95 e 100 %) à temperatura de 25°C, na produção de ocratoxina A por *A. carbonarius* em café cru beneficiado.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Seleção das cepas de *A. carbonarius* produtoras de ocratoxina A

Foram selecionadas 3 cepas de *A. carbonarius*, produtoras de ocratoxina, isoladas de grãos de café do terreiro e tulha, da região de Parapuã (SP)

2.2 Esterilização dos grãos de café

Foram utilizados café arábica cru beneficiado, doado pelo Instituto Agronômico de Campinas - IAC. Para se obter a esterilidade, o café foi irradiado com uma dose de 10KGY fonte de Cobalto 60, no Centro de Energia Nuclear da Agricultura - CENA, da USP em Piracicaba. Fez-se o plaqueamento direto no meio extrato de malte agar (MEA), para testar a esterilidade dos grãos.

2.3 Preparação da suspensão de esporos

Cepas de *A. carbonarius* foram inoculadas em placas de MEA e incubadas à 25°C por 5 dias. As colônias foram retiradas com o auxílio de uma espátula e todo o conteúdo transportado para um tubo de ensaio com 40mL de tampão fosfato + 0,1% tween 80 e pérolas de vidro. Agitou-se o tubo no Vortex por 1min, realizando uma contagem prévia na câmara de Neubauer. Fez-se uma diluição até atingir 10^7 Unidades Formadoras de Colônias (UFC)/mL de esporos.

2.4 Inoculação dos esporos de *A. carbonarius* no café

O solo (granulometria 300 μ m) foi utilizado como veículo para a inoculação dos esporos. A inoculação foi feita segundo o procedimento sugerido por PALACIOS *et al.*, (2001). Adicionou-se 1mL da suspensão de esporos, preparada conforme o item 1.3, em 10 g de solo esterilizado. Em seguida tomou-se 4g desse inoculo e adicionou-se em 100g de café. O café e o inóculo foram homogeneizados em Agitador Modelo Wagner por 15 minutos.

2.5 Determinação de umidade e atividade de água do café

A umidade inicial do grão, com e sem inoculo, foi medida pelo método de estufa à vácuo a 70°C por 24h e os seus valores corrigidos segundo a metodologia da norma ISO 1447 (1978) conforme o estudo de PALACIOS & TANIWAKI (2003) Os valores de atividade de água foram medidos no equipamento Aqualab 3TE (Decagon - USA), à 25°C.

2.6 Preparação das soluções

Para a obtenção dos valores de atividade de água requeridos neste ensaio, foram utilizados dessecadores contendo soluções saturadas dos seguintes sais: sulfato de

amônio $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (Aa 0,80); tartarato de sódio e potássio $\text{NaKC}_4\text{H}_4\text{O}_6$ (Aa 0,87) e nitrato de chumbo $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ (Aa 0,95). Para a atividade de água 1,0 foi utilizada água deionizada. As soluções foram preparadas e deixadas nos dessecadores para atingir o equilíbrio, durante 7 dias a 25°C.

2.7 Montagem do equipamento

Frascos com 25g de café cru foram inoculados com 1 g de solo contendo esporos de *A. carbonarius* (10^5 UFC/g). Em cada dessecador foram colocados 5 frascos com café contaminado, e incubados a temperatura de 25°C. Foram testados 4 valores de atividade de água: 0,80; 0,87; 0,95 e 1,0, conforme descrito no item 2.6. Em cada dessecador foi colocado um frasco com café sem inóculo para medir a umidade e atividade de água. O tempo zero foi considerado quando os grãos de café atingiram o valor da atividade de água dos sais. A produção de ocratoxina foi testada nos tempos 0, 7 e 21 dias. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

2.8 Extração da ocratoxina nos grãos de café cru

O método utilizado para análise de ocratoxina foi o proposto por PITTET *et al.* (1996), utilizando coluna de imunoafinidade. Um frasco com 25g de café inoculado contido nos dessecadores foi retirado e o café foi triturado por quatro minutos em blender com 200mL de solução metanol:bicarbonato de sódio 3% (50:50). O conteúdo foi filtrado com auxílio de uma bomba à vácuo. Tomaram-se 5mL desse filtrado e 100mL de solução tampão fosfato (PBS) foram adicionados. Esses 100mL foram eluídos numa coluna de imunoafinidade (Vicom, USA), lavando-a posteriormente com 10mL de água destilada. A amostra foi eluída com 4mL de metanol, sendo filtrada ao mesmo tempo. Levou-se esse extrato à secagem em corrente de nitrogênio. O resíduo foi ressuspensionado em 1 mL de 42% acetonitrila:58% solução 4mM de acetato de sódio/ácido acético (19:1) que é solução utilizada como fase móvel na cromatografia líquida.

2.9 Condições cromatográficas

O equipamento utilizado foi o cromatógrafo líquido de alta eficiência (CLAE), com detecção de fluorescência (excitação: 330nm; emissão: 470nm), no equipamento Shimadzu LC-10VP. A coluna utilizada foi Spherisorb 5 μm , 4,6mm x 250mm OD₅Hypersil; a pré coluna ODS Hypersil 5 μm , 4,6mm x 25mm e a fase móvel: 58% de solução 4mM de

acetato de sódio/ácido acético (19:1) e 42% de acetonitrila. O fluxo foi de 1mL/min , a pressão máxima 200kgf/cm² e o volume injetado de 50μL.

2.10 Quantificação e Validação do método para determinação de ocratoxina A no café por CLAE

Para a quantificação da Ocratoxina A foi utilizada padronização externa de acordo com a curva padrão descrita abaixo na Figura 1. Para os testes de validação foram realizados os ensaios de recuperação e o calculo do limite de detecção e quantificação. Amostras de café (3 repetições) foram fortificadas como ocratoxina utilizando três níveis de contaminação (4,8, 8, e 80 μg/kg. Os respectivos valores de recuperação foram de 86,5%, 78.0% e 81%. Os limites de detecção e quantificação foram obtidos pela análise de 10 amostras naturalmente contaminadas com baixos níveis de ocratoxina A (< 1μg/kg). O limite de detecção de 0,16μg/kg, foi obtido pela multiplicação do desvio padrão pelo valor t-student segundo grau de liberdade apropriados para 99% de confiabilidade. O limite de quantificação de 0,58μg/kg, foi determinado como 10x o desvio padrão (KEITH *et al.*, 1983, LONG & WINEFORDNER, 1983).

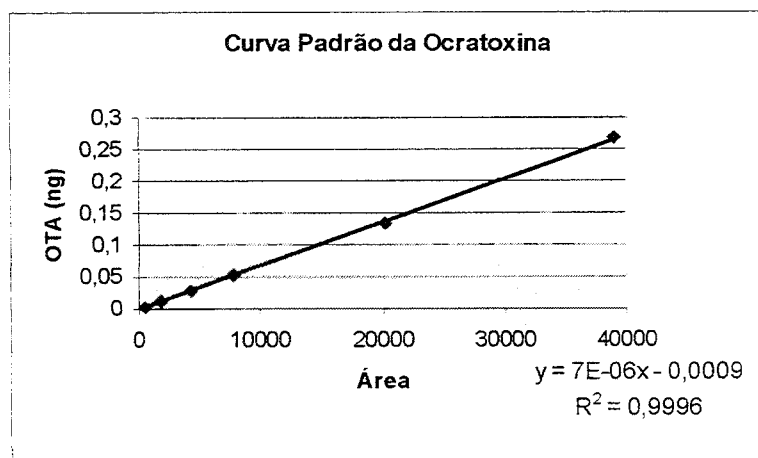


FIGURA 1. Curva padrão da ocratoxina utilizada para análise quantitativa de OTA nos grãos de café.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Isoterma de adsorção do café

O valor da umidade inicial dos grãos de café em base seca foi 14,94%, e atividade de água 0,672. O equilíbrio foi atingido quando os valores de atividade de água coincidiram com a atividade de água do dessecador. Este processo durou cerca de 46 dias para o café com maior valor de atividade de água, e foi indicado também quando não havia mais variação de peso dos frascos. Na Figura 2 é ilustrada a isoterma de adsorção do café. Os valores de umidade em base seca (%) correspondem à atividade de água medida dos grãos de café.

TABELA 1. Valores de umidade em base seca e atividade de água do café medidos no equilíbrio.

Atividade de água medida	Umidade base seca (%)
0,785	20,50
0,779	20,10
0,792	20,50
0,854	25,89
0,857	25,65
0,851	25,87
0,907	32,16
0,910	33,21
0,910	32,04
0,94	36,80
0,934	36,07
0,933	35,51

Com os dados da Tabela 1, foi construída a curva de isoterma de adsorção do café, como é mostrado na Figura 2. Essa relação umidade e atividade de água permite adquirir valores de atividade de água dos grãos, apenas conhecendo-se o seu valor de umidade.

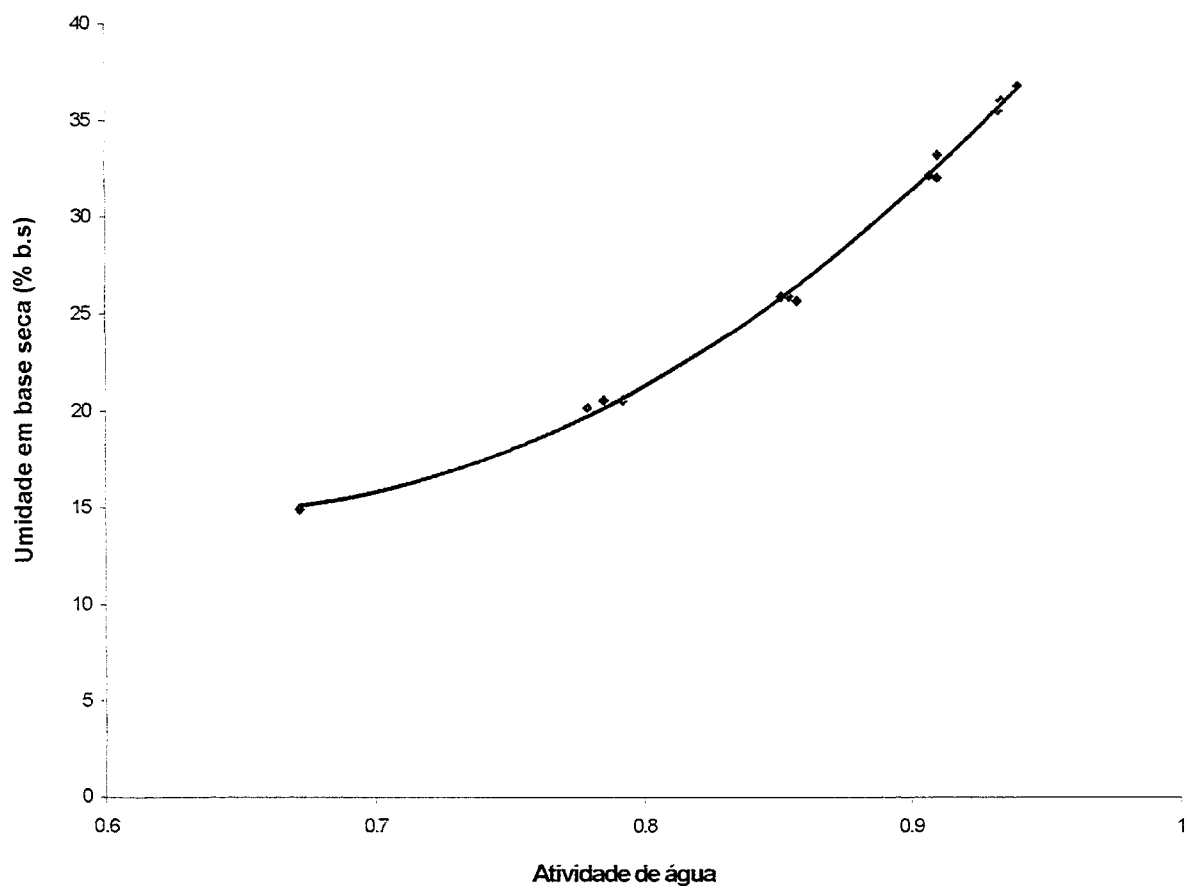


FIGURA 2. Isoterma de adsorção do café inoculado com *A. carbonarius* a 25°C.

3.2 Produção de ocratoxina A por *A. carbonarius* a 25°C, em diferentes valores de atividade de água e tempos de incubação.

Na Tabela 2 encontram-se os valores ($\mu\text{g/kg}$) de produção de ocratoxina A no café cru, inoculado com *A. carbonarius*, e submetido a 4 valores de atividade de água e temperatura de 25°C.

TABELA 2. Produção de ocratoxina A ($\mu\text{g/kg}$), produzida por *A. carbonarius* em grãos de café cru, na atividade de água 0,80; 0,87; 0,95 e 1,00 e nos tempos de equilíbrio (tempo zero), e após 7 e 21 dias, em condições de temperatura constante (25°C).

Tempo	Ocratoxina ($\mu\text{g/kg}$)			
	Aa 0,80	Aa 0,87	Aa 0,95	Aa 1,0
0 dias (equilíbrio)	ND	< 0,16	3,162	6,56
	ND	< 0,16	1,988	8,62
Média	ND ¹	<0,16 ²	2,575	7,59
7 dias	ND	ND	2,098	³
	ND	ND	5,951	-
Média	ND	ND	4,024	-
21 dias	ND	1,178	2,454	11,907
	ND	0,581	2,721	7,334
Média	ND	0,879	2,587	9,620

¹ não detectado pelo método

² abaixo do limite de detecção (0,16 $\mu\text{g/kg}$)

³ amostras descartadas por contaminação

Assim como *A. ochraceus* (Capítulo II), *A. carbonarius* não produziu ocratoxina nos grãos de café com atividade de água à 0,80. Não foi possível realizar a análise do café com 7 dias de inoculação à atividade de água de 1,0, pois os frascos se contaminaram com os fungos do ambiente, antes mesmo dos grãos atingirem o equilíbrio. Para o controle de esterilidade do café foi realizada análise em duplicata dos grãos sem o inoculo. Houve o aumento gradativo da concentração de ocratoxina com o aumento dos valores de atividade de água, em 0, 7 e 21 dias de inoculação. Porém a produção de toxina por *A. carbonarius* em café cru foi baixa em todos os ensaios, inclusive, utilizando o valor de atividade de água 1,0 após 21 dias. Observamos que nas atividades de água de 0,95 e 1,00, o incremento de ocratoxina no intervalos de 0 a 21 dias após o equilíbrio foi de 0,5 e 21% respectivamente, já para a atividade de água de 0,87, o incremento foi de aproximadamente 83%. A produção de ocratoxina A encontrada neste estudo foi menor que à encontrada por BUCHELI *et al.* (2000) em café cereja.

4. CONCLUSÕES

O fungo *A. carbonarius* produziu pouca ocratoxina A em café cru beneficiado na umidade relativa de equilíbrio de 87, 95 e 100% nas condições estudadas. Além disto esta espécie não produziu ocratoxina A à 80% de URE.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

BUCHELI, P.; CHAORAI K.; MEYER, I. & PITTET, R. Development of Ochratoxin A during Robusta (*Coffea canephora*) coffee cherry dryng. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.48, p. 1358-1362, 2000.

GALVANO, F.; PIVA, A.; RITIENE, A. & GALVANO, G. Dietary strategies to counteract the effects of mycotoxins: a review. **Journal of Food Protection**, London, v. 64, p. 120-131, 2001.

HEENAN, C.N.; SHAW, K.J.; PITT, J.I. Ochratoxin A production by *Aspergillus carbonarius* and *A.niger* isolates and detection using coconut cream agar. **Journal of Food Mycology**, Maryland, v. 1 (2), p. 67-72, 1998.

JOOSTEN, H.M.L.J.; GOETZ, J.; PITTET, A.; SCHELLENBERG, M.; BUCHELI, P. Production of ochratoxin A by *Aspergillus carbonarius* on coffee cherries. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 65, p. 39-44, 2001.

NORM INTERNATIONAL ISO 1447. Green coffee - Determination of moisture content (routine method), 1978.

PALACIOS-CABRERA, H.A.; TANIWAKI M.H; MENEZES, H.C.; VICENTINI, M.C.; IAMANAKA, B.T., & TANIWAKI, N.N. Optimisation of the inoculation of *Aspergillus ochraceus* in coffee for isothermal studies simulating storage and Marine Transport of raw coffee. 19 th ASIC Coffee Conference, Trieste, Italy, 14-18 May, 2001.

PALACIOS-CABRERA, H. A.; TANIWAKI M.H. Determinação do teor de umidade do café cru beneficiado: comparação entre diferentes metodologias. **Revista Brasileira de Armazenamento**, Viçosa, v.6, p. 25-29, 2003.

PITTET, A.; TORNARE, D.; HUGGET, A. AND VIANI, R. Liquid chromatographic determination of ochratoxin A in pure and adulterated soluble coffee using an immunoaffinity column cleanup procedure. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 44, p. 3564-3569, 1996.

CAPÍTULO IV

CONSOLIDAÇÃO DE ISOTERMAS DE CAFÉ CRU

RESUMO

O café é um grão sujeito a mudanças de umidade em resposta às diferentes condições de secagem, armazenamento e transporte marítimo que constituem algumas das etapas da cadeia produtiva. O conhecimento da umidade no café, é um parâmetro fundamental que determina não só o preço do produto, mas influi também na qualidade sensorial do mesmo. A elaboração de isotermas de adsorção ou dessorção tem por objetivo estudar a relação de ganho de umidade de um determinado produto em função do tempo e relacionar os parâmetros de atividade de água (A_a) e umidade, sendo que para um valor de A_a existe um valor de umidade. O objetivo deste trabalho foi consolidar as isotermas de adsorção de umidade construídas para café cru, utilizando-se dados de isotermas obtidos durante o transporte marítimo (neste projeto), e os dados obtidos por diferentes autores. Além disto, as isotermas foram avaliadas frente a modelos matemáticos preestabelecidos para o estudo de isotermas (*Gab*, *Bet*, *Oswin*, *Smith's*, *Kuhn*). O trabalho apresenta também o valor dos parâmetros para cada um das equações dos modelos estudados, sugere uma isoterma consolidada e um modelo matemático, que descreve o ganho de umidade do café cru da isoterma consolidada.

1. INTRODUÇÃO

As isotermas de adsorção são de grande importância no estudo de conservação dos alimentos e estabelecem uma relação matemática entre o conteúdo de umidade e a atividade de água de um produto. O parâmetro de umidade é um fator limitante na maioria das reações químicas, físico-químicas que ocorrem em um produto ou matéria prima. A utilidade prática das isotermas é observada nos estudos de viabilidade de embalagens permeáveis, no estabelecimento do teor de umidade mais adequado para se obter produtos com maior vida de prateleira, na previsão da deterioração oxidativa de certos produtos desidratados, e outras aplicações úteis como as etapas de armazenamento, transporte, estocagem e embalagem de produtos. O café cru beneficiado é muito sensível

às mudanças climáticas, e já foram feitos alguns estudos de isotermas por diversos autores tentando descrever a cinética do ganho de umidade do grão. A dificuldade de se estabelecer parâmetros ou limites visando prevenir contaminação microbiológica, sabores desagradáveis na bebida, mudança no aspecto, é devida às diferenças nas metodologias nos estudos realizados, nas matérias primas, nas temperaturas e condições do laboratório. O presente trabalho teve por objetivo compilar diversos estudos com isotermas de adsorção de café e descrever as metodologias, formas de obtenção das isotermas, analisá-las frente a diversos modelos matemáticos com as suas respectivas equações descritas na literatura (*Gab*, *Bet*, *Oswin*, *Smith's*, *Kuhn*), apresentar os valores dos parâmetros para cada uma das equações e finalmente estabelecer uma isoterma consolidada de café cru beneficiado.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 MATERIAL

Dados de isotermas obtidos de café arábica cru beneficiado de diferentes origens.

2.2 MÉTODOS

A obtenção dos valores para a construção das isotermas de adsorção foi levantada e diversos estudos realizados com café cru. Os dados foram obtidos de tabelas, gráficos e de modelos de isotermas de diferentes autores. A Tabela 1 descreve a fonte original dos dados, autores, e faixa original de Atividade de água (Aa) utilizada por cada um.

TABELA 1. Isotermas analisadas neste estudo de consolidação de isotermas de café cru beneficiado.

Autores	Origem dos dados	Faixa de Aa original
1- NETO, R. & D.G QUAST, 1977	Isoterma	0,05 - 0,90
2- NETO, R. & D.G QUAST, 1977	Dados corrigidos com metodologia ISO	0,05 - 0,90
3- WOTTON, 1968-1969.	Tabela	0,20-0,90
4- AYERST, G., 1967	Tabela	0,40 - 0,91
5- GOUGH, M.C., 1975	Isoterma	0,10 - 0,89
6 BUCHELI <i>et al.</i> , 1998	Isoterma	0,33 – 0,85
7- PAULINE M.D & ELCOATE, S., 1967	Tabela	0,35 – 0,90
8- PALACIOS-CABRERA <i>et al.</i> , 2004 (A)	Tabela	0,66 – 0,90
9- PALACIOS-CABRERA <i>et al.</i> , 2004 (B)	Tabela	0,67 – 0,91
10- PALACIOS-CABRERA <i>et al.</i> , 2001 (C) Dados não publicados	Tabela	0,79 – 0,89
11- PALACIOS-CABRERA <i>et al.</i> , 2001	Tabela (Transporte marítimo - Conteineres reais)	0,53 – 0,70
12- PALACIOS-CABRERA <i>et al.</i> , 2001	Tabela (Transporte marítimo - Conteineres Protótipos)	0,57 – 0,63
13- URBANO <i>et. al.</i> (Dados não publicados)	Tabela	0,80-0,95
14- SHARP, 1988.	Isoterma	0,20 – 0,87

3. MODELOS MATEMÁTICOS

As seguintes equações foram estudadas para descrever o comportamento de ganho de umidade do café cru beneficiado: Equação de Kuhn (LABUZA *et al.*, 1972), equação de Oswin (OSWIN, 1946), equação de Smith (SMITH, 1947), equação de Bet (BRUNAUER *et al.*, 1938), equação de Gab (GUGGENHEIM *et al.*, 1966).

3.1 EQUAÇÃO DE KUHN (Kuhn, 1967)

A equação de Kuhn é o enunciado teórico do fenômeno de adsorção, onde a e b são constantes.

$$M = a / \ln Aa + b$$

QUAST & KAREL (1972) usaram o enunciado de Kuhn para correlacionar o teor de umidade com atividade de água em batata chips com aproximadamente 0,32 de Aa. LABUZA *et al.* (1972) utilizou esta equação para descrever umidade de equilíbrio em leite em pó com aproximadamente 0,5 de Aa.

3.2 EQUAÇÃO DE OSWIN (OSWIN, 1946)

É uma serie de expansão para curva tipo S onde c e n são constantes.

$$M = c [Aa/1-Aa]^n$$

LABUZA *et al.* (1972) utilizou esta equação no estudo de isotermas de leite em pó desengordurada e chá solúvel em pó liofilizado, em ambos produtos a atividade de água foi de aproximadamente 0,5.

3.3 EQUAÇÃO DE SMITH (SMITH, 1947)

É uma equação muito útil para descrever isotermas de alimentos e de vários biopolímeros. As faixas de Aa utilizadas para descrever as isotermas por esta equação são de 0,3 a 0,95. Nesta equação a e b são constantes.

$$M = b - a \ln (1-Aa)$$

BECKER & SALLANS (1956) utilizaram esta equação em isotermas de trigo na faixa de Aa de 0,5-0,95. Young (1976) estudou isotermas de amendoim com esta equação, reportando que a mesma podia ser utilizada em atividades de água acima de 0.30.

3.4 EQUAÇÃO DE BET (BRUNAUER *et al.*, 1938)

É utilizada freqüentemente para caraterizar a água da monocamada. Esta equação é útil para descrever o comportamento de ganho de umidade em Aa abaixo de 0,5. O enunciado da equação é o seguinte:

$$Aa/(1-Aa)M = 1/MmC + Aa (C - 1)/MmC$$

Mm = Teor de umidade da monocamada

C= constante que descreve o calor absoluto de sorção.

A equação de BET usualmente é utilizada com atividades de água entre 0,05 e 0,45. O valor obtido da água da monocamada é efetivo para estimar a quantidade de água ligada à sítios polares nos sistemas de alimentos desidratados (DUCKWORTH & SMITH,

1963). IGLESIAS & CHIRIFE (1976) reportaram valores de monocamada de aproximadamente 100 diferentes alimentos e matérias primas, estes autores observaram que o valor da monocamada diminuiu com o aumento da temperatura. Os mesmos autores sugerem que valores de C baixos, podem ser atribuídos para alimentos com alto teor de açúcar.

3.5 EQUAÇÃO DE GAB (GUGGENHEIM, ANDERSON & BOER, 1966)

É um modelo de multicamadas, que considera as moléculas das monocamadas mantém interações de sorção com níveis de energia que dependem, em magnitude, do valor da monocamada. É considerado o mais versátil dos modelos de sorção e uma das melhores equações para ajuste de isotermas na maioria dos alimentos. O modelo requer cinco pontos experimentais e é aplicável nas faixas de Aa de 0 a 0,94. Teoricamente, é uma extensão da faixa de Aa da equação de BET, sendo que o modelo de GAB também, fornece o valor da monocamada dos alimentos.

O enunciado da equação é:

$$M/M_o = (C K Aa) / ([1 - K Aa] [1 - K Aa + C K Aa])$$

Mo = Monocamada de água absorvida

C = Constante de Guggenheim

K = Uma constante corrigida das propriedades das moléculas de multicamadas com respeito a uma massa líquida.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 2 apresenta a faixa de atividade de água (Aa) e o coeficiente de correlação (R^2) das diferentes isotermas e seus respectivos modelos matemáticos.

A Tabela 3 apresenta os parâmetros dos modelos matemáticos calculados das isotermas de adsorção do café cru beneficiado.

TABELA 2. Faixa de atividade de água (Aa) e coeficiente de correlação (R^2) das diferentes isotermas e seus respectivos modelos matemáticos.

# Autores	Kuhn		Oswin		Smith's		BET		GAB	
	Faixa Aa trab	R^2	Faixa Aa	R^2	Faixa Aa	R^2	Faixa Aa	R^2	Faixa Aa	R^2
1	0,5-0,90	0,990	0,05-0,90	0,994	0,05-0,85	0,990	0,3-0,70	0,995	0,05-0,90	0,999
2	0,45-0,90	0,991	0,15-0,85	0,9861	0,15-0,85	0,983	0,45-0,75	0,990	0,05-0,90	0,998
3	0,20-0,90	0,985	0,39-0,80	1,000	0,20-0,80	0,986	0,20-0,90	0,979	0,20-0,90	0,982
4	0,40-0,91	0,998	0,40-0,91	0,994	0,40-0,82	0,995	0,73-0,91	0,992	0,40-0,91	0,996
5	0,70-0,89	0,998	0,10-0,89	0,991	0,10-0,89	0,997	0,1-0,7	0,992	0,10-0,89	0,984
6	0,33-0,74	0,985	0,33-0,85	0,995	0,33-0,85	0,993	0,53-0,77	0,991	0,33-0,85	0,997
7	0,45-0,85	0,992	0,35-0,90	0,993	0,35-0,90	0,990	0,35-0,90	0,988	0,35-0,65	0,995
8	0,66-0,90	0,988	0,66-0,90	0,996	0,66-0,90	0,985	0,66-0,86	0,998	0,79-0,90	0,999
9	0,67-0,91	0,956	0,67-0,91	0,993	0,67-0,91	0,998	0,67-0,85	0,988	0,79-0,91	0,999
10	0,79-0,89	0,999	0,79-0,89	1,000	0,79-0,89	0,998	0,79-0,89	0,990	0,79-0,89	1,000
11	0,57-0,70	0,998	0,60-0,70	0,982	0,58-0,70	0,985	0,53-0,70	0,963	0,53-0,70	0,959
12	0,57-0,63	0,948	0,57-0,63	0,954	0,57-0,63	0,957	0,57-0,63	0,834	0,57-0,63	0,959
13	0,75-0,90	0,991	0,75-0,87	0,999	0,75-0,98	0,983	0,80-0,90	0,976	0,75-0,98	0,999
14	0,43-0,87	0,982	0,60-0,87	0,987	0,43-0,87	0,989	0,20-0,76	0,956	0,20-0,87	0,993

TABELA 3. Parâmetros dos modelos matemáticos calculados das isotermas de adsorção do café cru beneficiado.

Autores / Parâmetros	Kuhn		Oswin		Smith's		BET		GAB		
	A	B	c	n	a	b	Mm	C	Mo	C	K
1	0,0276	-0,0252	0,0531	0,7513	-0,0063	-0,0947	0,0459	-108,63	0,04801	2,66617	0,9455
2	0,072	-0,0268	0,1038	0,3861	-0,0428	0,0883	0,0425	-5,305	0,05499	155,292	0,9153
3	0,0497	-0,0318	0,1000	0,3682	-0,0576	0,0667	0,0345	-4,660	0,04394	1279950	0,97329
4	0,0773	-0,0264	0,0950	0,5191	0,0272	0,0988	0,0281	-1,1271	0,48004	1630231	0,93727
5	0,1064	-0,0148	0,1000	0,4010	-0,0361	0,0886	0,0459	-108,63	0,06093	19,8776	0,83380
6	0,0587	-0,0303	0,1060	0,3560	-0,0541	0,0742	0,0347	-2,537	0,07628	13,1841	0,72992
7	0,0849	-0,0231	0,1171	0,3670	-0,0510	0,0920	0,0462	-6,037	0,06664	24212E-02	0,83743
8	0,0705	-0,027	0,0850	0,6030	0,0534	-0,1590	0,03432	-2,3415	0,04766	94553,6	0,94594
9	0,1124	-0,0207	0,1080	0,4840	0,0005	0,1343	0,03534	-1,6903	0,07801	3,21520	0,85478
10	0,0534	-0,0295	0,0690	0,7140	0,1394	-0,2012	0,0311	-1,5659	0,04339	7,70383	0,96744
11	0,0404	-0,045	0,1034	0,5540	0,0079	0,1313	0,0463	-6,2896	0,05746	256379,3	0,93031
12	0,0223	-0,056	0,1010	0,6440	-0,0001	-0,1444	0,0562	10,3116	2,69042	0,11273	0,42136
13	0,1095	-0,0196	0,1008	0,4869	0,0138	0,1031	0,0246	-0,6294	0,09886	0,50169	0,83067

Os diferentes coeficientes obtidos dos modelos (a, b, c, n, Mm, C, Mo, C, K) apresentados na Tabela 3, mostram que os de Oswin tem valores próximos, mesmo sinal, e interpretam bem as faixas de atividade de água entre 0,05 e 0,90. Estes critérios foram escolhidos como modelo gerador de uma isoterma consolidada. Todas as isotermas obtidas neste estudo, e as obtidas pelos diferentes autores, foram superposicionadas sobre a isoterma consolidada (Figura 1). A isoterma consolidada foi obtida do modelo de Oswin utilizando como parâmetros de c e n os valores médios de todas as isotermas. Alguns pontos não coincidem sobre a linha e isto se deve às diferentes variáveis como: metodologia empregada, equipamento (balança, estufa, dessecador), se o grão foi triturado ou não. Na Figura 2 observamos que a superposição é ruim, isto é devido aos coeficientes de Oswin (c, n) obtidos da isoterma de Rodrigo Original, conforme a Tabela 3. Estes dados foram obtidos da metodologia de estufa a vácuo para a determinação de umidade. Por outro lado, ao aplicar uma correção da umidade segundo o método de rotina para café cru beneficiado da ISO, conforme PALACIOS *et al.* (2003), os coeficientes de Oswin (c, n) mudaram a superposição melhoraram notavelmente. No

entanto cabe destacar que uma simples correção não impede que outras isotermas possam existir e que estejam fora da isoterma consolidada, ou ainda, que as isotermas obtidas segundo metodologia ISO estejam fora da tendência da curva.

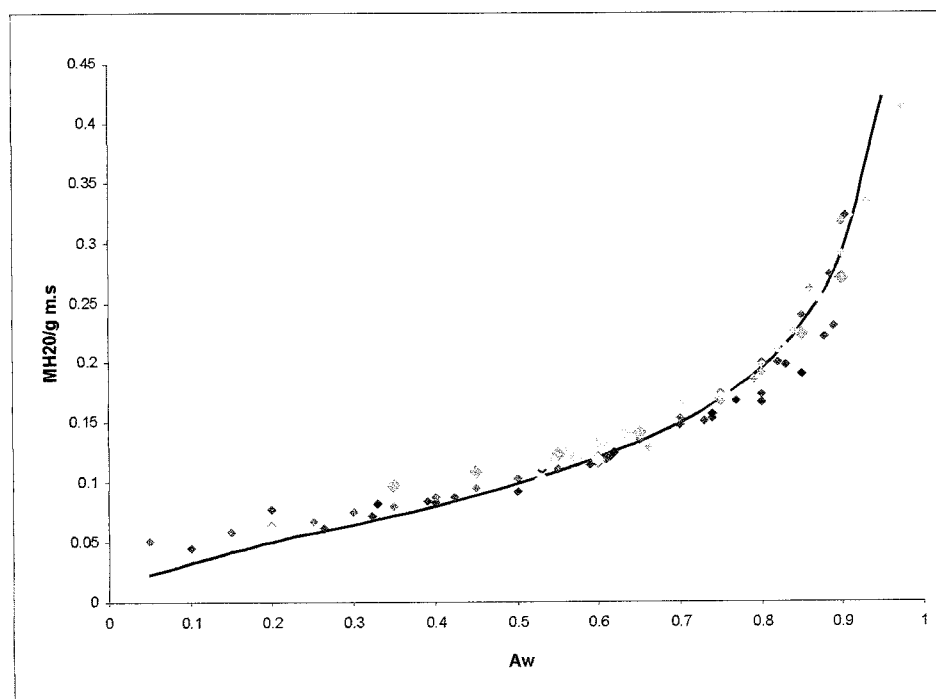


FIGURA 1. Isotherma consolidada gerada segundo o modelo de Oswin com os dados de umidade em base seca corrigidos segundo o método da ISO.

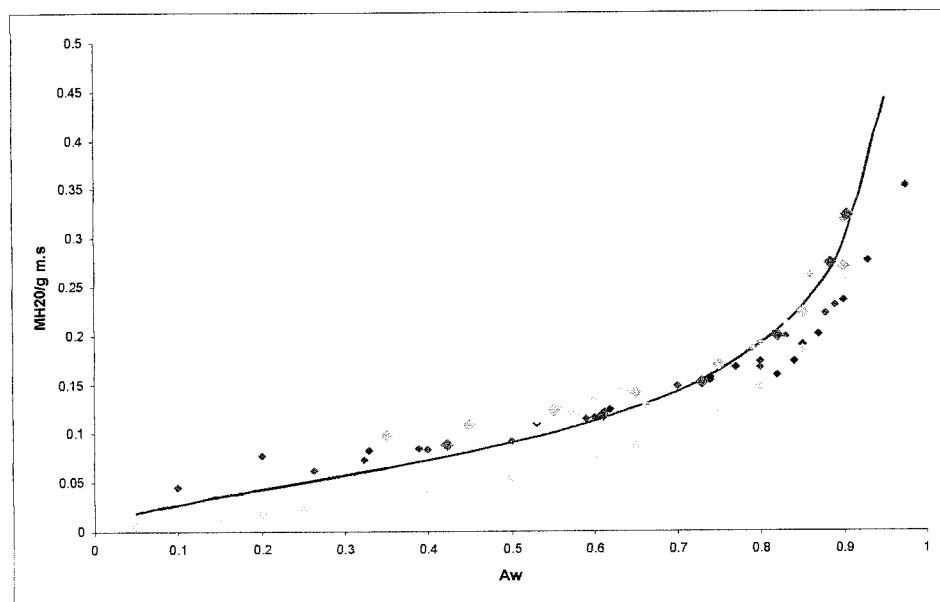


FIGURA 2. Isotherma consolidada gerada segundo o modelo de Oswin com os dados de umidade em base seca originais (Não corrigidos pelo método da ISO).

5. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Foram realizadas análises estatísticas dos dados coletados de diferentes isotermas de café cru beneficiado. Foi realizado um ajuste de regressão linear com nível de confiança de 95% e 99,9%. Os resultados obtidos sugerem que a isoterma consolidada obtida pode ser utilizada para qualquer trabalho, onde forem fornecidos os dados de umidade e atividade de água de café arábica beneficiado. O modelo matemático para a consolidação das isotermas foi o de Oswin e o resultado foi a equação:

$$U_{bs} = 0.10638 * [Aa/(1-Aa)]^{**0.43027} \text{ com } R^2 = 96,8\%$$

As Figuras 3 e 4 apresentadas no anexo deste capítulo mostram as isotermas consolidadas com o modelo de Oswin com 99,99e 95% graus de nível de confiabilidade

Os dados gerados do ajuste da regressão são apresentados na Tabela 4. Estes dados sugerem que em atividade de água entre 0,60 e 0,80 as variações de umidade em base seca estão entre 0,7 a 1,8%, e que variações menores ocorrem em atividade de água menores a 0,65. A medida que a atividade de água aumenta, a variação pode ser maior.

TABELA 4. Dados de umidade em base seca obtidos com ajuste de regressão linear.

Atividade de água	Desvio Superior/Média/Desvio inferior (Umidade % b.s)	Máximo desvio em % de umidade
0,60	13	± 0,49
	12,7	
	12,3	
0,65	14,3	± 0,64
	13,9	
	13,4	
0,70	15,9	± 0,78
	15,3	
	14,8	
0,75	17,8	± 0,99
	17,1	
	16,4	
0,80	20,2	± 1,27
	19,3	
	18,4	

* Dados com 95% graus de nível de confiabilidade.

Os dados obtidos sugerem que tendo um valor de atividade de água entre 0,60 até 0,80 e umidade de café arábica cru beneficiado entre 12 e 19% em b.s, o desvio em percentual de umidade será entre 0,5 e 1,3%.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AYERST, G. Determination of the water activity of some hygroscopic food materials by a dew-point method. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v.16, p. 71-78. 1965.
- BECKER, H.A and SALLANS, H.R. A study of the desorption isotherms of wheat at 25 and 50°C. **Cereal Chemistry**, Saint Paul, v. 33, p. 79-91, 1956.
- 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 content. **Journal Agricultural Food Chemistry**, Washington, v. 46, p. 4507-4511, 1998.
- BRUNAUER, S.; EMMETT, P.H and TELLER, E. Adsorption of gases in multimolecular layers. **Journal of American Chemistry Society**, Easton, v.60, p. 309-319, 1938.
- DUCKWORTH, R.B and SMITH, G.M. The Environment For Chemical Change In Dried And Frozen Foods. The Proceedings of the Nutrition Society, Oxon. The Proceedings of the Nutrition Society, Oxon, v. 22, p. 182-189, 1963.
- GOUGH, M.C. A simple technique for the determination of humidity equilibria in particulate foods. **Journal of Stored Products Research**, Oxford, v.11, 161-166. 1975.
- IGLESIAS, H.; CHIRIFE, J. and VIOLLAZ, P. Thermodynamics of water vapor sorption by sugar beet root. **Journal of Food Technology**, London, v. 11, p. 91-101, 1976.
- KUHN, I. **Journal of Colloid Science**, New York, v. 23, p. 563. 1967.
- LOMAURO, C.J.; BAKSHI, A.S.; LABUZA, T.P. Evaluation of food moisture sorption isotherm equation Part II: Milk, Coffee, Tea, Nuts, Oilseeds, Spices and Starchy Foods. **Lebensmittel Wissenschaft und Technologie**, London, v. 18, p.118-124. 1985.

- LABUZA, T.P.; MIZRAHI, S.; KAREL, M. Mathematical models for optimization of flexible film packaging of foods for storage. *Transactions of the American Society of Agricultural Engineers*, St. Joseph, v.15, p.150-155, 1972.
- NETO, R.O.T.; QUAST D.G. Isotermas de adsorção de umidade em alimentos. **Coletânea do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 8, p. 141-197, 1977.
- OSWIN, C.R. The kinetics of package life III. **Journal of Chemical Industry**, London, v. 65, p. 419-421. 1946.
- PALACIOS-CABRERA, H.A.; TANIWAKI, M.H. Determinação do teor de umidade do café cru beneficiado: Comparação entre diferentes metodologias. **Revista Brasileira de Armazenamento**, (Brazilian Journal of Storage), Viçosa, v.6, 25-29, 2003.
- PALACIOS- CABRERA, H.A.; TANIWAKI, M.H.; MENEZES, H.C.; IAMANAKA, B.T; (A). Effect of equilibrium relative humidity on ochratoxin A production by *Aspergillus carbonarius* in raw coffee beans. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v.7, p.111-114. 2004
- PALACIOS- CABRERA, H.A.; TANIWAKI, M.H.; MENEZES, H.C.; IAMANAKA, B.T; The production of ochratoxin A by *Aspergillus ochraceus* in raw coffee at different equilibrium relative humidity and under alternating temperatures. **Food Control**, Guildford, v. 15, p. 531-535, 2004.
- PAULINE, M.; ELCOATE, S. Moisture content relative humidity equilibria of tropical stored produce. **Tropical Stored products Information**, London, v. 13, 15-34. 1967.
- QUAST, D.G and KAREL, M. Effects of Environmental Factors on the Oxidation of Potato Chips. **Journal of Food Science**, Chicago, v 37, 584-588. 1972.
- QUAST, D.G., TEIXEIRA, N.R.O. Moisture problems of foods in tropical climates. **Food Technology**, London, v. 30, 102-105, 1976.
- SHARP, A.K. Shipping coccoa and coffee in naturally ventilated containers: The CSIRO Ventainer. **ACIAR Proceedings**, Canberra, v.23, p. 20-25, 1988.
- SMITH, S.E. The sorption of water vapor by high polymers. **Journal of American Chemistry Society**, Easton, v.69, p. 646-651, 1947.

YOUNG, J.H. Evaluation of models to describe sorption and desorption equilibrium moisture content isotherms of virginia-type peanuts. **Transactions of the American Society of Agricultural Engineers**, St. Joseph, v. 19, p. 146-150, 1976.

WOTTON, A.E. Coffee Processing Research-1. East African Research Organization, **Annual Report**, p. 33-34, 1968-1969.

ANEXOS

Limite de Confiabilidade (95%)

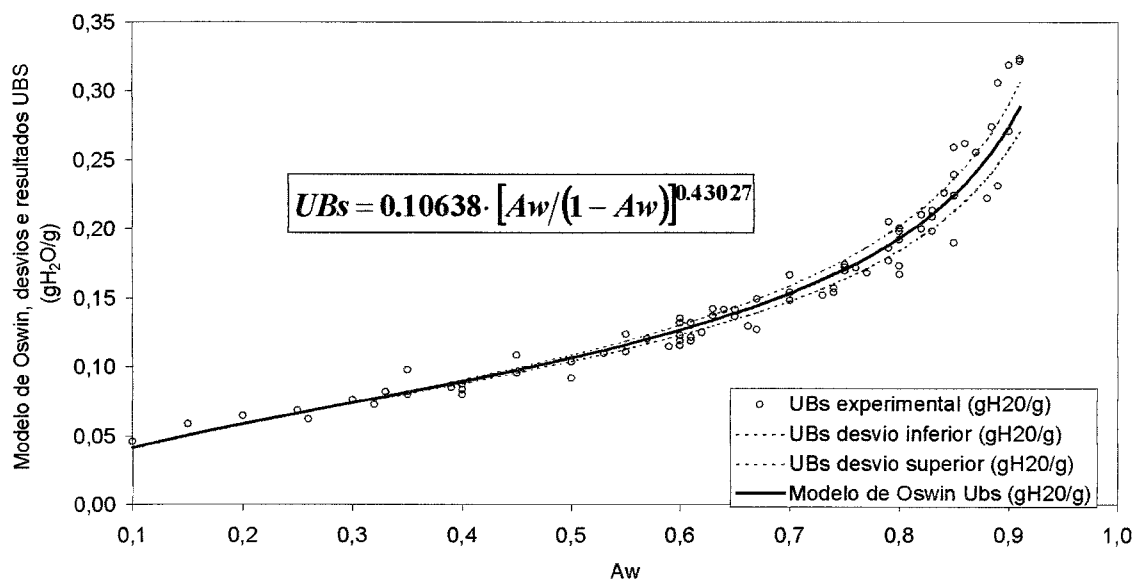


FIGURA 3. Isoterma Consolidada com o modelo de Oswin com 95% graus de confiabilidade.

Limite de Confiabilidade (99,99%)

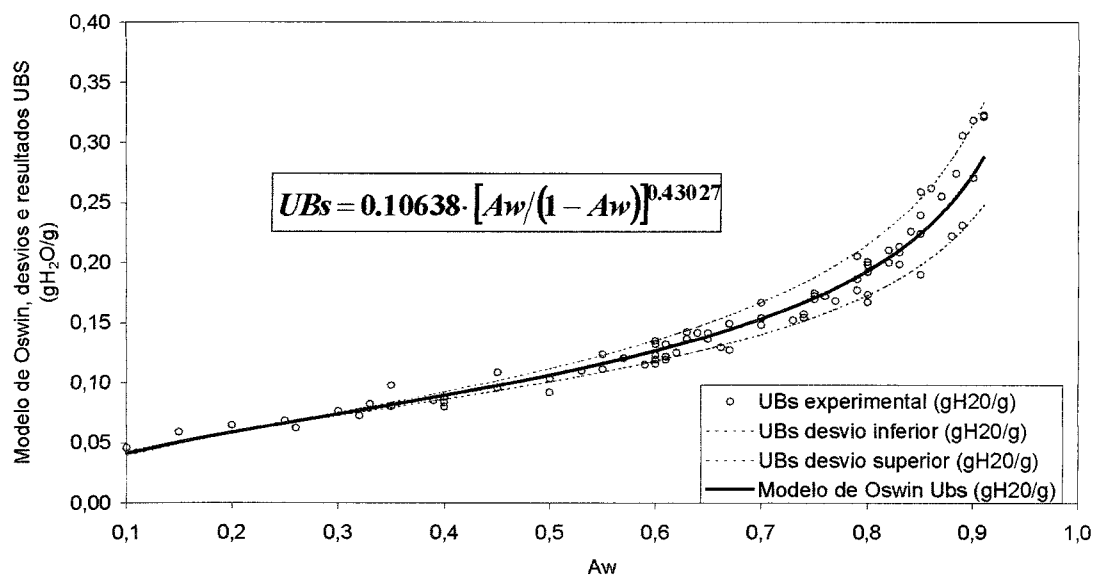


FIGURA 4. Isoterma Consolidada com o modelo de Oswin com 99,99% graus de confiabilidade.

CAPÍTULO V

MONITORAMENTO DURANTE O ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE DO CAFÉ CRU BENEFICIADO

1. INTRODUÇÃO

Frente as tendências irreversíveis da globalização, os produtos agrícolas tipo exportação, como o café, devem estar em harmonia com as exigências do mercado internacional e dentro dos limites impostos aos diferentes quesitos de qualidade. O controle de ocratoxina A (OTA) vem sendo efetuado nos portos de destino dos países importadores e pode se constituir em uma barreira comercial para o café, que embora não possua um limite oficial para a OTA, o Codex (1998) recomenda um limite máximo de 5 µg/Kg (ppb). O fungo *A. ochraceus* presente na microbiota natural do grão do café pode representar um risco na produção de ocratoxina A em qualquer etapa após a colheita do grão, quando condições ótimas de temperatura (20-30°C) e umidade relativa (80- 100%) estiverem presentes. O Brasil, como primeiro país produtor e exportador de café no mundo, tem que estar na vanguarda das pesquisas em todas as etapas concernentes à cadeia produtiva. O estudo visou o levantamento de dados de umidade, umidade relativa, temperatura do café cru beneficiado em condições reais de transporte marítimo dentro de containeres reais e protótipos. O ganho de umidade dos grãos foi provocado por gradientes altos de temperatura entre o ambiente externo com o espaço livre no container (condensação), assim como gradientes altos entre as diferentes regiões da carga de café (migração de umidade das zonas mais quentes às mais frias, com posterior ganho de umidade das regiões mais frias). Nesta etapa também foi estudado a ocorrência de *A. ochraceus* no café cru transportado.

2. OBJETIVOS

Quantificar a cinética de umidade e temperatura dentro de containeres reais e protótipos em condições reais de transporte marítimo e avaliar a influência desta etapa na produção de ocratoxina A produzida pelo fungo *A. ochraceus*.

Comparar e validar os dados obtidos nos containeres reais e protótipos visando a prevenção de ocratoxina A.

3. JUSTIFICATIVAS

O fungo *A. ochraceus* produtor de ocratoxina A (OTA) está presente na microbiota natural do café e em outros alimentos, contudo, se o grão se mantém abaixo de 0,80 de atividade de água, o fungo não irá se desenvolver e produzir a toxina (JOOSTEN *et al.*, 2001; CREPPY, 2002). É muito complexo quantificar a ocorrência de microbiota fúngica e estabelecer um percentual definitivo de um determinado fungo, devido às variações de condições climáticas, solo, competidores, etc. No entanto (ILLY & VIANI, 1996) informaram uma ocorrência de *Aspergillus ochraceus* de 80% em tulhas de café. Em nosso trabalho foi feito um levantamento preliminar com os lotes de café monitorados, e foi encontrado uma ocorrência média de 53%.

O monitoramento da umidade, atividade de água do grão assim como, temperatura, umidade relativa, tempo são parâmetros que precisam ser monitorados e controlados para evitar a produção de OTA e também para evitar a perda de qualidade do grão como descoloração, perda de acidez, sabor estranho e outros (SAUER, 1988; TEIXEIRA, 2002).

O aumento ou perda de umidade da carga dentro de um sistema dinâmico não hermético como é o caso de containeres que transportam café, é uma situação rotineira que ocorre nos percursos marítimos entre países de clima tropical como o Brasil e países da Europa e do hemisfério Norte (LEE, 1999; PEIFF, 1998; SHARP & GREVE, 1984).

O aumento da umidade pode ocorrer pela migração da umidade das regiões de carga mais quentes para as mais frias do container, favorecido por um gradiente diferencial de temperatura entre as mesmas, assim como pode ocorrer por condensação e posterior coalescência e precipitação do condensado na carga. Um gradiente de temperatura numa carga de umidade uniforme origina um gradiente de pressão de vapor com movimentação de água das regiões mais quentes para as regiões mais frias (PIXTON, 1982). Em qualquer volume grande de grãos, diferenças de temperatura resultam numa transferência de umidade. A diferença de (2-3°C) favorece a migração, as diferenças de (5-10°C) entre as regiões favorecem uma rápida transferência de umidade (LAZZARI, 1997). As regiões mais quentes da carga tendem a perder água que é captada pelas regiões mais frias, que por terem uma menor capacidade de retenção da água, ganham essa umidade (PIXTON, 1982).

As constantes oscilações de umidade relativa e temperatura dentro do container, desde o estufamento no porto até o seu destino final, favorecem o ganho ou perda de umidade da carga nas distintas regiões do container. Em alguns casos um aumento de umidade (de 12 para 13%) pode representar uma perda de qualidade principalmente em relação à bebida.

A longa permanência do café no terminal de destino, onde a temperatura da carga interna é mais morna ou menos fria que a externa, origina uma condensação (LEE 1999). É possível que, nesta situação, tanto em trajetos menores como em trajetos maiores a situação se torne muito mais complexa com relação à condensação e subsequente ganho de umidade da carga, principalmente no topo da carga e nas regiões próximas às paredes laterais do container. Algumas medidas têm sido tomadas em relação a evitar o incremento de umidade da carga dentro de um container como: utilização de material dessecante (gel, sílica), uso de material isolante, uso de containeres ventilados, uso de desumidificadores externos ou sistemas a vácuo e outros (SHARP, 1978). Todos são efetivos em maior ou menor escala, mas a maioria é inviável principalmente pelo custo oneroso e pela inviabilidade de seu uso em cargas conteineirizadas maiores.

É uma situação não muito confortável para os produtores e exportadores de café que após terem sido muito cuidadosos na produção, classificação e logística do seu produto, o mesmo chegue ao destino com uma qualidade inferior por uma simples perda ou ganho de umidade de seu produto, como consequência de situações climáticas incontrolláveis.

4. MATERIAL E MÉTODOS

O café arábica cru beneficiado foi monitorado dentro de containeres reais (CR) e containeres protótipos (CP). Os containeres foram localizados em 3 diferentes locais dentro do navio: Deck 1 (porão), Deck 3 (primeiro andar do navio) e Deck 7 (convés do navio). Cada CP foi colocado junto ao CR correspondente, nos três locais.

O estudo paralelo dos CP visou a possibilidade de coletar amostras durante o trajeto marítimo, a fim de medir a umidade do café, o que seria impossível com os CR. A justificativa principal de um estudo em paralelo surgiu pela dificuldade de realizar varias

viagens de trajeto marítimo e pelo custo que isso significaria, bem como a dificuldade de testar em condições reais um lote inoculado com *A. ochraceus*.

4.1 CONTAINER REAL (CR)

Foram utilizados containeres de 20 pés para sacaria, com dimensões de (5,88 x 2,32 x 2,19 m). As especificações dos containeres e sua respectiva identificação e localização dentro do navio foram as seguintes:

GRIU 123944 localizado no Deck 7 (convés) de lado do CP Ital #1

GRIU 123433 localizado no Deck 3 (primeiro andar) próximo do CP Ital # 3

GRIU 120951 localizado no Deck 1 (porão) próximo do CP Ital #2

4.2 CONTAINERES PROTÓTIPOS (CP)

Foram utilizados três containeres protótipos de aço “Corten”, com dimensões de (1,86 x 0,73 x 0,73 m). O peso do container vazio foi de 160 Kg. Os CP foram identificados como ITAL #1, ITAL #2 e ITAL #3. Os containeres foram estufados no Porto de Santos na forma que seriam transportados durante o trajeto marítimo (posição vertical). Foi colocada uma camada de isopor nas três paredes verticais do container, mas em uma parede vertical e no topo não foram colocadas.

O container protótipo tinha como objetivo simular um segmento do container real. A sua altura na vertical era próxima à altura do container real na posição horizontal. Os containeres protótipos continham na parte lateral do mesmo, nove orifícios com seus respectivos parafusos, onde através de caladores as amostras eram retiradas para determinar a umidade. A Figura 1 apresenta o container real junto ao container protótipo no convés do navio.



FIGURA 1. Container real junto ao container protótipo no convés do navio.

5. PARÂMETROS INTRINSECOS MONITORADOS NO CAFÉ

5.1 Avaliação quantitativa da incidência de *A. ochraceus* na superfície do café beneficiado

Um total de 60 grãos de café foram colocados em 6 placas de Petri contendo ágar Dicloran Glicerol 18% (DG18) com cloranfenicol. As placas foram incubadas a 25°C por 5 dias. Os resultados são expressos em porcentagem de grãos contaminados.

5.2 Avaliação quantitativa da incidência de *A.ochraceus* na porção interna do café beneficiado.

Foi realizado de forma similar e simultânea ao ensaio anterior, com a diferença que os grãos de café colocados nas placas foram desinfetados antes do plaqueamento, com solução de hipoclorito de sódio 0.4% durante 1 minuto. Os resultados são expressos em porcentagem de grãos infectados segundo a metodologia de PITT & HOCKING (1997).

5.3 Porcentagem de umidade do café

Esta variável foi analisada em todas as amostras no início e final do experimento tanto nas amostras dos sacos que foram nos CP como nos CR. A umidade foi determinada por capacitância elétrica num medidor de umidade Gehaka 600 previamente calibrado com o método da estufa até peso constante de 105°C $\pm$ 2 por 24 horas. O

medidor realizou leituras instantâneas *in situ*. A correção de temperatura também foi considerada no resultado final.

6. PARÂMETROS EXTRÍNSECOS MONITORADOS

6.1 Temperatura

A temperatura foi monitorada através dos sensores Onset (H08-032-08), devidamente calibrados. Quatro sensores foram colocados para monitorar a região inferior, central, superior e espaço livre do container real. No total, foram utilizados 12 sensores para os CR. Os sensores foram protegidos por gaiolas de aço inox. No caso dos CP, foi utilizado o mesmo critério de localização de sensores, só que nos containeres #2 e #3 não se colocaram sensores no espaço livre por falta dos mesmos. Além de sensores foram colocados também nos CP cabos de termopar tipo T devidamente identificados que, após os containeres serem fechados, ficavam pendurados com a finalidade de fazer leituras diárias da temperatura dentro do saco do café, no espaço livre e na parte externa superior do container. No total foram colocados 5 cabos por container. O monitoramento da temperatura dos CP com termopares foi como medida preventiva, para ter dados de temperatura no caso dos sensores eletrônicos falharem, e também para se ter dados comparativos da mesma medida. Não foi possível colocar cabos de termopar nos CR por questões de logística e política interna dos importadores e dos armadores do navio. Foram colocados 2 sensores na parte externa do container (localizado no convés) para monitorar a temperatura e umidade relativa externa do meio externo.

6.2 Umidade relativa

A umidade relativa foi monitorada da mesma forma que a temperatura pelos mesmos sensores Onset (H08-032-08) previamente calibrados. O procedimento foi similar a temperatura.

6.3 Outros parâmetros

Foram efetuadas outras medições durante o transporte marítimo como umidade relativa externa com um termohigrometro testo 615. Foi também monitorado a velocidade do ar nos diferentes decks onde os CR e CP estavam localizados. As análises destes

dados estão sendo realizados e serão apresentados no próximo relatório com os dados de temperatura dos termopares tipo T.

7. ANÁLISES REALIZADAS NO LABORATÓRIO

7.1 Determinação da atividade de água do café

Os valores de atividade de água foram medidos no equipamento Aqualab modelo série 3TE (Decagon - USA). As medidas foram realizadas em triplicata.

7.2 Análise quantitativa de ocratoxina por CLAE

As amostras de café foram analisadas quanto a presença da ocratoxina conforme metodologia de extração de (PITTET *et al.* 1996), utilizando coluna de imunoafinidade (VICAM).

A quantificação da ocratoxina foi realizada por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, utilizando equipamento Shimadzu e detetor de fluorescência. As análises foram realizadas em duplicata e os resultados expressos em µg/kg (ppb)

8. AMOSTRAGEM

8.1 Amostragem dos sacos colocados nos containeres reais

O procedimento de amostragem foi sujeito ao planejamento preestabelecido pela Illy café (empresa compradora de café brasileiro), e algumas concessões foram feitas para obter um bom controle e para que os resultados pudessem ser significativos. Nove sacos de 60 Kg (3 por container) foram selecionados, aleatoriamente, e identificados. Os sacos foram escolhidos de 5 lotes diferentes (OIC 0239, 0279, 0280, 0290, 0291) de café cru tipo exportação. A OIC foi o código de identificação dos lotes. De um único lote (OIC 0239) se identificou três sacos que iriam no container identificado como GRIU 123944 localizado no convés (Deck 7). De dois lotes diferentes (OIC 0279, 0280) escolheu-se três sacos que iriam no container identificado como GRIU 123433 localizado no Deck 3 (primeiro andar do navio). As três sacas que iriam no container localizado no porão do navio identificado como GRIU 120951 (Deck 1) foram escolhidos de 2 lotes diferentes (OIC 0290 e 0291). De cada saca coletou-se 1 Kg de amostra, na qual foi determinada:

umidade, atividade de água e teor de ocratoxina. Esta primeira amostragem correspondeu à determinação inicial dos parâmetros que seriam monitorados. Das mesmas sacas identificadas e amostradas, foram retirados 1 Kg de amostra quando os containeres foram abertos no destino final na Itália. De cada lote também foram amostrados, aleatoriamente, 5 sacas com a finalidade de determinar a umidade a fim de servir como parâmetro da homogeneidade do lote.

8.2 Amostragem das sacas colocadas nos containeres protótipos

Foram coletadas 6 Kg de amostras em 6 saquinhos diferentes de um único lote de 30 sacas de café. As 30 sacas foram amostradas antes de serem abertas e despejadas em um recipiente, para posterior ensacamento em saquinhos de juta de 2 Kg. As análises de umidade, atividade de água e concentração de ocratoxina A foram feitas em sextuplicatas (correspondentes aos 6 saquinhos) e corresponderam a determinação inicial. No percurso marítimo foram feitas duas amostragens. O container protótipo tinha 9 orifícios com rosca pôr onde se colhia a amostra com um calador de sacos. As amostras foram retiradas da região inferior, central e superior do container para o monitoramento de umidade. Na amostragem final feita em Livorno foram coletadas 1 kg de cada região do container para determinação de ocratoxina A. Foram amostrados 3 quilos por container.

9. ETAPAS DO PERCURSO DO CAFÉ MONITORADO

9.1 Reensacagem e Armazenamento (Leme Armazéns) 4 dias

O café proveniente das fazendas ou cooperativas previamente classificado e selecionado pelo importador, foi reensacado em sacas de juta novas de 60 Kg. Após a reensacagem o café ficou 3 dias no armazém até aviso prévio de embarque rodoviário. Nesta etapa foram colocados os sensores dentro das sacas, especificamente na parte central dos mesmos, também foi retirada uma amostra para análise de umidade inicial, concentração de ocratoxina A inicial e contaminação e infecção do café com *Aspergillus ochraceus*. Paralelamente foram reensacados 960 saquinhos de aproximadamente 2Kg de um lote de 30 sacas de 60 Kg. Nas Figuras 2 e 3 são mostradas as atividades realizadas nesta etapa.



FIGURA 2. Atividade de reensacagem em Leme.

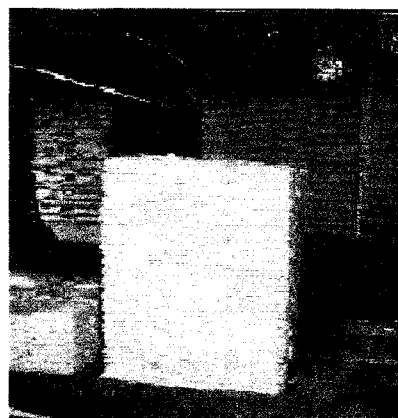


FIGURA 3. Sacas de café pequenas e grandes reensacadas.

9.2 Transporte Rodoviário

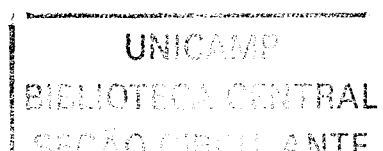
O café foi colocado em carretas ou caminhões para ser levado até o Porto de Santos. Foi coberto por lonil partindo em comboio (Figura 4) O percurso do trajeto foi de aproximadamente 8 horas. O transporte rodoviário finalizou em Santos.



FIGURA 4. Caminhão tipo carrete transportador de café.

9.3 Estufagem em Santos (S. Magalhães) - 1 dia

Em Santos as sacas de café foram estufadas (colocadas nos containeres) no armazém S. Magalhães. Os trabalhadores retiraram as sacas de café do caminhão e o colocaram dentro do container em pilas de 10 sacas como apresenta a Figura 5. Antes de



completar a metade da estufagem de cada container foi colocado no centro do container as sacas previamente identificadas que continham os sensores. Antes de fechar os containeres, a carga inteira foi embrulhada com papel Kraft como mostra a Figura 6. Posteriormente o container foi lacrado e aberto somente no destino final. De forma similar embora num processo mais simples foram estufados os CP. Os cabos de termopar tipo T foram colocados nesta etapa. As Figuras 5 e 6 apresentam as duas situações durante a estufagem do café.

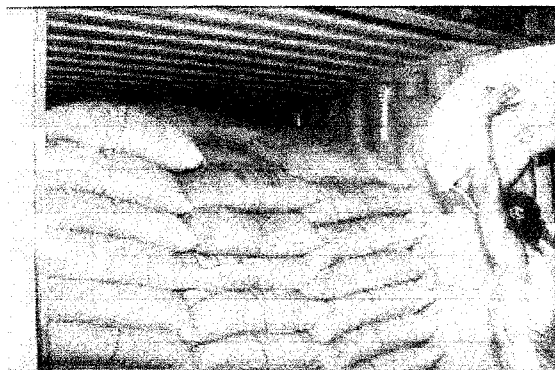


FIGURA 5. Café sendo estufado.



FIGURA 6. Carga de café sendo forrada com papel Kraft.

9.4 Armazenamento do café em containeres antes do embarque (Santos - Terminal Tecondi) - 12 dias

Os containeres com café foram levados ao terminal Tecondi para aguardar o embarque previsto para dia 27 de Janeiro de 2002. Os containeres foram expostos ao ar livre por um período de 12 dias como mostra a Figura 7.



FIGURA 7. Terminal Tecondi em Santos.

9.5 Embarque (Porto de Santos)

Os contêineres tanto reais como protótipos foram içados com cabos e guindastes ao convés do navio, os contêineres transportados no porão e no primeiro andar foram transportados até o interior do navio em caminhão como mostram as Figuras 8, 9 10, 11.

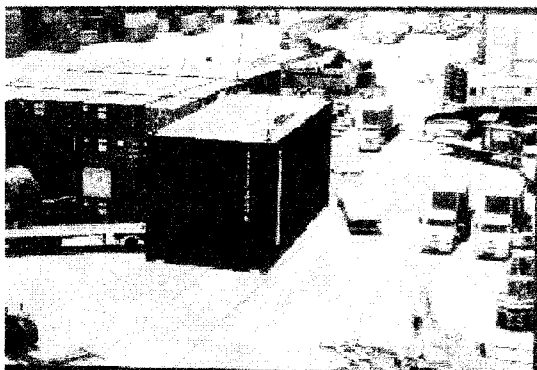


FIGURA 8. Embarque do contêiner real.

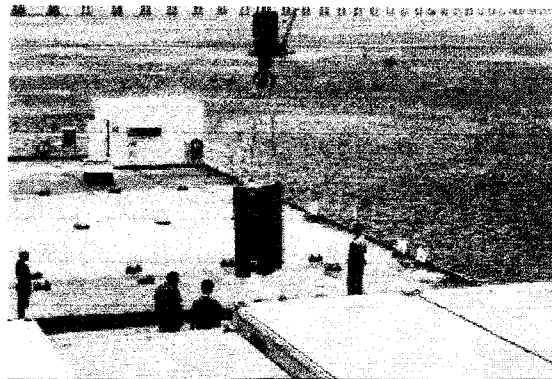


FIGURA 9. Embarque do contêiner protótipo.



FIGURA 10. Embarque do contêiner no porão.

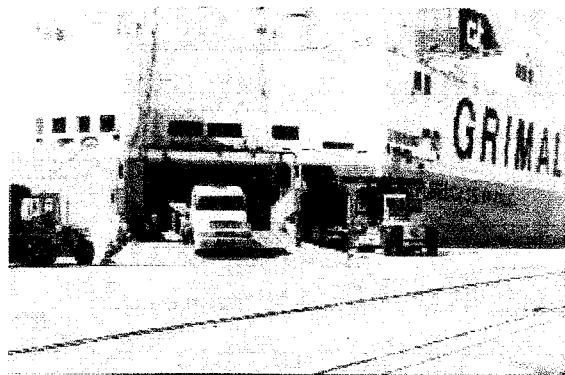


FIGURA 11. Caminhão saindo do navio.

9.6 Transporte marítimo - 14 dias

Os contêineres reais e protótipos estavam localizados nos decks 1, 3 e 7 como mostram as Figuras 12, 13 e 14. O deck 7 fica no convés do navio onde o contêiner sofre drasticamente os efeitos climáticos. O deck 3 fica no primeiro andar, onde havia ventilação, e o deck 1 fica no porão do navio, aproximadamente 5 m abaixo do nível da água, neste local há pouco ar, a ventilação estava bem reduzida quando comparada ao

deck 3. Durante o trajeto marítimo foram feitas 3 amostragens de café dos CP. Todos os dias de manhã e a tarde foram feitas medidas de umidade relativa e temperatura e a velocidade do ar dos decks onde estavam localizados os containeres, assim como as leituras de temperaturas dos termopares tipo T dos CP. O transporte marítimo durou 14 dias.

As Figuras 12, 13 e 14 apresentam as atividades de monitoramento de temperatura nos CP desenvolvidas durante o percurso marítimo nos três decks.



FIGURA 12. Monitoramento no convés.

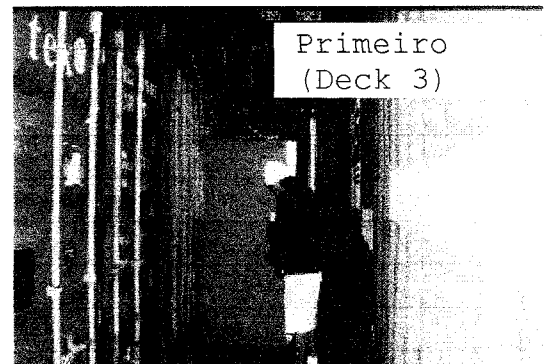


FIGURA 13. Monitoramento no primeiro andar.

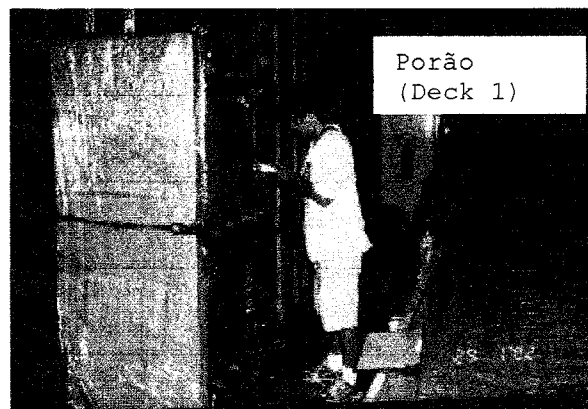


FIGURA 14. Monitoramento no porão.

9.7 Desembarque dos Containeres

Esta etapa ocorreu em Livorno, destino final do trajeto marítimo. Os containeres reais foram colocados no terminal e posteriormente embarcados de trem para serem levados a seu destino final em Trieste. Por questões burocráticas e de ordem logística os

CP não puderam ser desembarcados na Itália e retornaram ao Brasil. Os dados dos sensores dos CP foram retirados e também foram coletadas amostras para medição de umidade e teor de ocratoxina A.

9.8 Armazenamento no Porto de Livorno e Transporte Ferroviário - 9 dias

Nesta etapa os contêineres reais foram armazenados e posteriormente levados de trem até Trieste. A Figura 15 mostra a rede ferroviária onde os contêineres foram transportados.

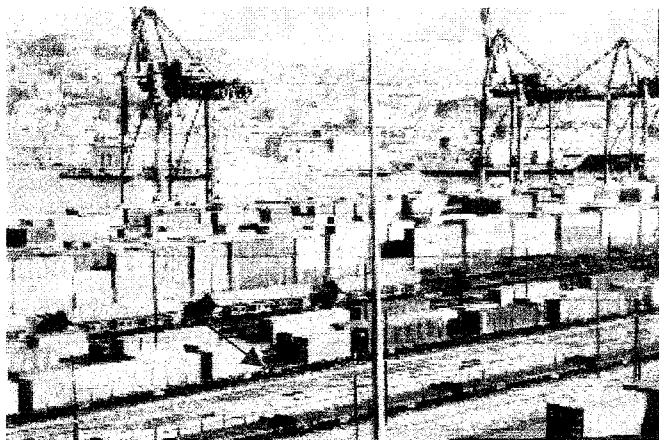


FIGURA 15. Rede ferroviária em Itália.

9.9 Desova dos Contêineres - (Trieste)

Esta etapa consiste em retirar todas as sacas dos contêineres e colocá-las no armazém até posterior torração. Foram retiradas amostras das mesmas sacas amostradas no início em Leme. Foi verificado se havia condensação nas paredes do contêiner. As sacas que apresentaram sinal de umidade foram separadas.

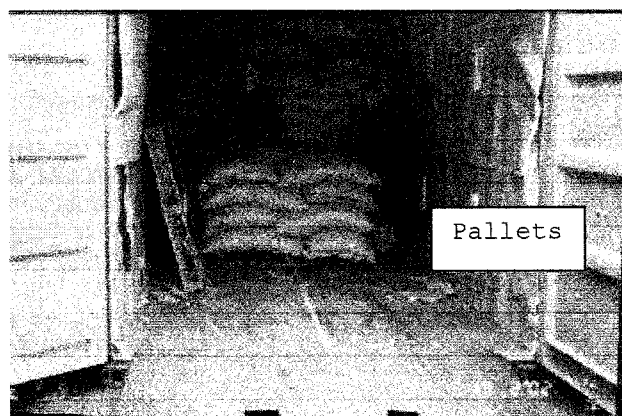


FIGURA 16. Desova dos containeres.

10 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos da ocorrência de *A. ochraceus* e outros fungos presentes na microbiota natural do café monitorado são apresentados na Tabela 1.

TABELA 1. Porcentagem da microbiota fúngica em café cru.

Porcentagem de ocorrência fúngica em café (%)		
# Amostragem	CD*	SD**
Fungos		
<i>Aspergillus niger</i>	12	33
<i>Aspergillus ochraceus</i>	2	12
<i>Aspergillus tamaritii</i>	4	-
<i>Eurotium spp</i>	4	17
<i>Penicilium spp.</i>	3	17
Outras espécies	3	5

**CD - Desinfetado com hipoclorito de sódio (0,4%).

*SD - Sem desinfecção com hipoclorito de sódio.

A Tabela 1 mostra o fungo *A. ochraceus* como presente na microbiota natural do café cru tipo exportação, e põe em evidência o risco que qualquer café apresenta se tiver que suportar condições favoráveis para o crescimento do fungo, principalmente durante o transporte marítimo.

A umidade e atividade iniciais de água no café foram determinados em Leme e correspondem as condições intrínsecas iniciais do grão do café monitorado, enquanto que as amostras finais foram retiradas em Trieste, os resultados iniciais e finais obtidos, são apresentados na Tabela 2.

TABELA 2. Condições iniciais e finais de Aa e Umidade do café monitorado em contêineres reais.

Localização no navio	* Região dentro do container	Umidade em base seca (BS %) e atividade de água			
		Aa inicial	BS (inicial)	Aa final	BS (final)
Deck 7 Convés do navio	Inferior	0,591	12,20 ± 0,00	0,586	12,20 ± 0,00
	Central	0,588	12,17 ± 0,20	0,580	13,69 ± 0,13
	Superior	0,590	12,20 ± 0,27	0,639	14,19 ± 0,11
	Miscelânea	NM	**NM	0,597	13,46 ± 0,13
Deck 3 Primeiro andar do navio	Inferior	0,538	11,14 ± 0,10	0,532	11,14 ± 0,27
	Central	0,578	12,38 ± 0,27	0,536	11,32 ± 0,10
	Superior	0,578	12,38 ± 0,10	0,602	13,10 ± 0,10
	Miscelânea	NM	NM	0,569	12,02 ± 0,10
Deck 1 Porão do navio	Inferior	0,564	12,38 ± 0,18	0,574	12,20 ± 0,10
	Central	0,605	12,74 ± 0,18	0,583	12,20 ± 0,10
	Superior	0,608	12,92 ± 0,10	0,628	13,64 ± 0,18
	Miscelânea	NM	NM	0,700	16,83 ± 0,33

****NM-** Não monitorado (lote amostrado aleatoriamente só no final do ensaio).

Em geral houve uma diminuição no teor da umidade no final da viagem nos 3 decks estudados, com exceção da parte superior no deck 7. Na Tabela 3 estão apresentados os dados de umidade inicial, atividade de água inicial e final do café monitorado nos contêineres protótipos, assim como a umidade das amostras coletadas durante a viagem (29/01 e 3/02).

TABELA 3. Monitoramento de Umidade e atividade de água inicial e final nos containeres protótipos.

Atividade de água e Porcentagem de Umidade em base seca (% b.s)							
	Posições das sacas	Datas de amostragens					
		10/01		29/01	3/02	9/02	
		%BS	Aa			%BS	Aa
Deck 1 Ital #2	Inferior	12,02	0,569	10,62	11,67	13,82	0,573
	Médio	12,02	0,569	10,28	10,97	13,46	0,576
	Superior	12,02	0,569	10,62	11,49	14,75	0,595
Deck 3 Ital #3	Inferior	12,02	0,569	11,64	11,49	13,46	0,581
	Médio	12,02	0,569	11,12	10,97	13,46	0,593
	Superior	12,02	0,569	11,12	11,32	14,01	0,590
Deck 7 Ital # 1	Inferior	12,02	0,569	11,67	*ND	13,46	0,602
	Médio	12,02	0,569	11,67	*ND	13,46	0,587
	Superior	12,02	0,569	11,67	*ND	14,19	0,630

ND- Não determinado.

Os valores de atividade de água e umidade do grão apresentados na Tabela 3 na data do dia 10/01 (amostragem inicial) correspondem aos valores das medias de 6 determinações (vide item 8.2). Os outros valores foram obtidos das medias de três determinações. Cabe ressaltar que infelizmente os CP não foram desembarcados em Livorno juntos com os reais, sendo assim, os valores de umidade e atividade de água da amostragem final não podem ser comparados com os obtidos das amostras do CR.

As amostras utilizadas para a determinação de umidade e atividade de água foram coletadas das mesmas sacas coletadas em Leme, na amostragem inicial. As posições das sacas no container correspondem: I (região inferior), M (região central), S (região superior). Os resultados de umidade são calculados em base seca.

Durante a desova dos containeres em Trieste algumas sacas que estavam na parte superior do container e apresentavam sinais de umidade foram separadas. As sacas tinham algumas características interessantes: o café contido em algumas delas tinha cor esbranquiçada (tinha sofrido descoloração), as regiões das sacas suspeitas estavam como empedradas (café grudado) e foram sinalizadas com canetas. especiais tipo

marcador. Foi realizada uma amostragem aleatória destas sacas e encontrou-se uma umidade de 14%, atividade de água de 0,70 e teor de ocratoxina de 13 µg/kg (ppb). As amostras foram coletadas do container localizado no porão. Coincidência ou não neste container foi observado a maior quantidade de condensado nas paredes. As Figuras 17 e 18 mostram o fenômeno da condensação.

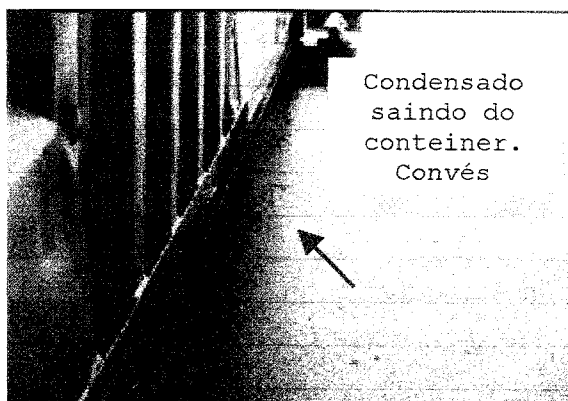


FIGURA 17. Condensação externa.

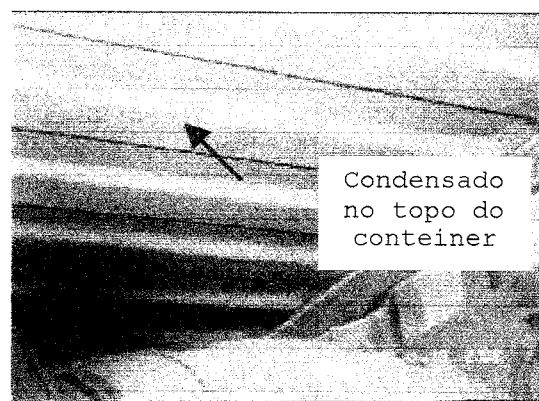


FIGURA 18. Condensação interna.

Na primeira situação temos um condensado saindo do interior do container real localizado no convés do navio. O segundo condensado corresponde ao container localizado no porão do navio.

Este último tipo de condensação não foi observado no container localizado no convés, possivelmente porque a umidade alta do espaço livre foi perdida em parte para o ambiente em forma de vapor ou condensado e em parte para a carga. O vento pode ter contribuído para secar e evaporar o condensado (existem 4 respiradouros nas laterais dos containeres). Nos decks 1 e 3 a ventilação era limitada sendo no primeiro quase imperceptível. A evaporação do condensado pelo efeito do ar externo neste último caso, tornou-se menos provável. A umidade e atividade de água da região superior do container localizado no convés, aumentaram em relação ao início, contudo nos containeres localizados no porão e no primeiro andar houve diminuição. A capacidade de retenção de água é menor à temperaturas mais baixas, a carga da região superior acaba ganhando um pouco de umidade como apresenta a Tabela 2, já no caso dos outros dois containeres, a temperatura diminui lentamente, e conseqüentemente a capacidade de retenção de umidade é maior, a tendência é, doar água para o meio encontrando o equilíbrio, essa água em forma de vapor sobe por convecção, se esfria e condensa pelo gradiente alto de temperatura entre o espaço livre e a carga, e o espaço livre e o ambiente externo.

Observou-se que no container localizado no deck 3 o condensado na parede superior foi escasso em comparação com o deck1, já o container do convés não apresentou condensado na parede superior. A Figura 19 apresenta grãos com defeito, escuros e alguns esbranquiçados, provavelmente devido ao frio. Ao furar os saquinhos, os grãos se espalharam no chão do container protótipo, no entanto vale lembrar, que os containeres não foram abertos durante a viagem. As flechas mostram os grãos de café escuros, possivelmente queimados pelo frio.

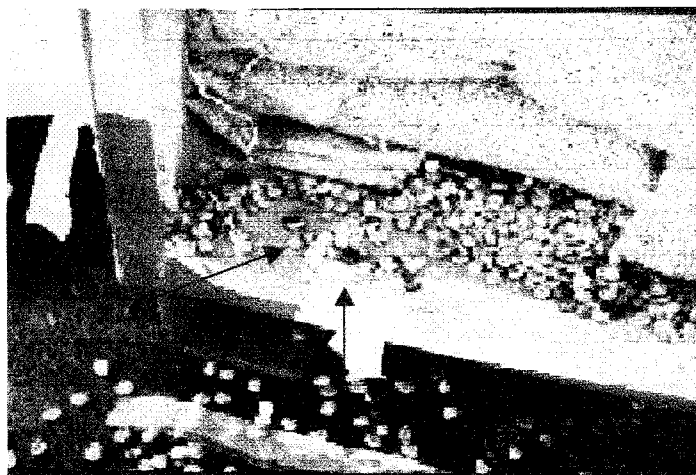


FIGURA 19. Grãos de café com defeitos.

Nas Figuras 20 e 21 são mostrados os dados de umidade relativa e temperatura dos decks onde os containeres estavam localizados. Os dados do dia 10/02 e 11/02 não foram incluídos neste gráfico. É importante destacar que estes dados foram obtidos exclusivamente durante o percurso marítimo e do navio em movimento.

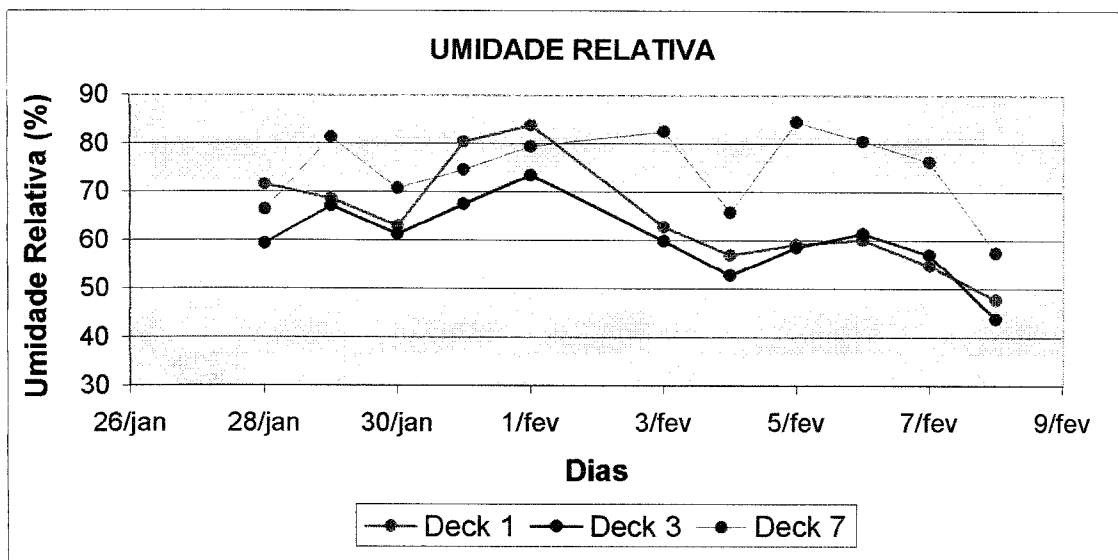


FIGURA 20. Valores de umidade relativa (%) do ambiente, monitorados durante o percurso marítimo.

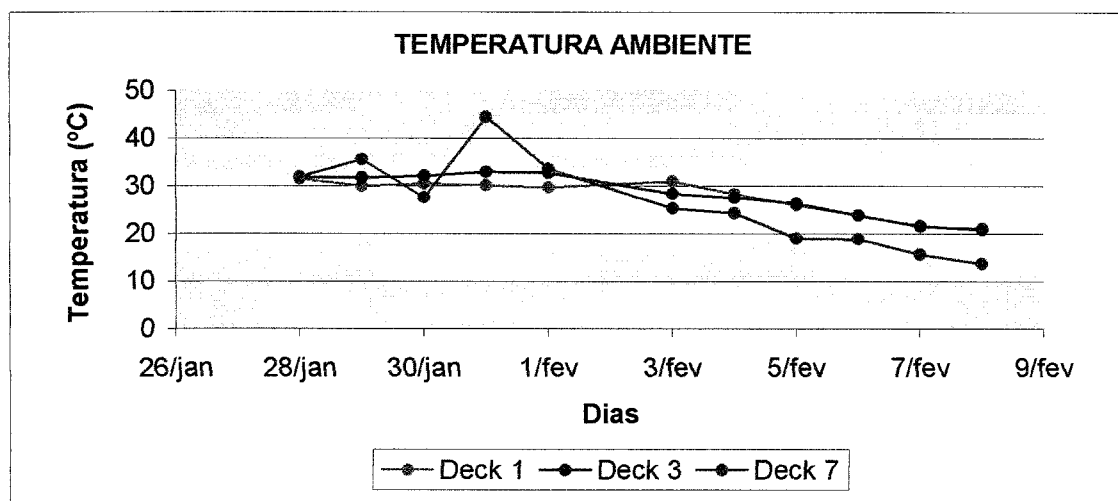


FIGURA 21. Valores de temperatura (°C) do ambiente, monitorados durante o percurso marítimo.

Os dados apresentados nas Figuras 20 e 21 são valores médios de determinações realizadas nas manhãs e tardes do percurso marítimo do navio em movimento.

10.1 ANÁLISE DE OCRATOXINA EM CAFÉ

10.1.2 Validação do método para detecção de ocratoxina A em café cru.

Para os testes de validação foram realizados os ensaios de recuperação e o cálculo do limite de detecção e quantificação. Foram testados 3 níveis de contaminação, 4, 8, 8 e 80 µg/kg e os respectivos valores de recuperação foram de 86,5, 78 e 81%. Os limites de detecção e quantificação foram obtidos pela análise de 10 amostras naturalmente contaminadas com baixos níveis de ocratoxina A (< 1 µg/kg). O limite de detecção foi obtido pela multiplicação do desvio padrão (0,058) das 10 repetições, pela multiplicação do número correspondente do valor na Tabela t-student para 99% de confiabilidade. Para as 10 repetições e nove grau de liberdade, o valor t-student foi 2,821. O limite de detecção do método foi 0,16 µg/kg. O limite de quantificação de 0,58 µg/kg. foi determinado como 10x o desvio padrão, conforme (KEITH *et al.*, 1983, LONG & WINEFORDNER, 1983).

10.1.3 Quantificação da Ocratoxina A no café

Para a quantificação da ocratoxina A foi utilizada padronização externa utilizando a curva padrão descrita na Figura 22. O resultado final, expresso em µg/kg, foi obtido pela divisão da massa de ocratoxina obtida na curva pela massa injetada (0,0312 g).

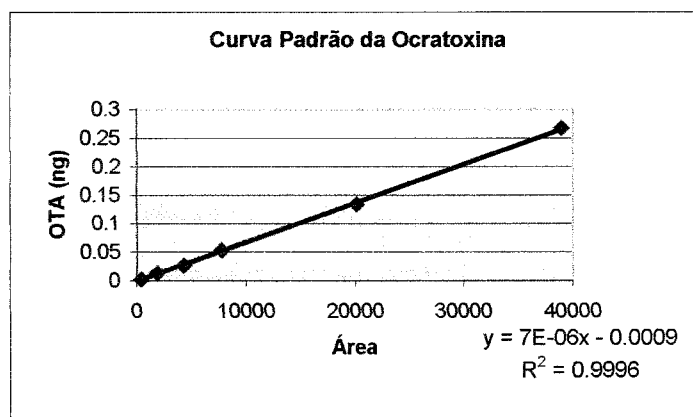


FIGURA 22. Curva padrão da ocratoxina A.

Nas Tabelas 4 e 5 seguintes são apresentadas as concentrações de ocratoxina A no café do container real e protótipo no início e final do experimento. Na Tabela 4 são apresentados dados de ocratoxina A determinados em sacas de café escolhidos aleatoriamente (miscelânea) durante a desova dos cafés do container. Foram sacos que

apresentavam defeitos (sacos empedradas, com a tinta de identificação desmanchada, etc.

TABELA 4. Concentração de Ocratoxina A em café transportado em containeres reais $\mu\text{g/Kg}$ (ppb)

Concentração de Ocratoxina A em café $\mu\text{g/kg}$ (ppb)			
Localização no navio	* Região dentro do container	Concentração de OTA ($\mu\text{g/kg}$)	
		Inicial	Final
Deck 7 Convés do navio	Inferior	ND	0,33
	Central	ND	<LD
	Superior	ND	7,91
	**Miscelânea.	NM	ND
Deck 3 Primeiro andar do navio	Inferior	1,65	0,17
	Central	0,19	<0,16
	Superior	1,03	0,74
	**Miscelânea.	NM	ND
Deck 1 Porão do navio	Inferior	1,54	0,17
	Central	0,30	0,26
	Superior	ND	0,28
	**Miscelânea.	NM	13,13

**** Miscelânea** - São sacos com defeitos amostrados aleatoriamente durante a desova. O limite de detecção (LD) do método foi $0,16\mu\text{g/kg}$.

TABELA 5. Concentração de Ocratoxina A em café transportado em contêineres protótipos µg/kg (ppb).

Concentração de Ocratoxina A em café µg/kg (ppb)			
Localização no navio	Região interna do contêiner	Concentração de OTA (µg/kg)	
		Inicial **	Final
Deck 7 Convés do navio	Inferior	0,20	2,85
	Central		1,01
	Superior		2,38
Deck 3 Primeiro andar do navio	Inferior	0,20	1,22
	Central		2,06
	Superior		0,45
Deck 1 Porão do navio	Inferior	0,20	0,20
	Central		1,29
	Superior		0,66

** Média de 6 determinações.

Os contêineres reais localizadas no deck 3 e deck 1 correspondem a amostras de 2 lotes diferentes. O contêiner real (localizado no deck 7) e os contêineres protótipos localizados nos três decks, correspondem a um único lote.

É válido ressaltar que na etapa de reensacagem (colocação de café em sacos novos) os cafés juntam-se em um só lote e a possibilidade de se ter amostras homogêneas é maior.

De acordo com as Tabelas 4 e 5 houve um pequeno aumento de ocratoxina A durante o transporte marítimo, principalmente nos contêineres transportados no deck 7 (convés do navio) na região superior, a mais próxima do espaço livre. Neste local as oscilações de temperaturas foram mais drásticas e como consequência a difusão de umidade dentro do contêiner foi mais dinâmica que nos outros decks, principalmente no percurso marítimo.

Situação similar ocorreu na região superior do contêiner protótipo. No contêiner protótipo localizado no deck 7 houve uma maior produção de ocratoxina que no do deck 3 e deck 1 respectivamente. Pelos resultados apresentados na Tabela 5, o deck 1 seria o

local mais apropriado para transportar os containeres, as oscilações de temperatura são menos drásticas, e o micro ambiente inter-granular apresenta menores condições para o crescimento do fungo *A. ochraceus*.

Pelo perfil dos dados obtidos a condensação e ganho de umidade provavelmente ocorreram quando o navio estava chegando na Itália, principalmente nas etapas de desembarque, armazenamento no porto e percurso ferroviário. As Figuras 38, 39 e 40 reforçam este fato, sendo que a temperatura do ponto de orvalho se reduz drasticamente em relação a temperatura do espaço livre dos containeres no período de chegada a Itália.

Os anexos apresentados descrevem graficamente a cinética de umidade e temperatura durante todo o percurso desde Leme até Trieste.

ANEXOS

As Figuras são apresentadas em forma original , sem modificação nenhuma. Todos os sensores foram calibrados por laboratórios certificados pelo Inmetro. Em alguns casos os sensores deram sinais elétricos momentâneos ou que não foram considerados no análise dos dados. A desova ocorreu no dia 19/02/2004, pelo que os dados devem ser considerados até essa data. O programa inserido nos sensores tem um softer que permite filtrar os dados e enfeitar os gráficos, mais isso impediria o verdadeiro histórico de registro dos dados, além de em certos casos impedir a realização de uma boa análise.

A Figura 23 tem uma finalidade didática, mostra o percurso total dividido em três etapas principais: armazenamento em Santos antes do embarque, percurso marítimo, armazenamento no porto de destino e percurso ferroviário.

As Figuras 24-59 apresentam principalmente a cinética de temperatura e umidade relativa no ambiente externo, espaço livre e regiões internas da container, sendo que:

As Figuras 24-32 descrevem a cinética da temperatura das regiões superior e inferior dos containeres nos diferentes locais do navio. As Figuras 33-41 mostram a cinética de umidade relativa. As Figuras 42-44 mostram a cinética do espaço livre dos diferentes containeres, apresentando uma verdadeira fotografia do acontecido em todo o trajeto nessa região.

As Figuras 45-47 apresentam as mesmas figuras anteriores acrescentando os dados de umidade relativa das regiões superior e inferior dos containeres.

As Figuras 48-51 descrevem claramente as diferenças de cinética de temperatura e umidade relativa entre as regiões dos containeres.

As Figuras 52-59 descrevem paralelamente o comportamento de cinética de temperatura e umidade relativa dos containeres reais e protótipos.

As Figuras 52-54 evidenciam o comportamento similar da temperatura entre container real e protótipo durante o armazenamento no porto e durante o percurso marítimo e também sugerem que esta tendência similar se deve manter após esta etapa.

As Figuras 60-62 apresentam uma outra visão do ensaio e inclui o dato de ponto de orvalho do espaço livre dos três containeres monitorados assim como inclui os dados de temperatura externa dos D1 e D3 que foram monitorados só durante o percurso marítimo e com medidores manuais. Estes resultados são importantes pois fortalecem a discussão de que o período crítico de aumento de umidade do café ocorrem no final do percurso marítimo e início das etapas de desembarque em Itália. Sendo que uma temperatura maior à temperatura do ponto de orvalho desencadeia a condensação, este tipo de gráfico se torna útil para avaliar uma situação de monitoramento de carga sujeita a ganho de umidade por condensação.

Tempos de armazenamento longos nos portos do desembarque, armazenamentos e transporte inadequados, assim como longos períodos de tempo antes da desova podem ser de alto risco para a carga. Períodos de quarentena podem-se constituir em barreiras não só políticas mais também técnicas aos nossos produtos, pois as condições climáticas durante o inverno do hemisfério norte são propícias para favorecer a condensação dentro de carga de grãos provenientes do trópico principalmente em lugares de armazenamento inadequados.

11. CONCLUSÕES

A ocorrência do *A. ochraceus* em amostras de café, sugere que medidas preventivas sejam tomadas visando manter condições adversas para o crescimento do fungo.

As variações e oscilações de temperatura podem ocorrer durante, antes e após o percurso marítimo, isto quer dizer, que o fluxo de convecção do ar com umidade é dinâmico e pode representar variações de umidade na carga quando oscilações drásticas de temperatura acontecerem em quaisquer etapa.

A produção de ocratoxina pelo fungo, pode ocorrer no percurso marítimo, principalmente no café transportado no convés do navio, No entanto em percursos marítimos maiores na mesma época do ano, o café transportado nos deck 3 e 1 podem ser afetados com uma condensação mais drástica e como consequência um aumento na produção de ocratoxina A. Cabe no entanto ressaltar que pelos dados obtidos a condensação ocorre no final do percurso marítimo e início das etapas de desembarque, armazenamento e transporte ferroviário do café.

12. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CODEX – Codex Committee on food additives and contaminants - Thirty-first Session, March, 1999.

CREPPY, E.E. Update of survey, regulation and toxic effects of mycotoxins in Europe **Toxicology Letters**, Amsterdam, v. 127, p. 19-28, 2002.

ILLY, A; VIANI, R. **Espresso Coffee**: The chemistry of Quality. 2ed. Ed. Academic Press Limited, 1996. 253p.

JOOSTEN, H.M.L.J.; GOETZ, J.; PITTET, A.; SCHELLENBERG, M.; BUCHELI, P. Production of ochratoxin A by *Aspergillus carbonarius* on coffee. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 65, p. 39-44, 2001.

LAZZARI, F. A. Umidade, Fungos e Micotoxinas na Qualidade de Sementes Grãos e Rações. 2 ed. Curitiba Ed. do autor, 1997. 134p.

LEE, C. Green Coffee Storage: A factor that ought not be overlooked. **Tea & Coffee Trade Journal**, February, 1999.

PFEIFF, L.H. Question of the month. **Tea & Coffee Trade Journal**. v. 170, p.84, 1998.

PITTET, A.; TORNARE, D.; HUGGETT, A. & VIANI, R. Liquid chromatographic determination of ochratoxin A in pure and adulterated soluble coffee using and immunoaffinity column cleanup procedure. **Journal Agricultural Food Chemistry**, Washington, v. 44, p. 3564-3569, 1996.

PIXTON, M.S.W. The importance of moisture and equilibrium relative humidity in stored products. **Tropical Stored Products Information**, London, v. 43, p. 16-49, 1982.

SAUER, D.B. Effects of fungal deterioration on grain nutritional value, toxicity, germination. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.7, p. 267-275, 1988.

SHARP, A. K & VAN S. GREVE J. Trial shipment with Bank line of cocoa, coffee and Copra in ventilated containers, Papua Ne Guinea- Europe. **Division of Food Research Technical Paper**, Melbourne, v. 44, p. 1-42, 1984.

SHARP, K. A. The prevention of "sweat damage" to canned food products shipped in containers. **Food Technology in Australia**, Sidney, v. 30, n. 3, p. 89-93, 1978.

TEIXEIRA, A. Assicafe - Informação Pessoal - São Paulo - 2002.

ANEXOS

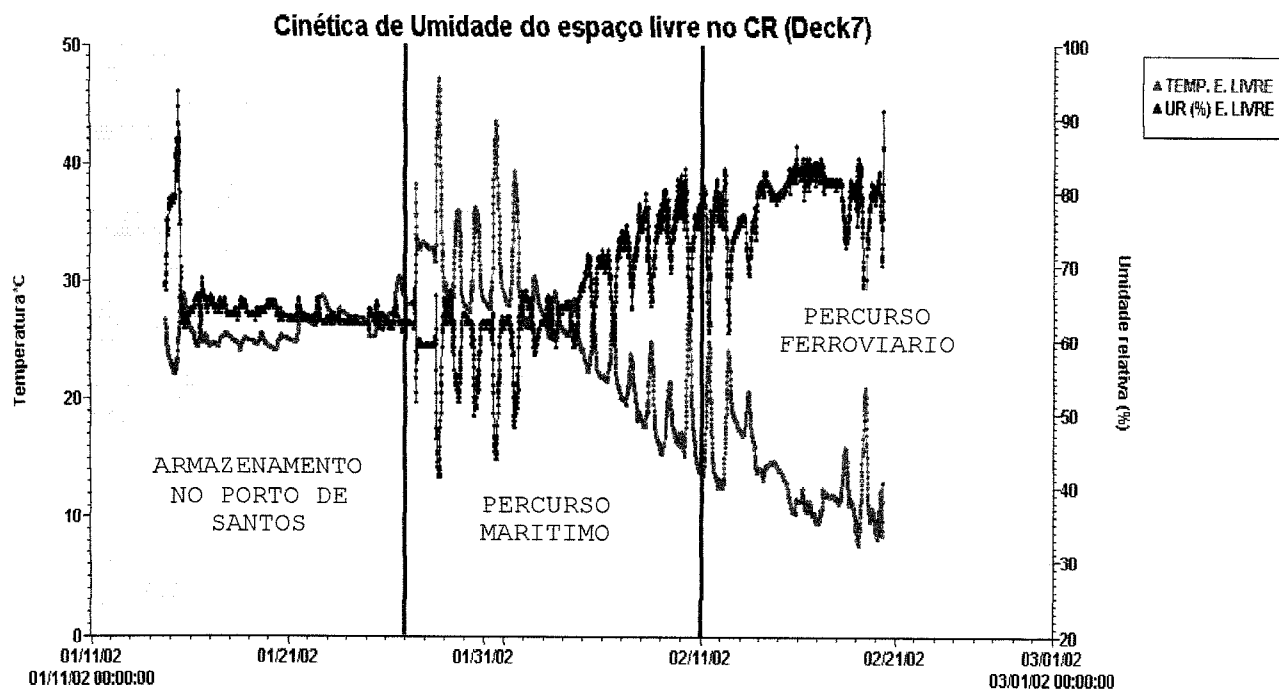


FIGURA 23. Descrição das principais etapas do percurso. Figura descritiva.

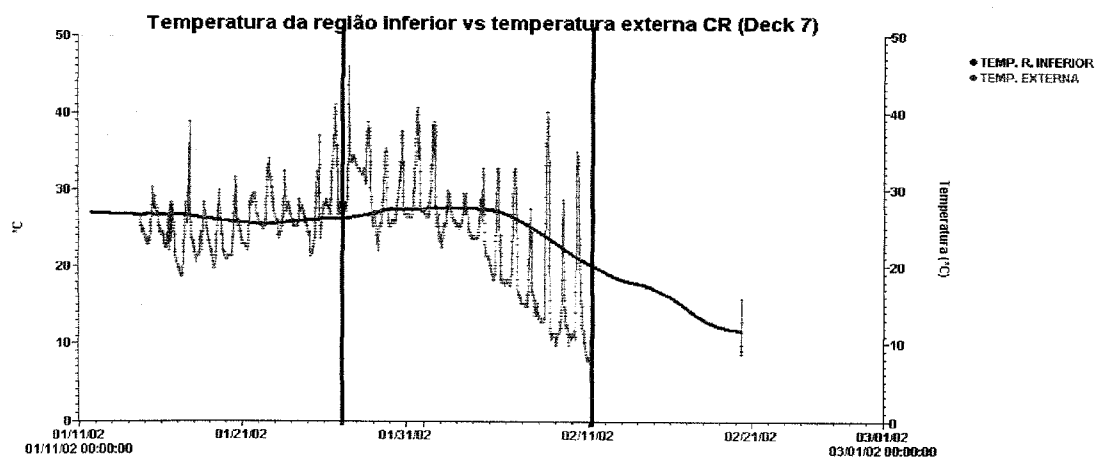


FIGURA 24. Temperatura da região inferior e externa do container localizado no convés do navio.

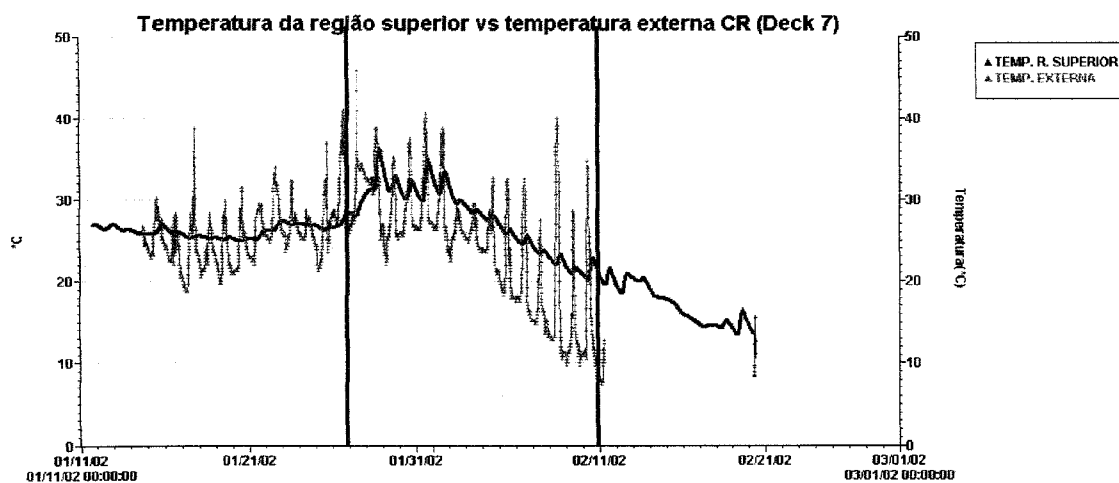


FIGURA 25. Temperatura da região superior e externa do container localizado no convés do navio.

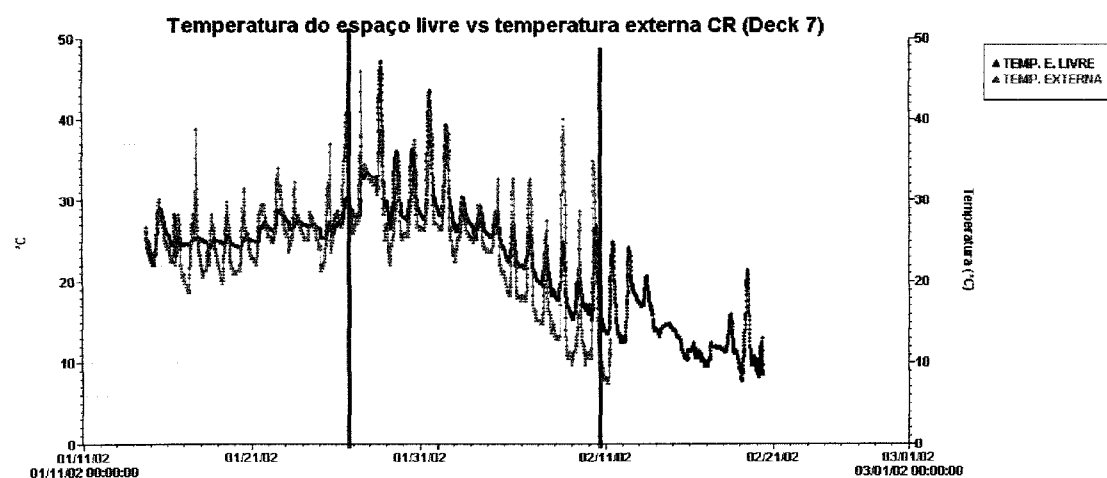


FIGURA 26. Temperatura externa e do espaço livre do container localizado no convés do navio

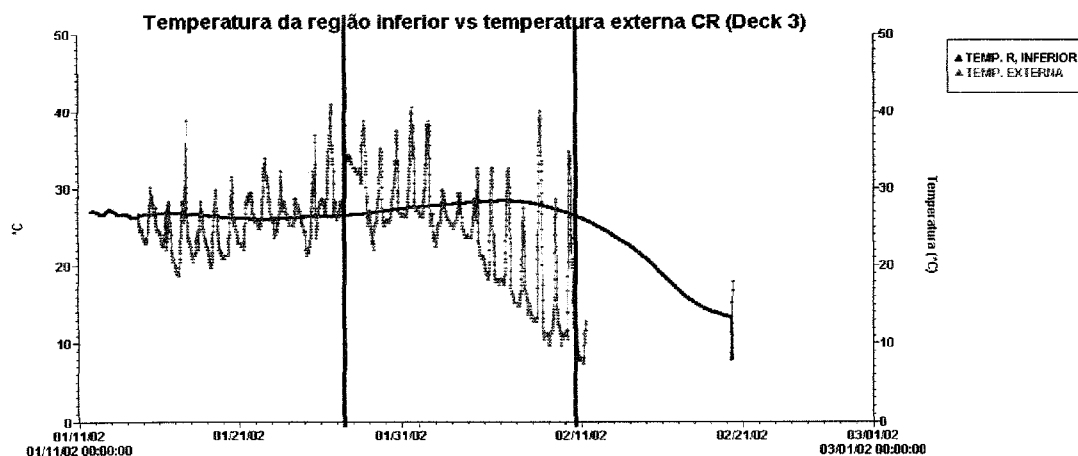


FIGURA 27. Temperatura da região inferior e externa do container localizado no primeiro andar do navio.

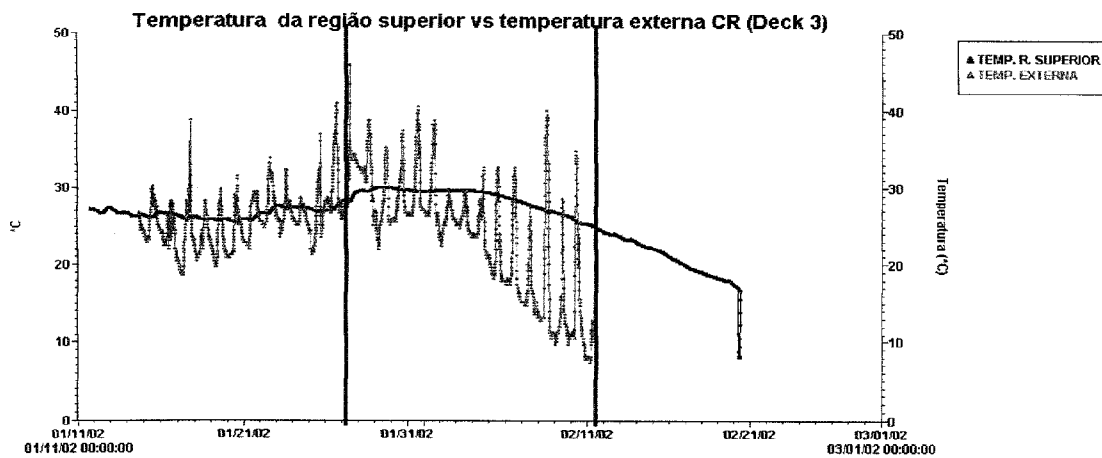


FIGURA 28. Temperatura da região superior e externa do container localizado no primeiro andar do navio.

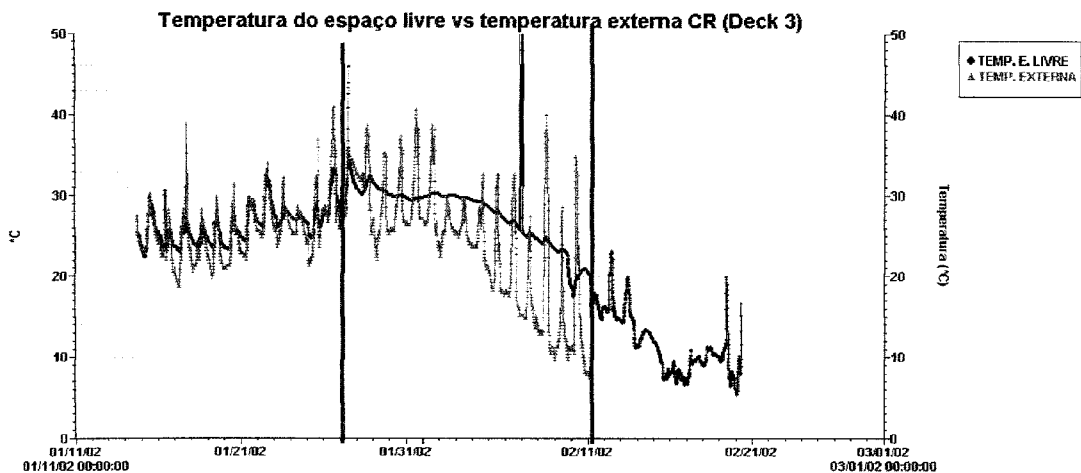


FIGURA 29. Temperatura externa e do espaço livre do container localizado no primeiro andar do navio.

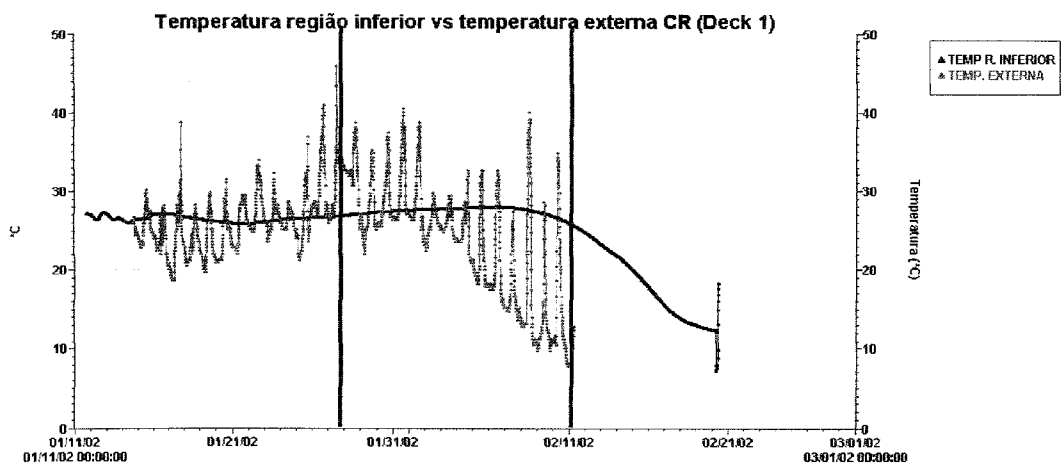


FIGURA 30. Temperatura da região inferior e externa do container localizado no porão do navio.

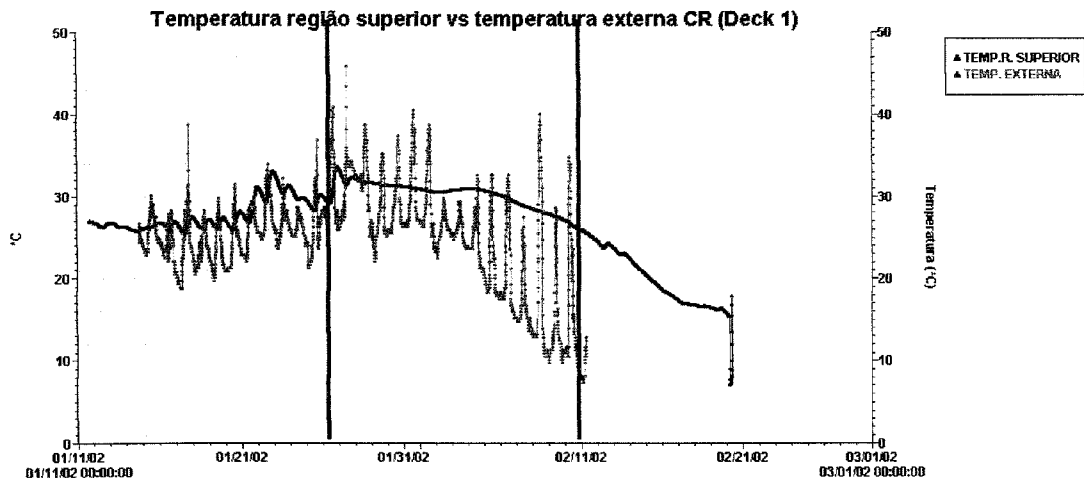


FIGURA 31. Temperatura da região superior e externa do container localizado no porão do navio

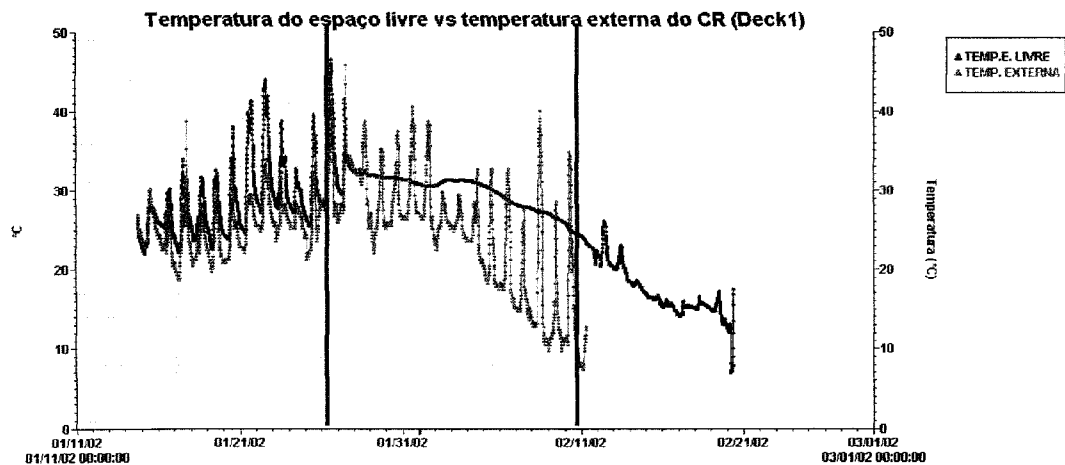


FIGURA 32. Temperatura externa e do espaço livre do container localizado no porão do navio.

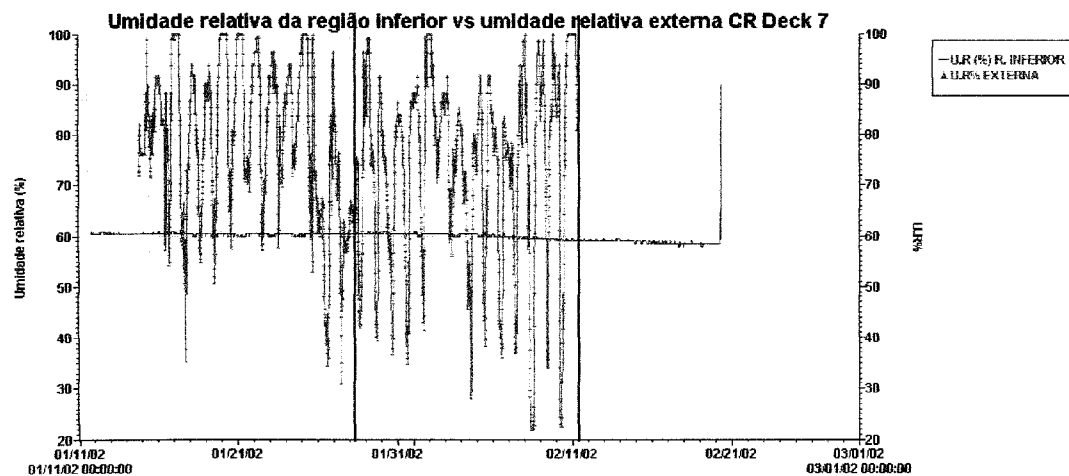


FIGURA 33. Umidade relativa da região inferior e externa do container localizado no convés do navio

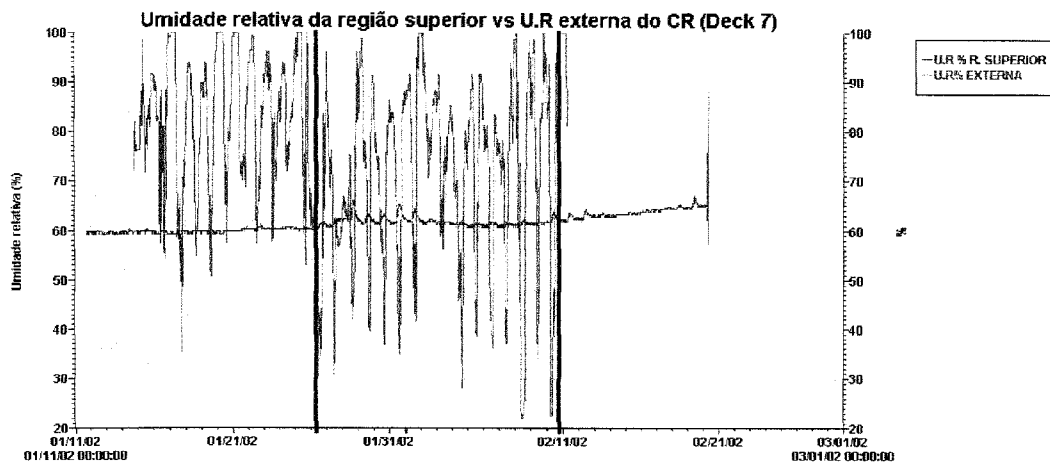


FIGURA 34. Umidade relativa da região superior e externa do container localizado no convés do navio

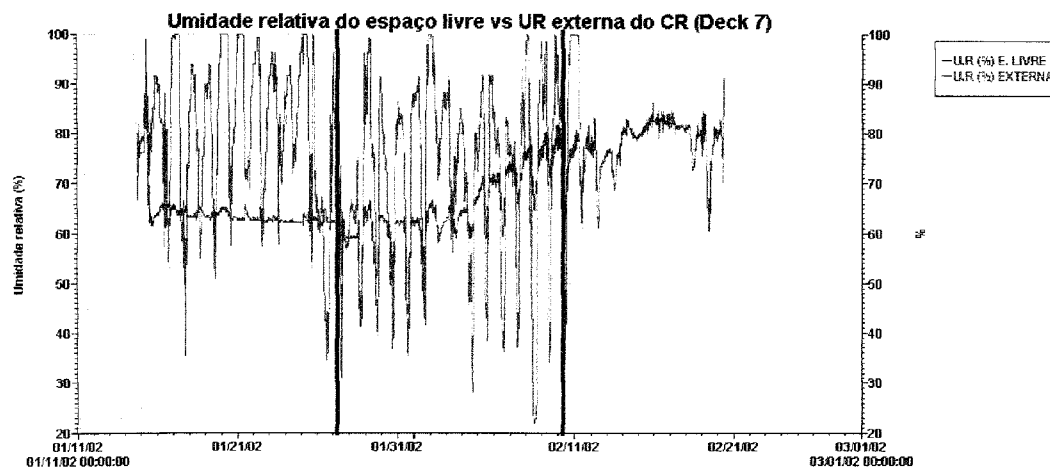


FIGURA 35. Umidade relativa do espaço livre e externa do container localizado no convés do navio.

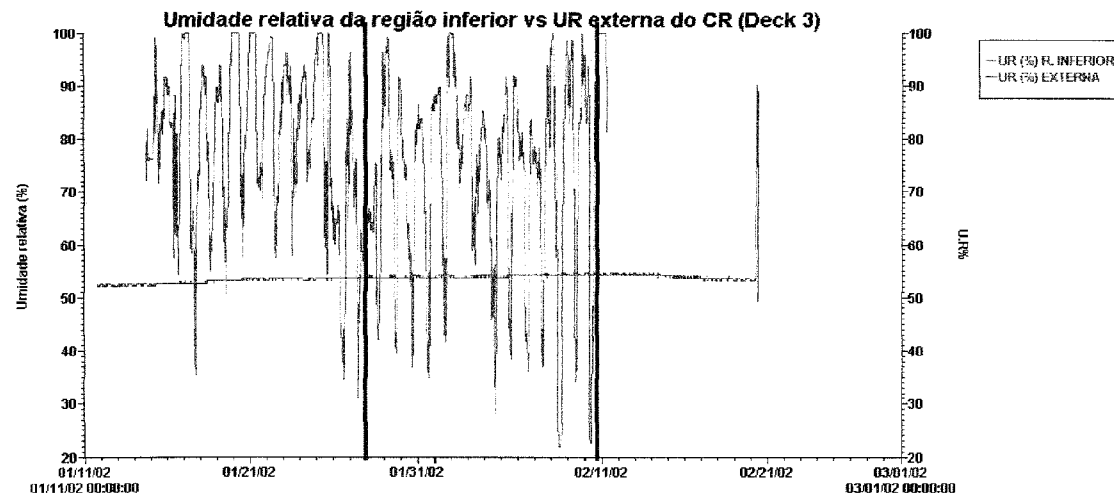


FIGURA 36. Umidade relativa da região inferior e externa do container localizado no primeiro andar do navio

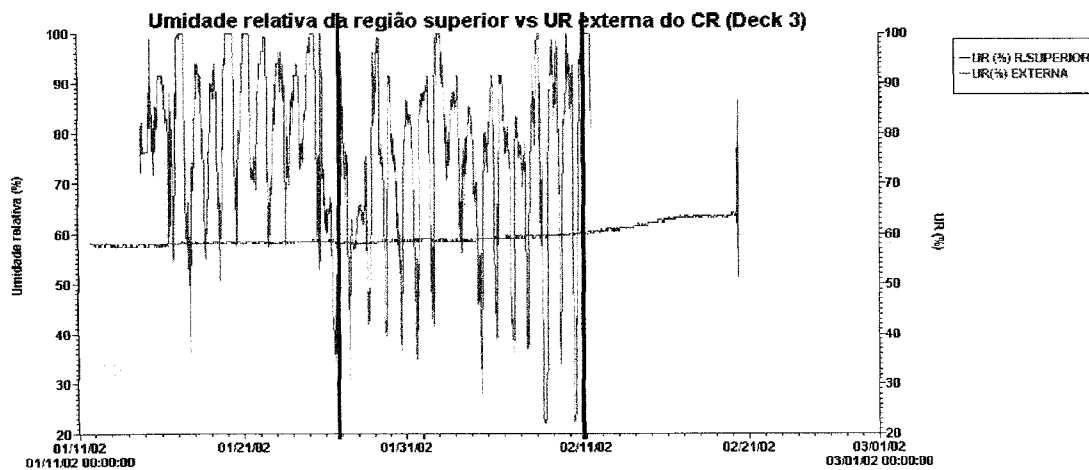


FIGURA 37. Umidade relativa da região superior e externa do container localizado no primeiro andar do navio.

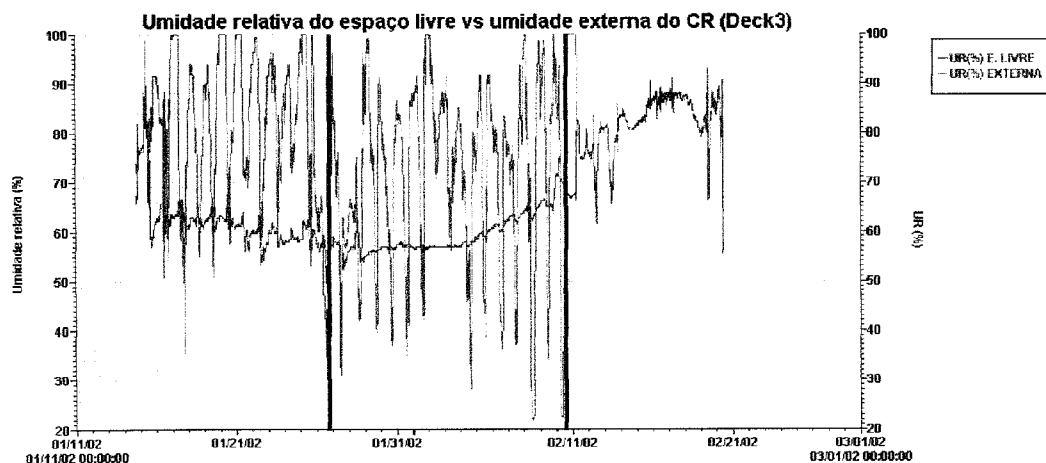


FIGURA 38. Umidade relativa do espaço livre e externa do container localizado no primeiro andar do navio.

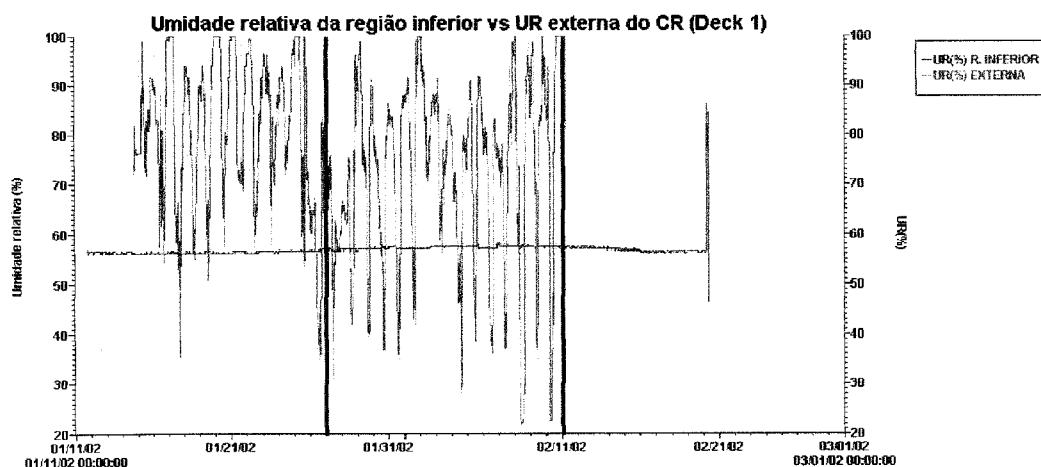


FIGURA 39. Umidade relativa da região inferior e externa do container localizado no porão do navio.

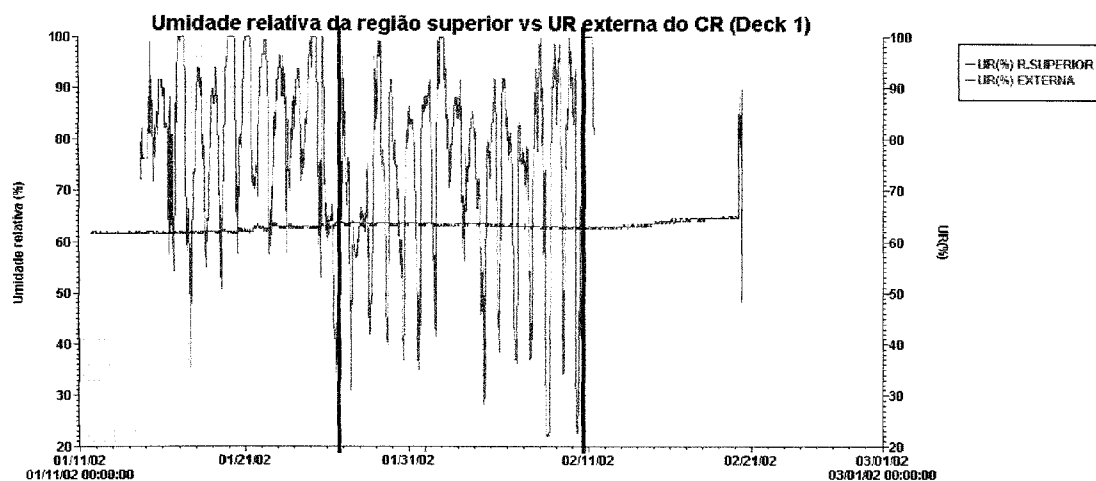


FIGURA 40. Umidade relativa da região superior e externa do container localizado no porão do navio.

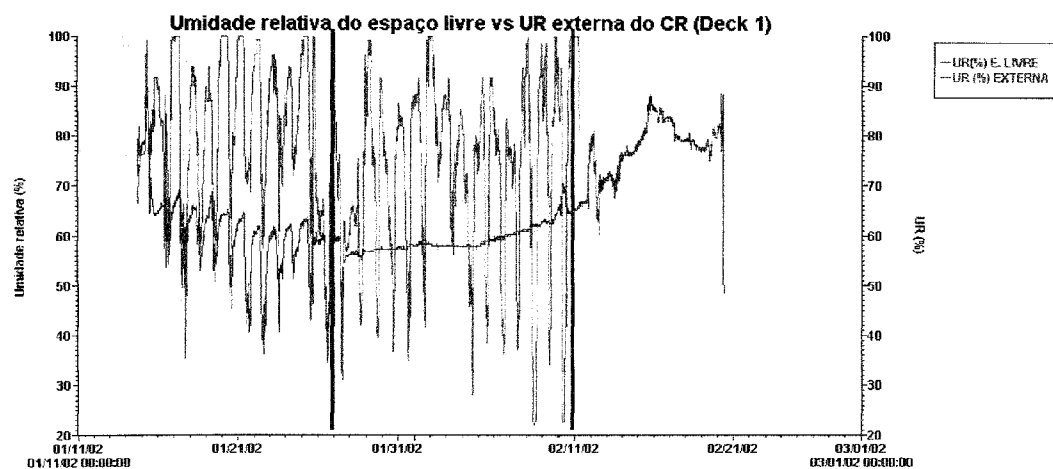


FIGURA 41. Umidade relativa do espaço livre e externa do container localizado no porão do navio.

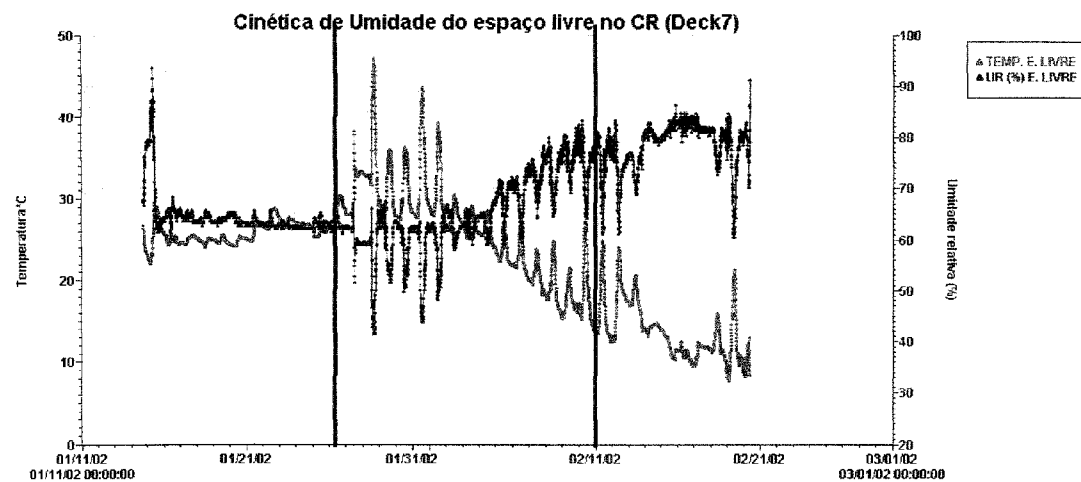


FIGURA 42. Temp (°C) e UR(%) do espaço livre do container localizado no convés do navio.

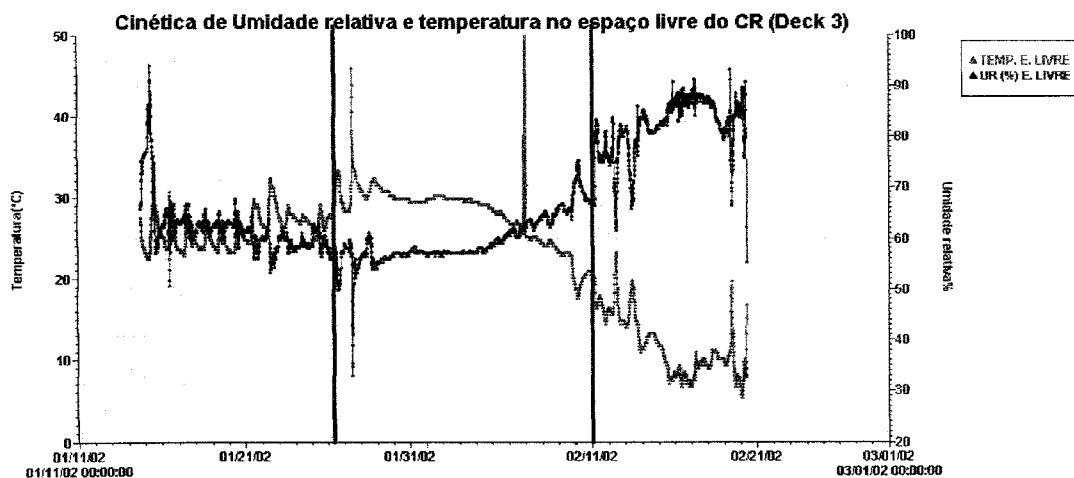


FIGURA 43. Temp (°C) e UR(%) do espaço livre do container localizado no primeiro andar do navio.

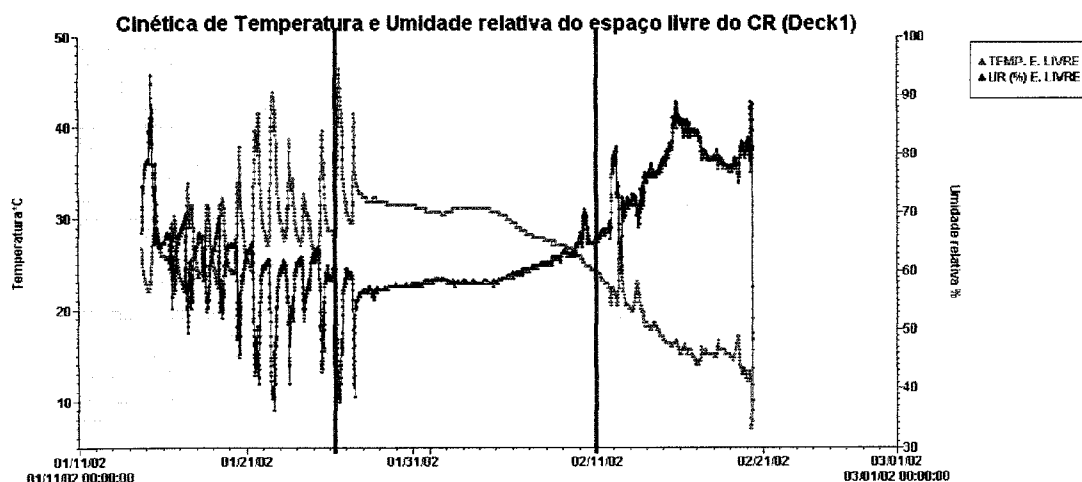


FIGURA 44. Temp (°C) e UR(%) do espaço livre do container localizado no porão do navio.

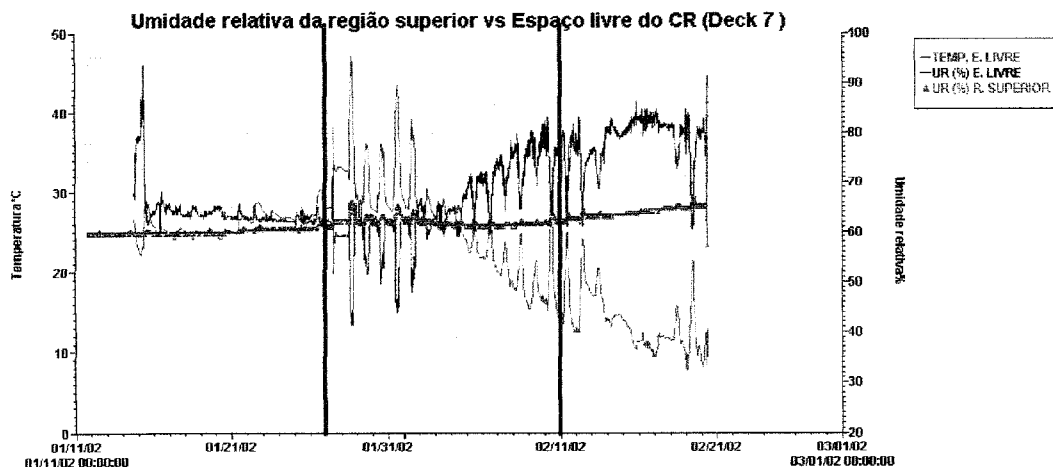


FIGURA 45. UR (%) da carga próxima ao espaço livre no container localizado no convés do navio.

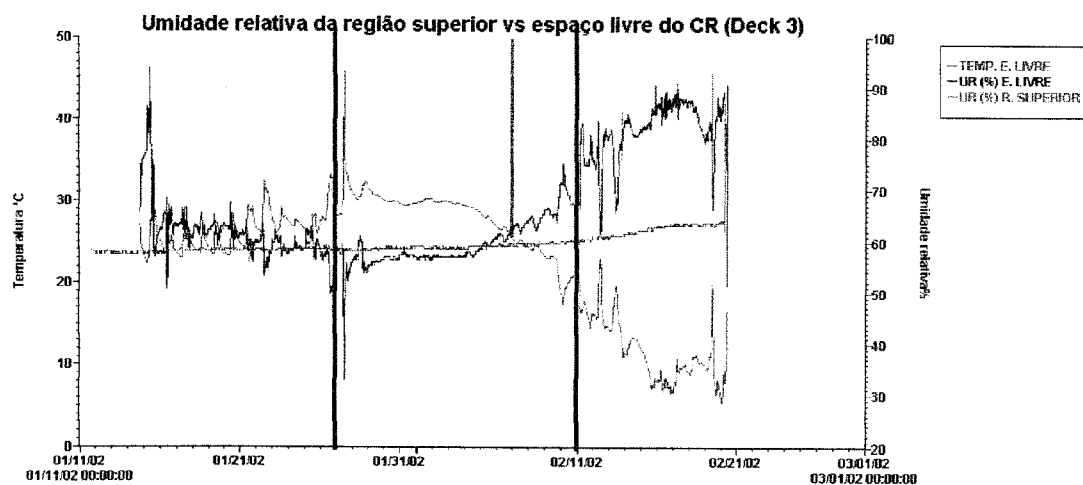


FIGURA 46. UR (%) da carga próxima ao espaço livre no container localizado no primeiro andar do navio.

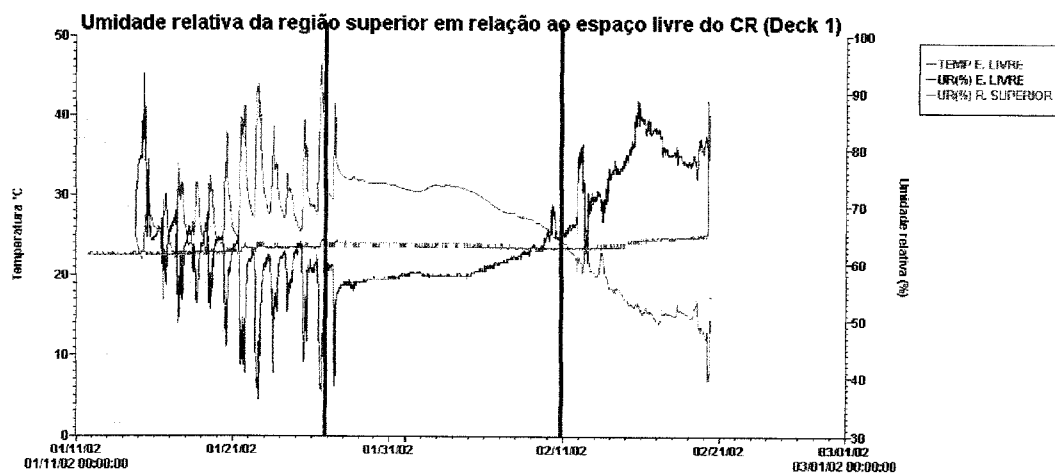


FIGURA 47. UR (%) da carga próxima ao espaço livre no container localizado no porão do navio.

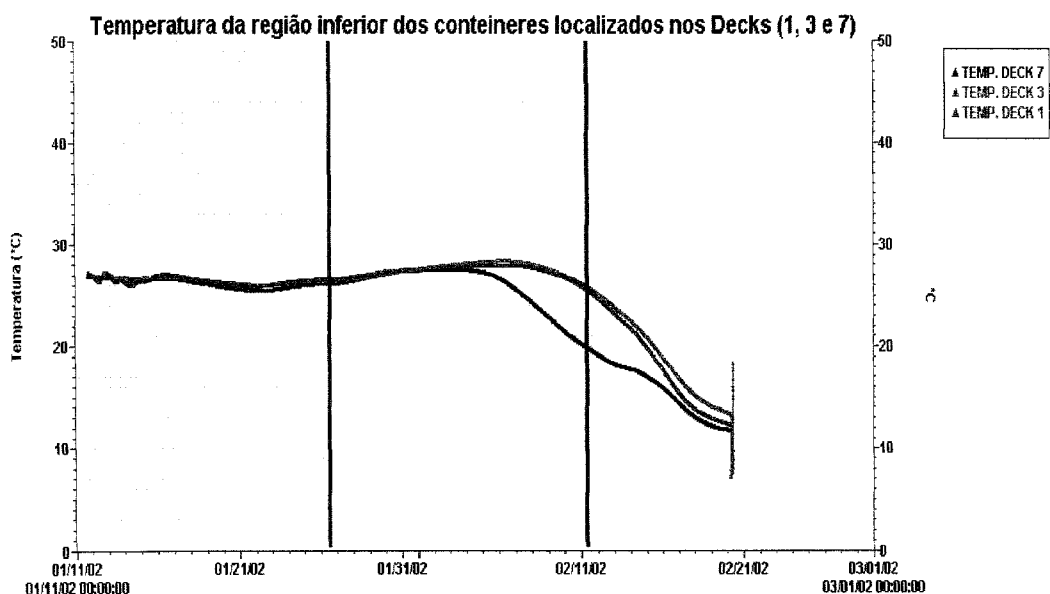


FIGURA 48. Cinética da temperatura na região superior dos contêineres localizados no porão (Deck 1), primeiro andar (Deck 3) e convés (Deck 7) do navio.

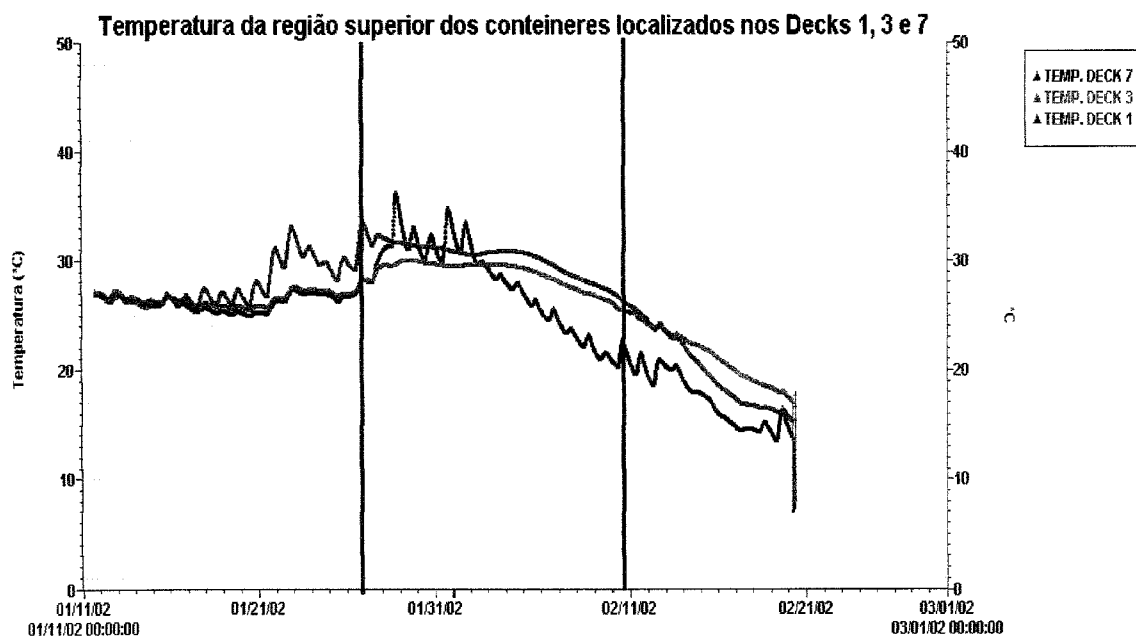


FIGURA 49. Cinética da temperatura na região superior dos contêineres localizados no porão (Deck 1), primeiro andar (Deck 3) e convés (Deck 7) do navio.

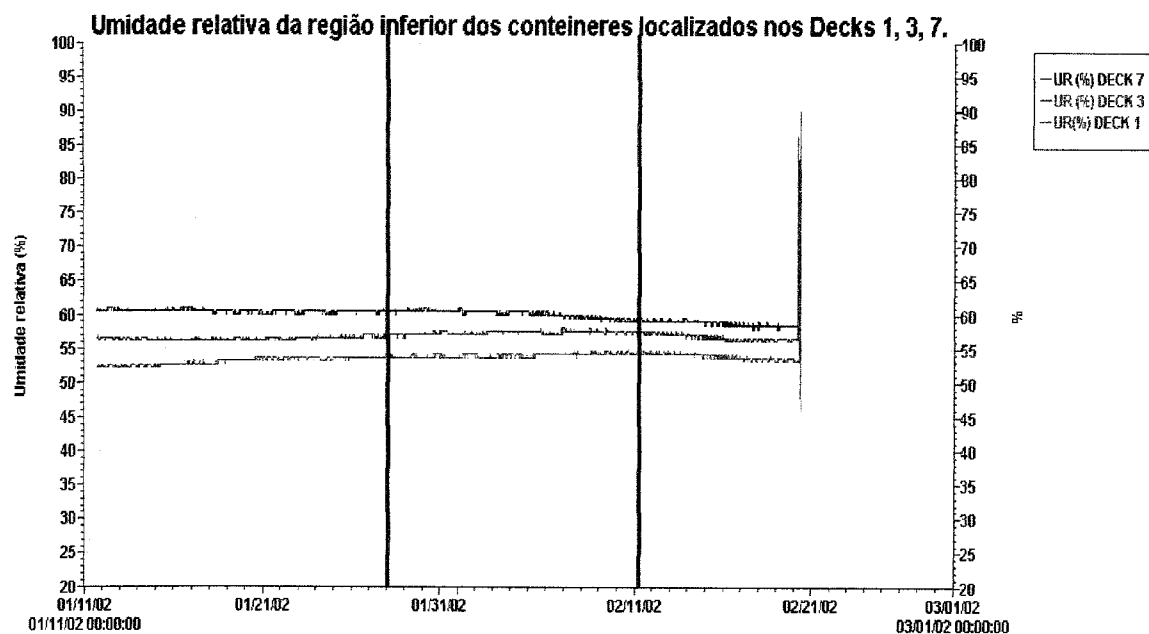


FIGURA 50. Cinética da Umidade relativa na região inferior dos containers localizados no porão (Deck 1), primeiro andar (Deck 3) e convés (Deck 7) do navio.

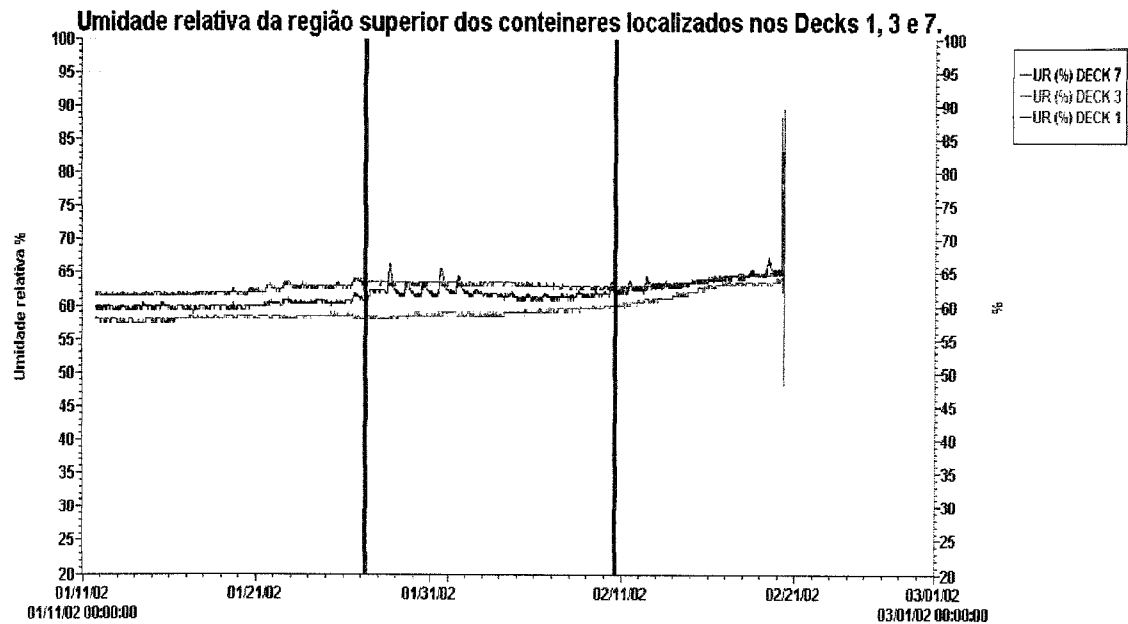


FIGURA 51. Cinética da Umidade relativa na região superior dos containers localizados no porão (Deck 1), primeiro andar (Deck 3) e convés (Deck 7) do navio.

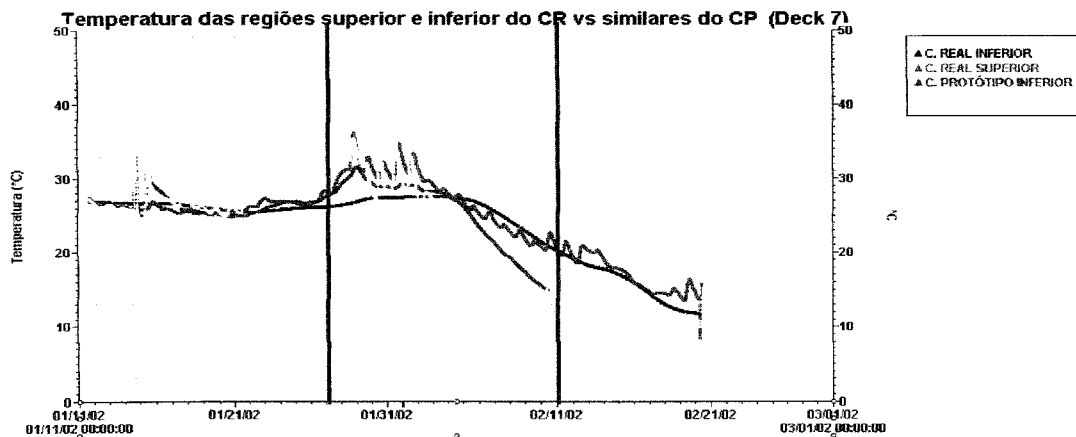


FIGURA 52. Temperatura da região superior e inferior de containers reais e protótipos. (Convés)

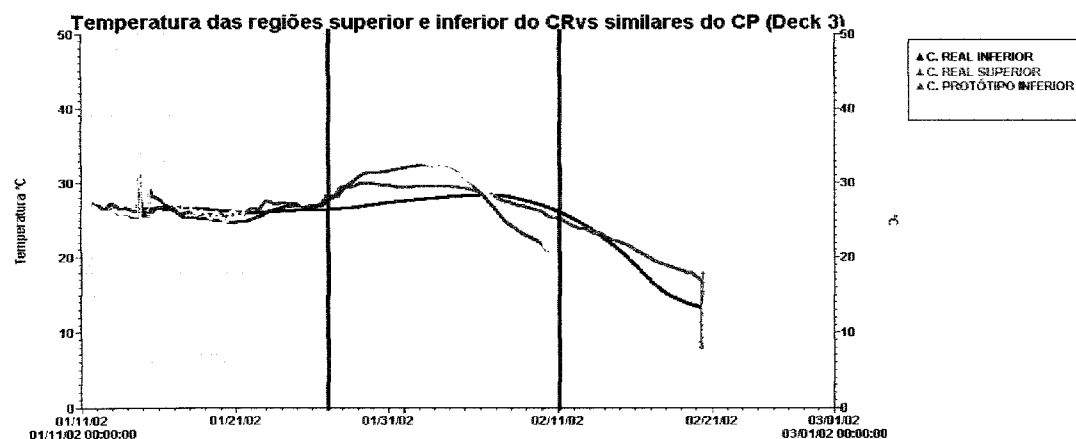


FIGURA 53. Temperatura da região superior e inferior de containers reais e protótipos. (1 andar)

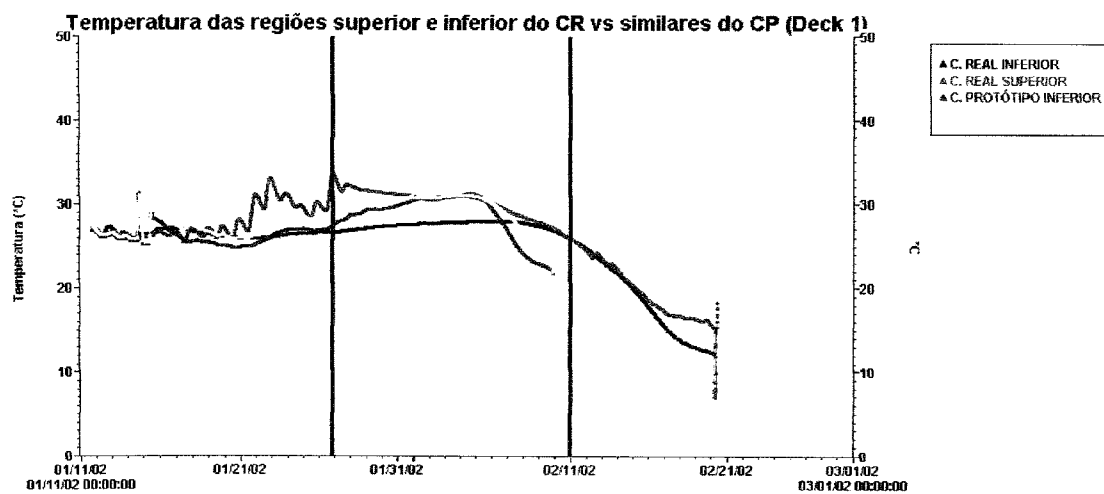


FIGURA 54. Temperatura da região superior e inferior de containeres reais e protótipos. (Porão)

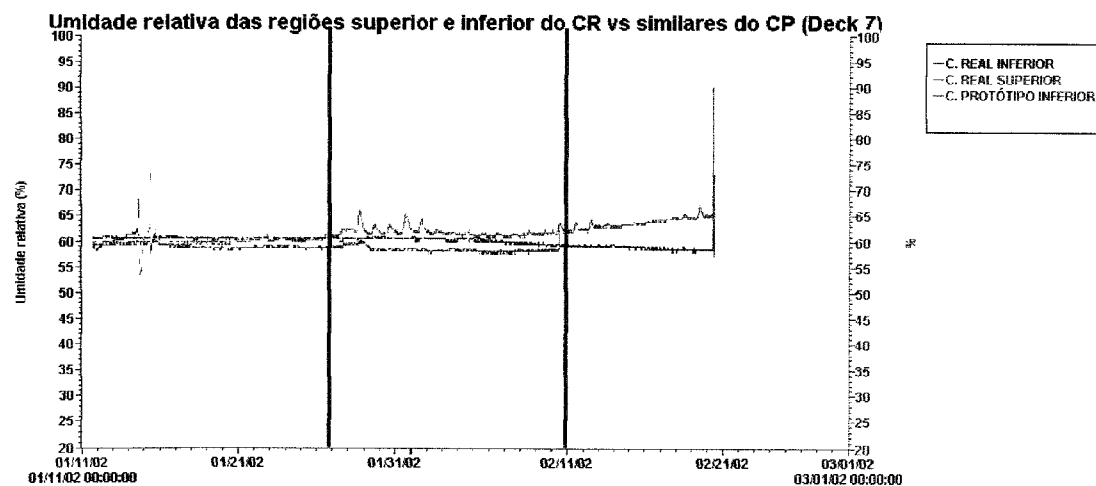


FIGURA 55. UR (%) da região superior e inferior de containeres reais e protótipos. (Convés)

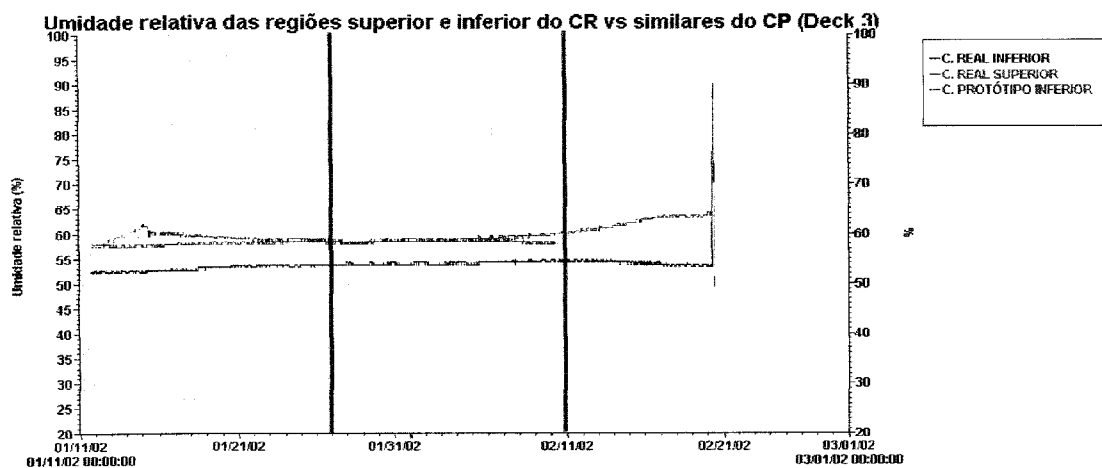


FIGURA 56. UR (%) da região superior e inferior de containeres reais e protótipos (Primeiro andar)

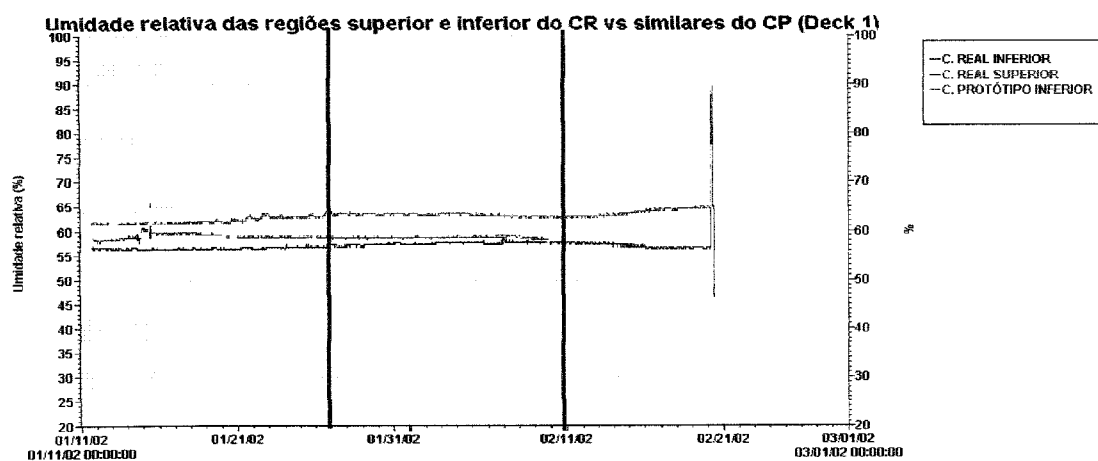


FIGURA 57. UR (%) da região superior e inferior de containeres reais e protótipos. (Porão)

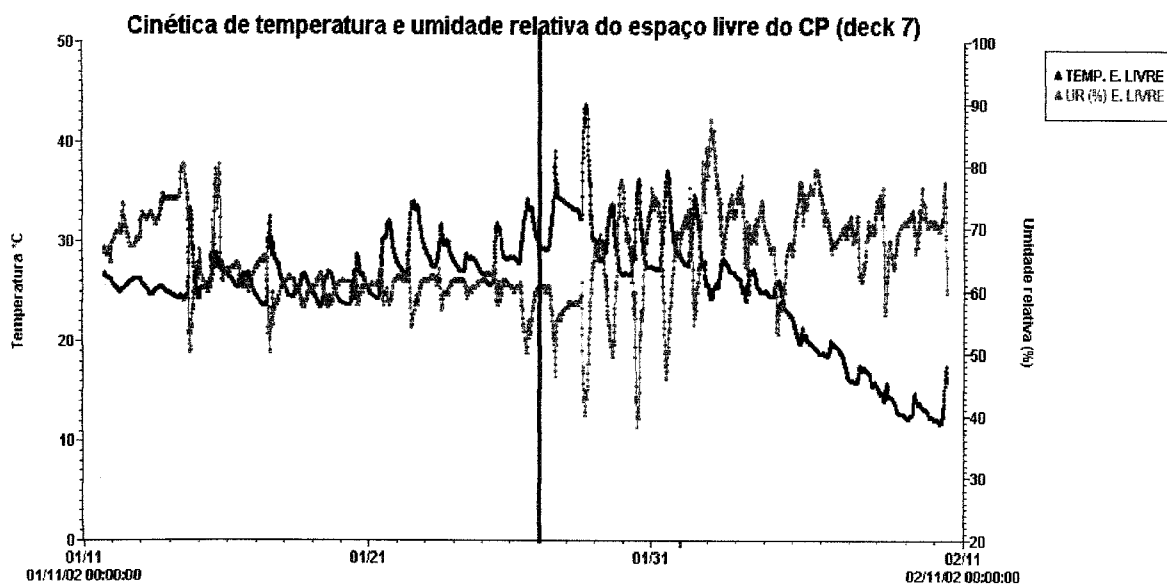


FIGURA 58. Cinética de Umidade relativa e temperatura no espaço livre do container protótipo localizado no convés (Deck 7)

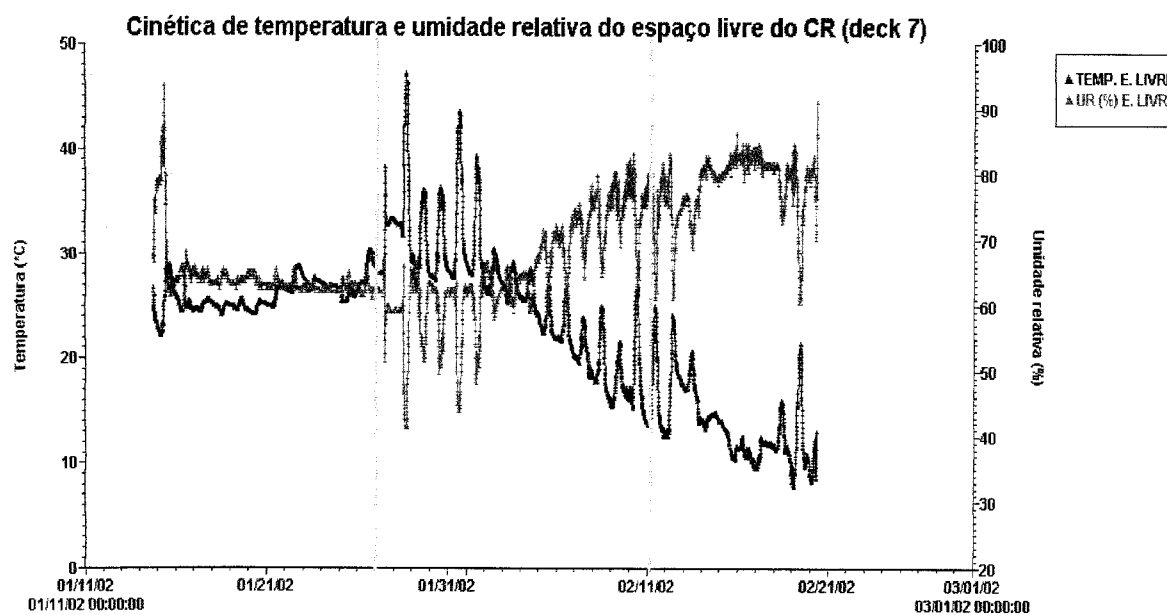
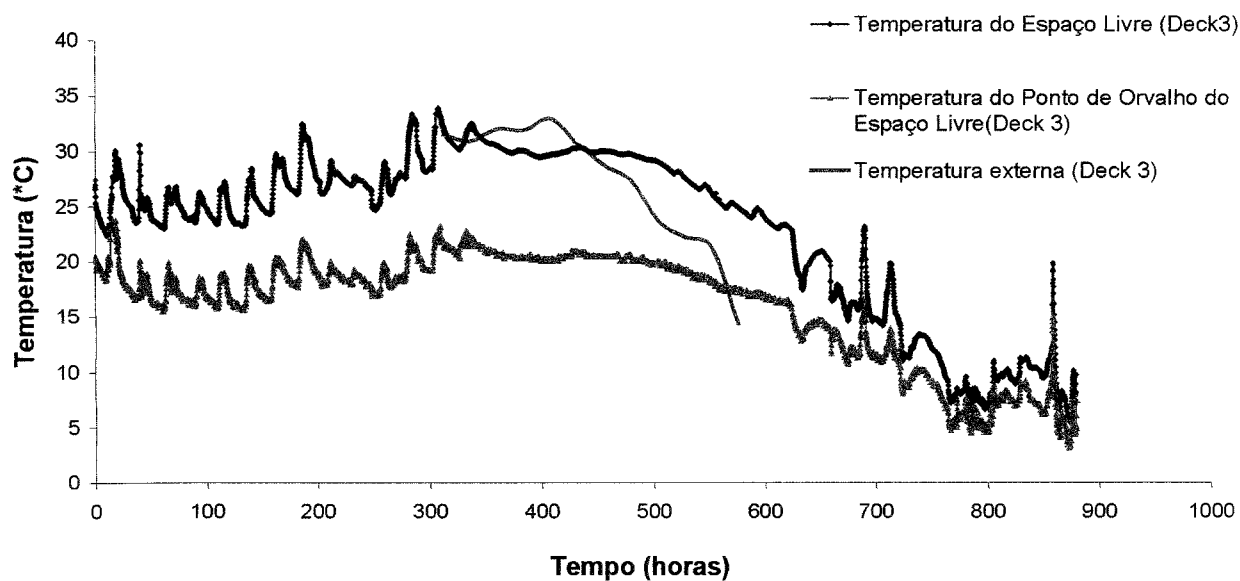
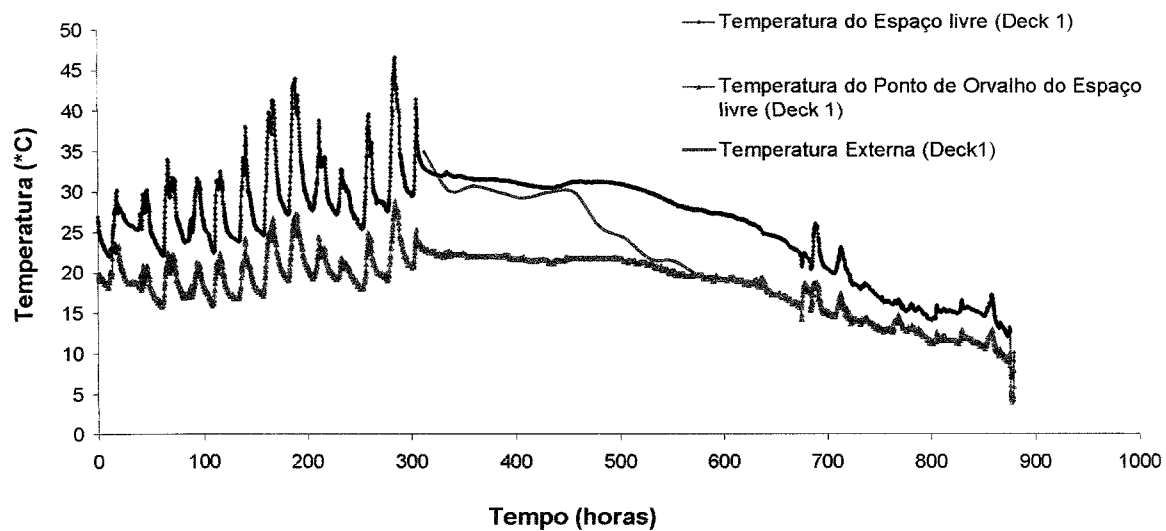


FIGURA 59. Cinética de Umidade relativa e temperatura no espaço livre do container real localizado no convés (Deck 7)



FIGURAS 60 e 61. Cinética de Temperatura do Deck 1 e do Deck3.

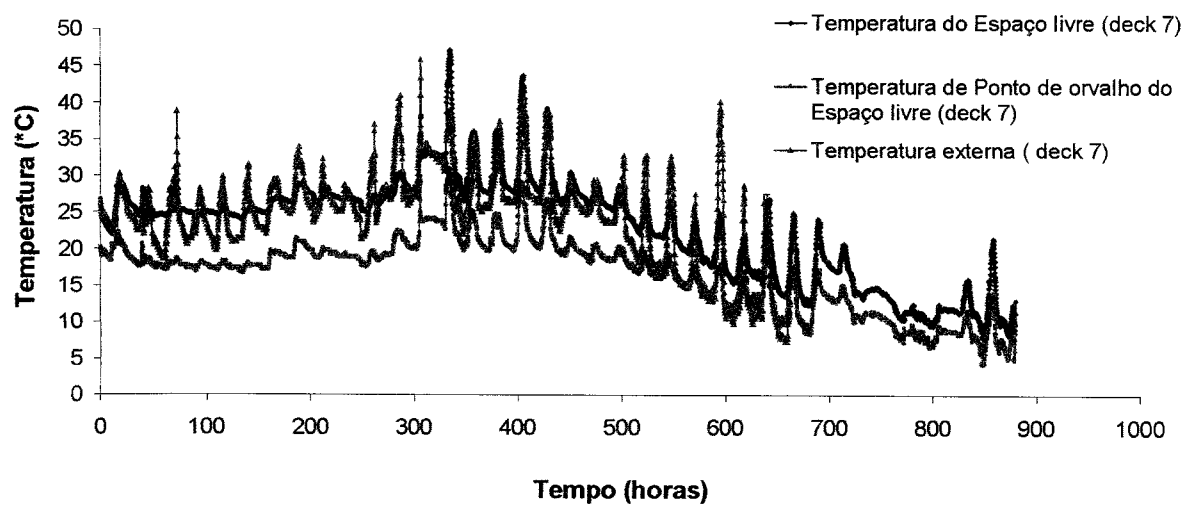


FIGURA 62. Cinética de Temperatura do Container localizado no Deck7

ENSAIOS DE PREVENÇÃO DE CONDENSAÇÃO EM CONTAINERES PROTÓTIPOS

1. INTRODUÇÃO

Mudanças drásticas de temperatura ocorrem em rotas marítimas do hemisfério Sul até o Norte, estas mudanças favorecem a formação de condensado nas paredes internas dos containeres não ventilados ou parcialmente ventilados. A coalescência deste condensado sugere que a carga dentro do container pode ganhar umidade devido às condições climáticas incontroláveis. No trajeto marítimo (Santos-Livorno) realizado neste projeto, constataram-se a formação de condensado nas paredes internas dos containeres, constatando-se também um aumento da umidade do café. O presente ensaio teve por objetivo utilizar dois procedimentos alternativos de prevenção, que diminuam o efeito do condensado na carga do café. O primeiro foi a utilização de isopor nas paredes internas do container com a finalidade de criar um ambiente isotérmico, baseado nas propriedades isolantes do isopor. Procurou-se neste ensaio reduzir o gradiente de temperatura entre o exterior e o interior do container. A segunda alternativa consistiu na utilização do filme “Tyvec” que é um material semelhante ao papel Kraft. O Tyvec é um material que tem propriedades de barreira à água em estado líquido, permitindo a passagem do vapor de água. A utilização do Tyvec seria uma alternativa ao uso do papel Kraft usualmente utilizado que não tem propriedades de barreira à água. Havendo a formação de condensado dentro do container, a água em seu estado líquido não entraria em contato com a carga prevenindo, o ganho de umidade, o crescimento de fungos, a descoloração do grão, bem como a formação de odores estranhos formados pelo umedecimento do grão. Ambas alternativas foram comparadas com o procedimento rotineiro de transporte que neste ensaio foi denominado como controle.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Neste ensaio foram utilizados cafés arábica proveniente das fazendas do Estado de São Paulo. Novecentos saquinhos de aproximadamente 2 quilos cada um foram acondicionados em três containeres protótipos (aprox. 250 saquinhos por container).

2.1 Acondicionamento dos Containeres Protótipos

Foram utilizados três containeres protótipos de aço “Corten”, dimensões de (1,86 x 0,73 x 0,73 m), os mesmos que foram utilizados no ensaio de transporte marítimo na rota Santos-Livorno. O container protótipo teve como objetivo simular um segmento do container real. A sua altura na vertical era próxima à altura do container real na posição horizontal. Os cafés foram acondicionados nos três containeres com os seguintes ensaios: (i) Controle, (ii) Tyvec e (iii) Isopor. O controle foi acondicionado com três placas de isopor de espessura de 50 mm, nas laterais e no fundo da região interna do container. O teto e a porta do container não foram acondicionados. O café foi colocado no container e envolvido com papel Kraft. O segundo container foi acondicionado da mesma forma com a diferença de que em lugar da carga de café ser envolvida com papel Kraft foi envolvida com Tyvec. O terceiro container foi acondicionado com placas de isopor em todas as paredes internas, incluído, porta e teto, e não foi utilizado nenhum papel ou embalagem envoltória para proteger a carga.

2.2 Condições do Ensaio

Em cada container foram colocados 7 sensores de umidade relativa e temperatura: 2 na região inferior, 2 na região central, 2 na região superior e 1 no espaço livre. Os sensores foram colocados dentro dos sacos de café com exceção do sensor localizado no espaço livre. Dois sensores foram colocados na região externa do container para monitorar as condições climáticas externas. Foram realizadas análises de umidade do café em cada saquinho do respectivo container. Os containeres foram colocados na intempérie durante 13 dias, apontando a direção do nascimento do sol (simulando uma rota antes de entrar no hemisfério Norte). Após os 13 dias, os containeres foram esvaziados, os dados parciais de temperatura, umidade relativa e umidade do grão desta primeira etapa foram anotados. Os sensores foram colocados nos mesmos saquinhos nas mesmas posições e os containeres foram transferidos para uma câmara de congelamento (segunda etapa) à -10°C, simulando o inverno rígido do hemisfério Norte (Alemanha, países nórdicos). O café foi deixado nestas condições durante 18 dias. Após o ensaio foi feita uma última análise de umidade do grão e a avaliação dos dados dos sensores. As Figuras 1 e 2 apresentam o acondicionamento do café dentro dos containeres, as setas em vermelho indicam as regiões do container monitoradas. A seta de cor azul indica a região do espaço livre. A Figura 2 apresenta um exemplo de como foi embrulhado o café

no container Controle, de forma similar foi acondicionado o container com tyvec. O container com isopor não foi acondicionado com nenhum tipo de embalagem.



FIGURA 1. Container Protótipo.
Regiões Monitoradas.

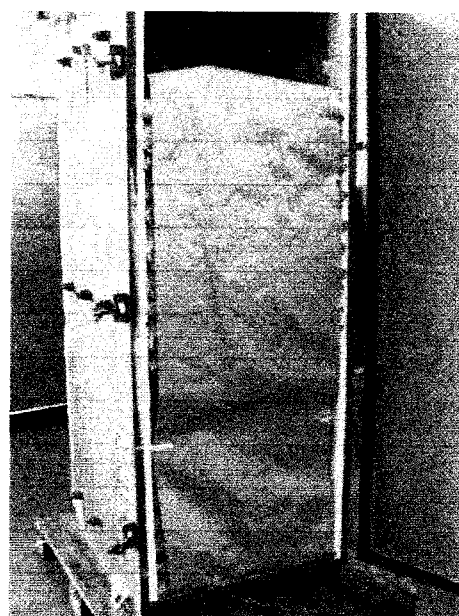


FIGURA 2. Container Protótipo
controle embrulhado com
papel Kraft.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da umidade do grão da fase inicial, intermedia e final são apresentados na Tabela 1.

TABELA 1. Ganho de Umidade do café com diferentes acondicionamentos dentro de containeres protótipos

CONTROLE			TYVEC			ISOPOR		
*Umidade b.u (%)			Umidade b.u (%)			Umidade b.u (%)		
Início	Interm.	Final	Início	Interm.	Final	Início	Interm.	Final
Região inferior			Região inferior			Região inferior		
11,6	11,3	11,7	12,7	12,4	12,4	12,3	12,3	12,3
Região central			Região central			Região central		
11,3	11	12	11,9	12	12	12,3	11,8	12
Região superior			Região superior			Região superior		
11,7	12	11,8	11,7	11,6	12,4	11,4	11,3	13,1

* Umidade em base úmida, média de 6 determinações.

O ensaio ocorreu em duas etapas, uma que simulava as temperaturas do verão brasileiro e outra que simulava o rígido inverno europeu. As cinéticas de temperatura e umidade relativa interna dos três containeres durante as duas etapas são apresentadas nas Figuras 3-14 (vide anexo 1). Cabe ressaltar que os sensores foram programados para começar a coletar os dados algumas horas antes dos containeres estarem nas condições de ensaio. Desta forma algumas variáveis ocorreram no período quando os sensores não estavam coletando dados, isto explica as mudanças bruscas das variáveis em algumas regiões dos containeres, entre a primeira e a segunda etapa do ensaio. Analisando a cinética das figuras frente a uma carta psicrométrica, concluímos que houve condensação em todos os containeres, principalmente no intervalo de tempo transcorrido entre o final da primeira etapa e o início da segunda etapa.

Observou-se ao final do ensaio, grandes formações de gelo nas paredes superiores dos containeres, principalmente nos containeres controle (C) e tyvec (Ty). Gelo em forma de escamas na superfície dos containeres sugerem a formação de condensado seguido de congelamento. Camadas contínuas de gelo sugerem condensação contínua, seguida de congelamento. Isto possivelmente foi devido à mudança drástica de temperatura. De acordo com os dados, houve um aumento de umidade maior no café acondicionado em condições isotérmicas (IS), no entanto cabe ressaltar que o este container foi retirado da

câmara à -10°C aproximadamente 3 horas antes dos outros dois containeres. Os dados dos sensores sugerem que houve descongelamento, o isopor estava bem molhado e a carga superior úmida. Ao analisar a umidade foi observado um aumento de 1-1,5% de umidade em relação a umidade inicial. Isto ocorreu, provavelmente devido ao descongelamento e posterior umedecimento da carga, embora os dados do sensor também mostrem que houve uma umidade relativa alta no espaço livre deste container desde o início do ensaio. A umidade da região superior da carga e da placa de isopor após a descarga, sugerem que a umidade ganha pela carga era recente e não paulatina no caso de um ganho de umidade pelo equilíbrio com a umidade do espaço livre. Outra evidência desta hipótese, foi o gelo formado no teto dos outros dois containeres que foram abertos dentro da mesma câmara pelo qual não houve condições para o descongelamento, sendo que a temperatura não foi maior que 0°C , esta observação sugere que o gelo formado no container (IS) derreteu e caiu na carga.

Nas Figuras 15-17 (anexo 2), pode-se observar a formação de camadas de gelo no teto do container, especialmente no container controle, isto sugere uma formação de condensado rápida seguida de congelamento. As Figuras 18-19 apresentam o teto do container Tyvec e apresentam a formação do condensado. Este fato evidencia um recente descongelamento ocorrido na hora da descarga do café no final do ensaio. As observações neste ensaio indicam que a desova dos containeres a temperaturas maiores que as do ambiente ou maiores que 0°C , podem desencadear um degelo do condensado formado durante o trajeto, com subsequente aumento de umidade da carga de café, especialmente próxima ao teto e paredes laterais superiores do container.

As setas colocadas na Figura 20 (container isopor) indicam as duas placas de isopor que não foram colocadas nos containeres controle e tyvec. A cinética ocorrida neste container evidenciou que o uso do isolamento térmico como medida preventiva para evitar a condensação é limitada na situação estudada, e que o aumento de temperatura no armazenamento pode originar um degelo rápido nas camadas de gelo formadas nas paredes internas do container.

4. CONCLUSÕES

- O uso do Tyvec é uma boa alternativa em substituição do papel Kraft, sendo que este além de proteger os grãos da condensação, impede a descoloração dos mesmos.

- O uso de isopor como medida preventiva deve ser melhor estudada. Oscilações drásticas de temperaturas, temperaturas elevadas, reduzem o potencial da sua função isotérmica.
- Requerem-se de mais ensaios visando a prevenção de condensação, as tentativas preliminares mostraram que o problema potencial da condensação necessitam de novas tecnologias.
- A utilização de containeres protótipos visando ensaios de prevenção é viável.

ANEXO 1

Figuras do Ensaio de Prevenção: Temperatura e Umidade Relativa

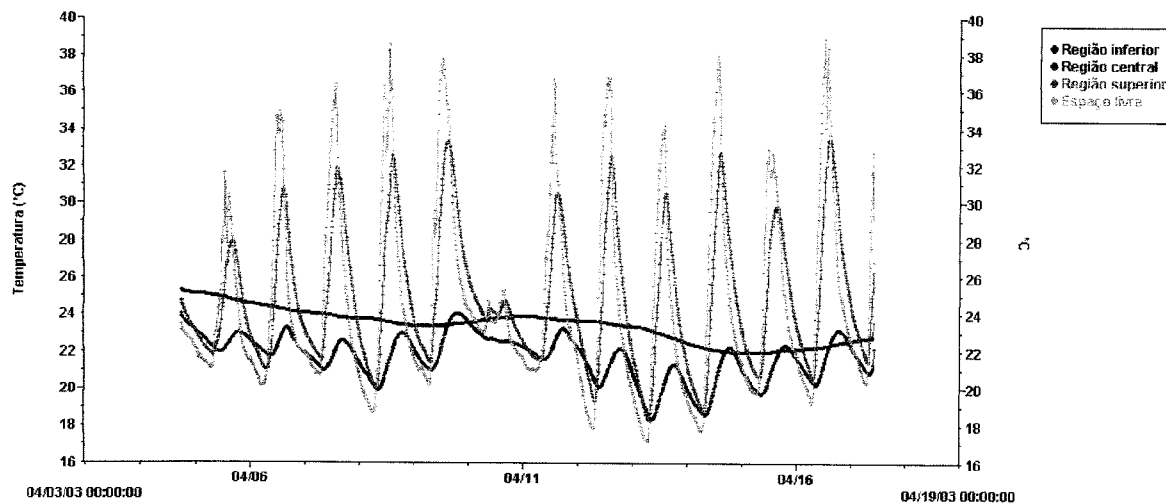


FIGURA 3. Temperatura das regiões internas do Container Controle. Etapa 1

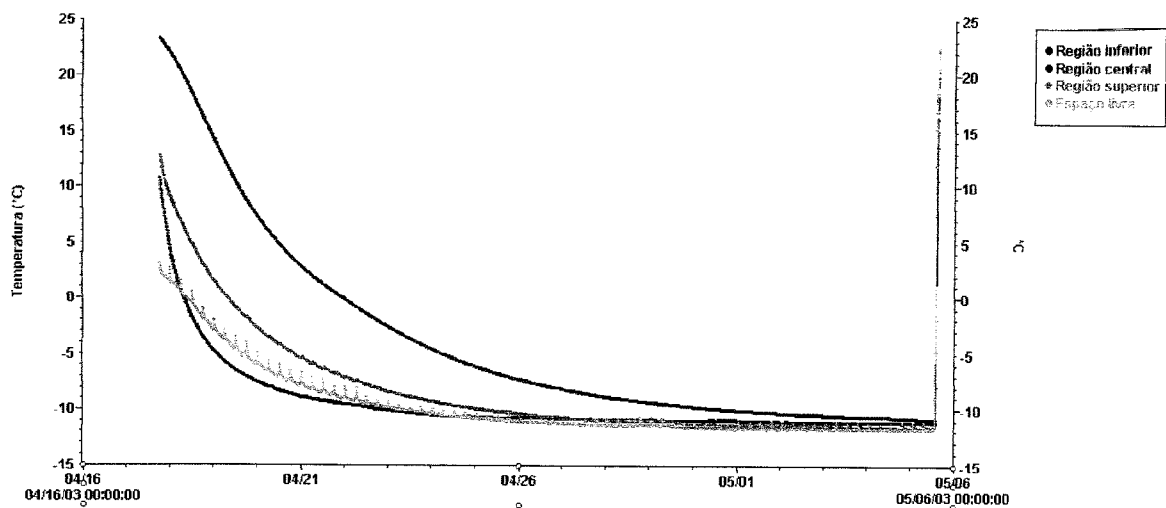


FIGURA 4. Temperatura das regiões internas do container Controle. Etapa 2

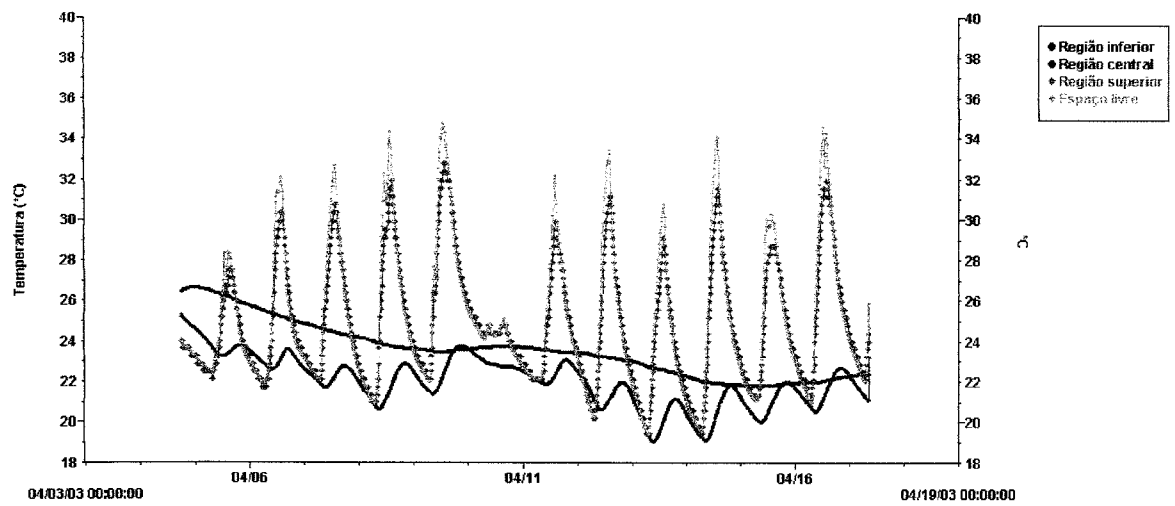


FIGURA 5. Temperatura das regiões internas do container Tyvec. Etapa 1

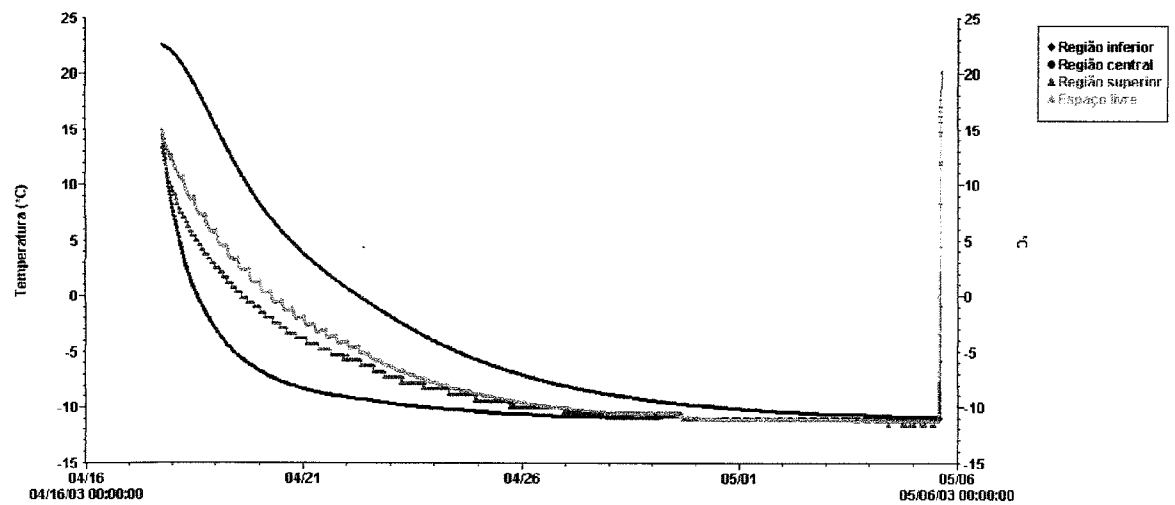


FIGURA 6. Temperatura das regiões internas do container Tyvec. Etapa 2

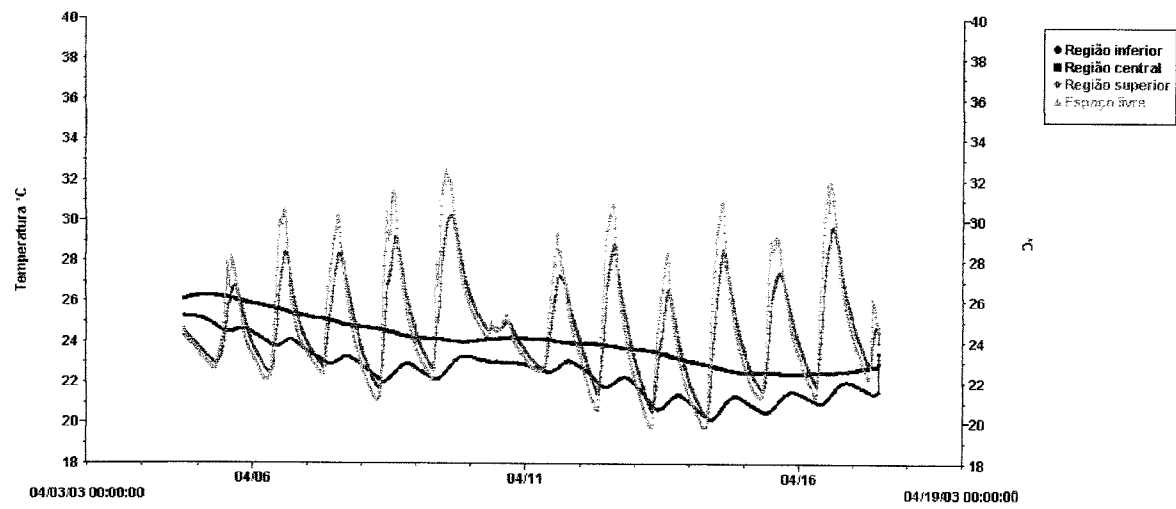


FIGURA 7. Temperatura das regiões internas do container Isopor. Etapa 1

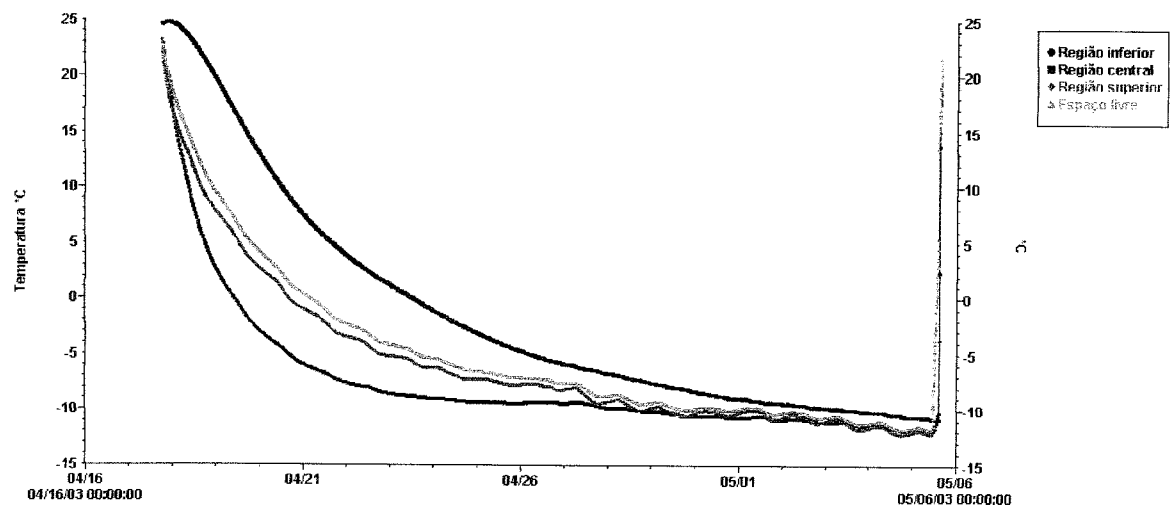


FIGURA 8. Temperatura das regiões internas do container Isopor. Etapa 2

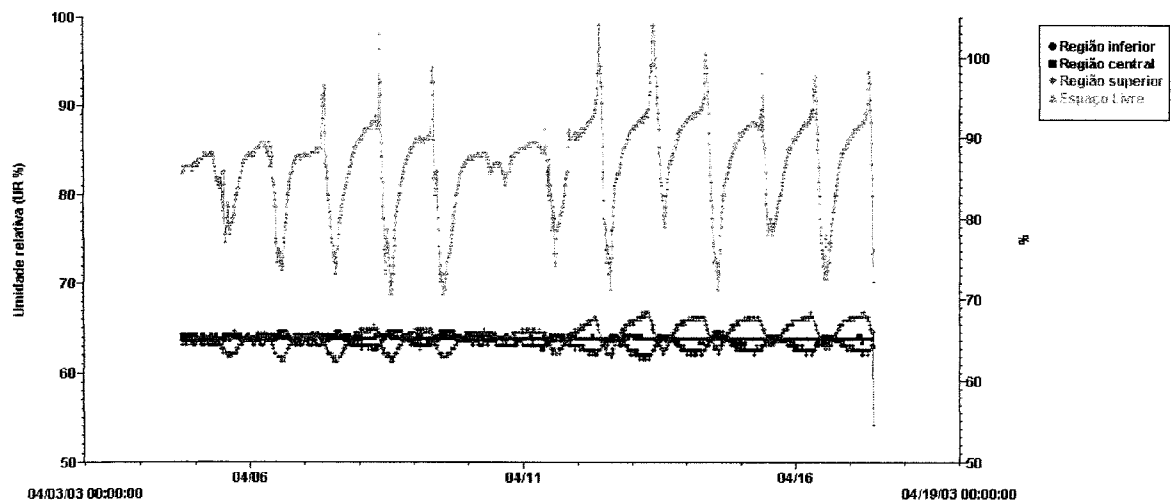


FIGURA 9. Umidade relativa das regiões internas do container Controle. Etapa 1

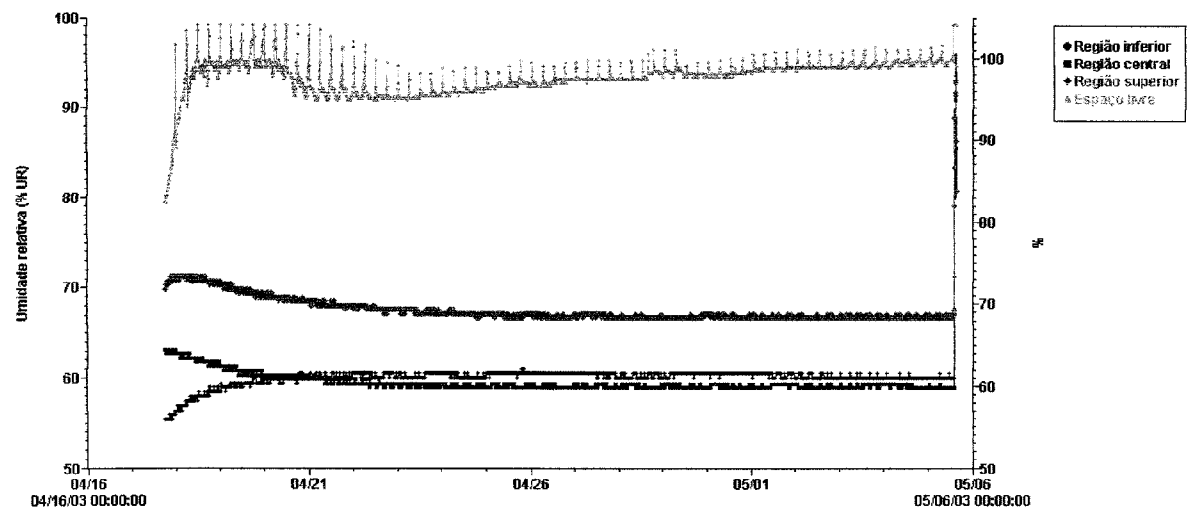


FIGURA 10. Umidade relativa das regiões internas do container Controle. Etapa 2

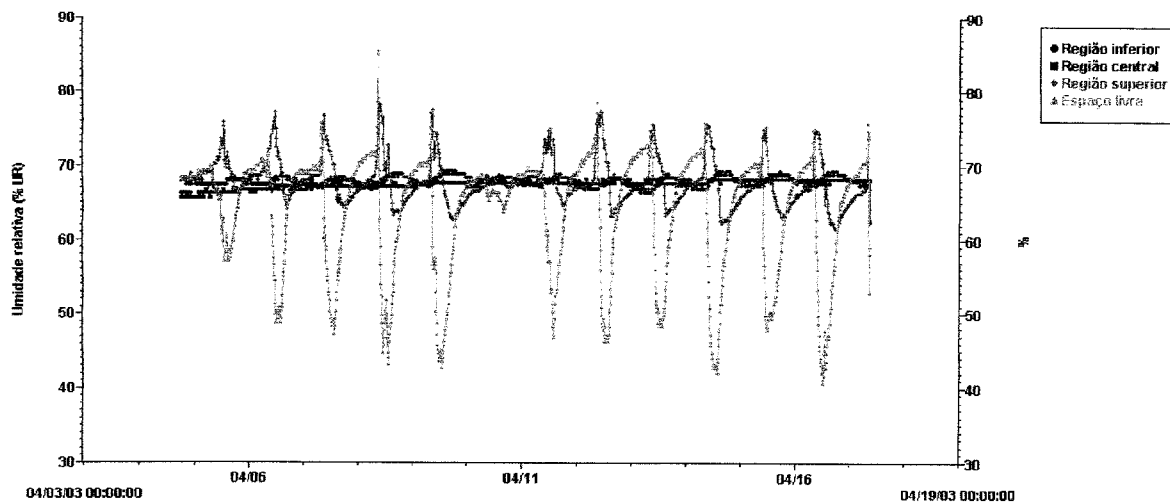


FIGURA 11. Umidade relativa das regiões internas do container Tyvec. Etapa 1

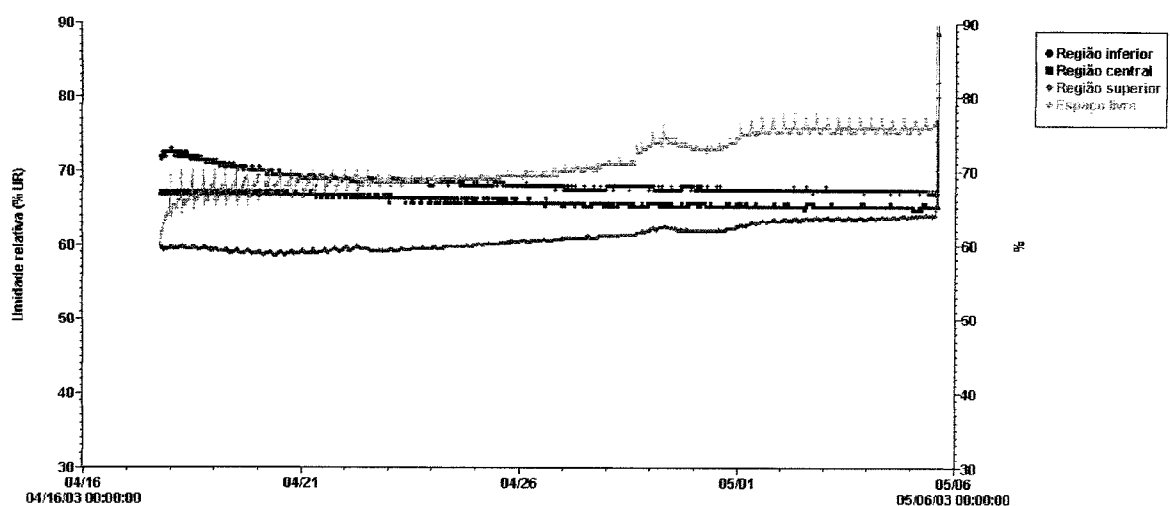


FIGURA 12. Umidade relativa das regiões internas do container Tyvec. Etapa 2

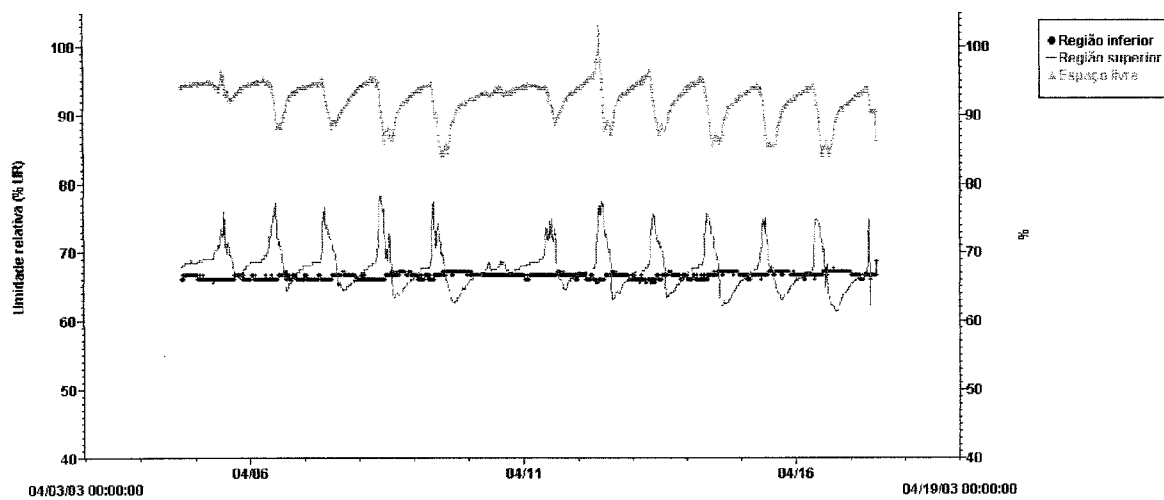


FIGURA 13. Umidade relativa das regiões internas do container Isopor. Etapa 1

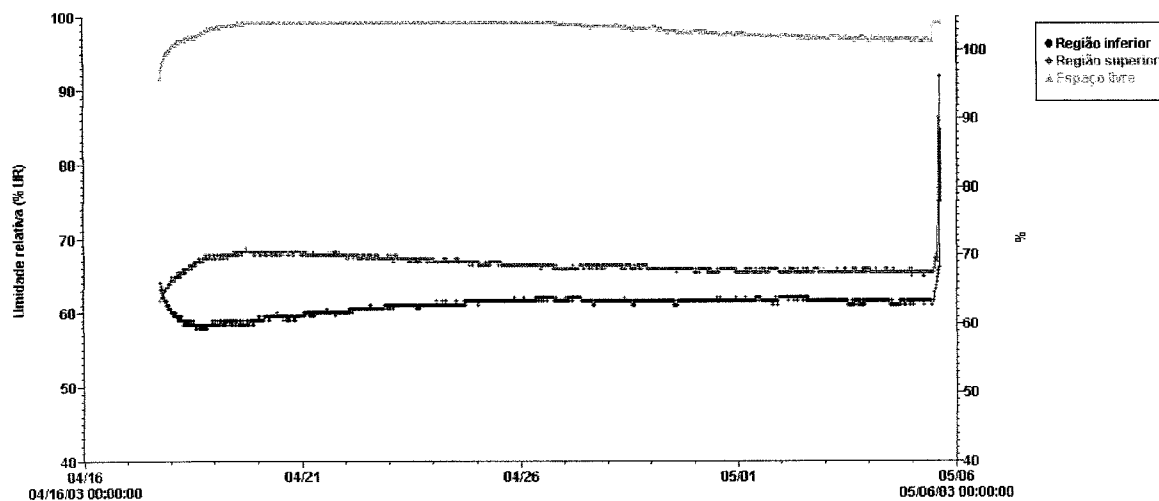


FIGURA 14. Umidade relativa das regiões internas do container Isopor. Etapa 2

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este projeto apresentou dados úteis sobre o que ocorre, e o que pode ocorrer, com a carga de café durante o transporte marítimo. Além de alternativas práticas para prevenção do aumento da umidade dos grãos de café. A partir destes dados mais trabalhos poderão ser realizados, não apenas com café mas com outros tipos de grãos. O Brasil é um dos maiores países produtores e exportadores de grãos, trabalhos como este são úteis na prevenção da deterioração de grãos por fungos e conseqüente produção de micotoxinas. Este trabalho foi inédito no Brasil e poucos trabalhos no mundo têm trazido tantas informações sobre o comportamento do café dentro dos containeres durante o transporte.