

INCIDENCIA DE HONGOS CON POTENCIAL TOXIGÉNICO PRESENTES EN CAFÉ DE LA PROVINCIA DE RODRÍGUEZ DE MENDOZA – PERÚ

GASLAC CULQUI, F.¹; MANSILLA-CORDOVA, P.J.^{2,3}; CAETANO, A.C.^{1,3}

¹Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias (UNTRM-A), Chachapoyas, Perú, ²Facultad de Ciencias Agrarias (UNACH), Chota, Perú, ³Instituto de Investigación para el Desarrollo Sustentable de Ceja de Selva (UNTRM-A), Chachapoyas, Perú.

RESUMEN

Durante la etapa de cultivo y proceso postcosecha, el café está expuesto a múltiples factores de deterioro. Estos factores son los responsables de la contaminación fúngica en los frutos y granos de café, siendo el género *Aspergillus* y *Penicillium* fuente productora de aflatoxinas (AFLA) y ocratoxina A (OTA) las cuales son toxinas carcinógenas, nefrotóxicas, teratogénicas, hepatotóxicas y pueden afectar negativamente a la salud humana. La presencia de estas toxinas en el café es indeseable porque pueden ser una barrera para la exportación. En este sentido, se evaluó la microbiota de los granos de café procedentes de la provincia de Rodríguez de Mendoza - Amazonas (Perú) y la incidencia de hongos con potencial toxigénico. En la investigación se encontró bajos porcentajes de infección en las muestras de café orgánico y convencional por los géneros *Fusarium*, *Penicillium*, *Aspergillus* y altos porcentajes de infección por otros géneros de hongos filamentosos (*Cladosporium*, *Pestalotias*, *Rhizopus*, *Colletotrichum*, entre otros), que fueron identificados por sus características biológicas. Las principales especies identificadas fueron *A. versicolor*, *P. brevicompactum* Dierckx, *P. rugulosum* Thom, *P. pinophilum* Hedgcock, *P. aurantiogriseum* Dierckx, *P. fellutanum* Biourge, *P. viridicatum* Westling y *P. solitum* Westling. También fueron identificadas colonias de *P. verrucosum* y *A. westerdijkiae*, dos aislados posiblemente toxigénicos, los cuales presentaron fluorescencia en medio agar coco (CAM) bajo luz ultravioleta.

Palabras claves: micotoxinas, *Penicillium*, *Aspergillus*, ocratoxina A

INTRODUCCIÓN

Las micotoxinas son metabolitos secundarios producidos por hongos filamentosos que comúnmente contaminan una amplia gama de cultivos como cereales, nueces, hierbas, especias, frutas o semillas oleaginosas. Algunas micotoxinas son altamente tóxicas o cancerígenas (Bessaire et al., 2019), siendo *Aspergillus* uno de los tres géneros de hongos más importantes en el deterioro de alimentos y responsable por la producción de micotoxinas, siendo *Fusarium* y *Penicillium* los otros dos géneros de importancia (Taniwaki et al., 2018). Las micotoxinas se producen naturalmente (Paterson et al., 2014). Aunque algunas especies pueden infectar los cultivos en el campo, los hongos que tienen capacidad de producir estos metabolitos generalmente están presentes en la postcosecha (Taniwaki et al., 2018).

Las especies de *Aspergillus* producen micotoxinas importantes, en particular las AFLA, producidas por *A. flavus* y *A. parasiticus*. La OTA producida por *A. ochraceus*, *A. westerdijkiae*, *A. niger* y *A. carbonarius* en café, siendo nefrotóxica y mutagénica (Castellanos-Onorio et al., 2011; Iamanaka et al., 2014a; Joosten et al., 2001; Taniwaki, 2005). Estas

moléculas son estables, difícilmente son degradadas bajo condiciones de cocción, tostado y fermentación (Boudra et al., 1995).

Como ya se mencionó anteriormente, los granos de café pueden estar contaminados por microorganismos durante las diferentes etapas, en su cultivo, cosecha, procesamiento, transporte y almacenamiento (Noonim et al., 2008). Además, la producción de la OTA y AFLA en los granos de café depende de muchos factores como la temperatura, humedad y las condiciones de manipulación y almacenamiento (Yao et al., 2015).

El café es una de las bebidas más consumidas en el mundo y su contribución a la ingesta dietética individual de OTA podría ser relativamente alta (Castellanos-Onorio et al., 2011) por eso la legislación de la Unión Europea establece un nivel máximo de OTA en café tostado ($5.0 \mu\text{g kg}^{-1}$) y café instantáneo ($10.0 \mu\text{g kg}^{-1}$) (Comisión Europea, 2006).

Como una etapa previa a la determinación de OTA en el café y para evaluar la probabilidad de presencia de esta micotoxina, el objetivo de la investigación fue identificar la microbiota, con enfoque especial en los hongos con potencial para producir OTA en las diferentes etapas del procesamiento de los granos de café de la provincia de Rodríguez de Mendoza en Amazonas, Perú.

MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. Muestreo de los frutos/granos de café

La recolección de muestras de frutos y granos de café fue realizada en la provincia de Rodríguez de Mendoza con ayuda de la Cooperativa Agraria Rodríguez de Mendoza (COOPARM). Las muestras de frutos/granos de café orgánico fueron recolectadas del caserío de Cochamal y, las muestras de frutos/granos de café convencional, del caserío de Shucush. Dos colectas fueron realizadas, la primera colecta en mayo/2021 y la segunda en noviembre/2021.

Se colectaron 4 muestras diferentes de café (aprox. 800 g por muestra) de 4 etapas de la cadena productiva del café utilizando el método aleatorio simple: (1) frutos verdes, (2) frutos maduros, (3) granos secado y (4) granos almacenados. Estas muestras se utilizaron para el aislamiento de los hongos, identificación y determinación de la producción de AFLA y OTA. Cada una de las muestras fue dispuesta en bolsa de polietileno con cierre hermético (7×10 cm) y transportadas en caja de poliestireno de $60 \times 40 \times 40$ cm conteniendo geles congelados, para mantener las muestras frescas y evitar su deterioro hasta llegar al laboratorio. Se realizó el muestreo en laboratorio y las muestras fueron almacenadas a -18°C , hasta su evaluación .

2.2. Plaqueamiento directo de las muestras

Las cerezas de café y pergamino con mucílago tienen un alto contenido de humedad y se contaminan fácilmente (Maman et al., 2021) por lo que se desinfectaron superficialmente por inmersión en solución de hipoclorito de sodio al 0.4% durante 1 min (2 min en caso de los frutos verdes y maduros).

Los frutos de café de cada muestra se colocaron en 2 placas de Petri de 150 mm de diámetro con 15 granos/placa. Los granos de café de cada muestra se sembraron en 1 placa de

Petri con 30 granos/placa. El medio selectivo utilizado fue agar dicloran-glicerol al 18% y se incubaron a 25 °C durante 5 a 7 días. Las colonias se examinaron visualmente en un estereoscopio. Las partículas con presencia de colonias fueron contabilizadas y los resultados fueron expresados en porcentaje de granos infectados (Pitt & Hocking, 2009).

2.3. Aislamiento e identificación de las colonias fúngicas

Las colonias fúngicas se aislaron individualmente en microtubos conteniendo 250 µl de agar semilíquido. Cada colonia fúngica fue identificada a través de protocolos específicos para cada género establecidos por Pitt & Hocking, (2009). Para ello, cada aislado fue sembrado en placas de Petri conteniendo medio CYA y MEA en tres puntos equidistantes. En medio G25N se sembró en 2 puntos equidistantes. Todas las placas fueron incubadas a 25°C durante 7 días. Adicionalmente, cada aislado se sembró en medio CYA en dos puntos equidistantes y se incubó a 5°C y 37°C durante 7 días. En este último caso, así como en las siembras en medio G25N, cada una de las placas de Petri sirvió para evaluar 2 aislados.

Las características macromorfológicas, tales como la tasa de crecimiento de las colonias, textura, color del micelio, exudados, reverso de la colonia, producción de esclerocios, clamidosporas y cleistotecios, fueron registrados. Además, el diámetro de cada una de las colonias fue medido diariamente con vernier, hasta antes que las colonias se sobrepongan.

Las características micromorfológicas, tales como forma de los conidios, color del estipe y dimensión, forma y textura del estipe, vesículas, métulas, fiálides, conidios fueron observadas y fotografiadas con la ayuda de un microscopio de luz (Samson et al., 2014).

Las evaluaciones de características macro y micromorfológicas se realizaron de las colonias incubadas a 25°C. Las otras dos temperaturas se usaron para la primera fase de caracterización y el uso de las claves dicotómicas de Pitt & Hocking, (2009).

Adicionalmente se realizó la técnica del microcultivo descrito por Alfenas & Mafia, (2007) para las colonias fúngicas que no era posible observar estructuras limpias, claras y completas en los montajes realizados.

2.4. Determinación de AFLA y OTA en medio agar coco (CAM)

Como una forma rápida para la determinación de producción de extrolitos, se seleccionaron muestras del genero *Penicillium* y *Aspergillus* ya que estos han sido reportados como toxigénicos. Las colonias fueron inoculadas en el centro de la placa con medio CAM e incubadas a 30 °C por 5 días, como descrito por Kuntawee & Akarapisan, (2015) y Lin & Dianese, (1976). Después de este período, las placas fueron observadas y fotografiadas bajo luz ultravioleta a una longitud de onda de 366 nm. Las cepas que presentaron una emisión de color azul fluorescente como un halo alrededor de la colonia, fueron consideradas como productoras de AFLA u OTA.

RESULTADOS

3.1. Contaminación fúngica de los frutos y granos de café

Todas las muestras de café estuvieron contaminadas por hongos filamentosos. En la primera colecta, las cuatro etapas de café orgánico tuvieron 0, 95, 83 y 53% de infección por otros géneros diferentes de *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium*. En los granos almacenados,

fueron encontrados 26% de *Penicillium* spp. y 16% de *Fusarium* spp. De manera similar, en las muestras de la segunda colecta de café orgánico también fue encontrado un mayor porcentaje de infección por *Penicillium* spp. (34%) y *Fusarium* spp. (34%) en las muestras de granos secando (Fig. 1).

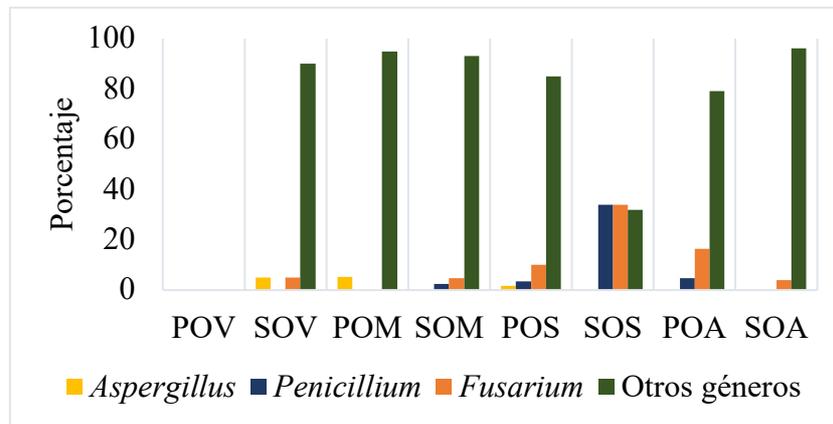


Fig. 1: Porcentaje de contaminación por importantes géneros fúngicos en los frutos y granos de café del sistema de producción orgánico de la provincia de Rodríguez de Mendoza

En las muestras de café convencional el mayor porcentaje de infección en la primera colecta fue por otras colonias con porcentajes de 100, 82, 90 y 73%, respectivamente. En mínimas proporciones, *Aspergillus* spp. (7%) y *Fusarium* spp. (11%) en frutos maduros y *Penicillium* spp. (15%) en granos almacenados. De igual forma, en la segunda colecta fueron encontrados porcentajes elevados de infección por otras colonias y, en mínimas proporciones, en *Penicillium* spp. (12%) en frutos verdes y *Fusarium* spp. (17%) en frutos maduros.

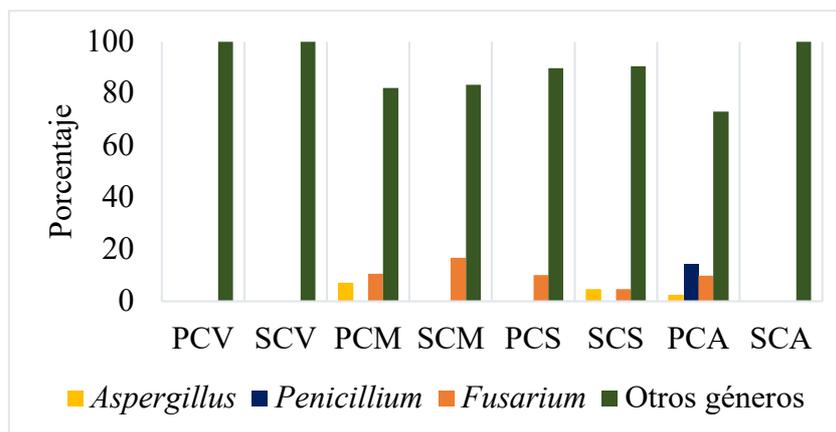


Fig. 2: Porcentaje de contaminación por importantes géneros fúngicos en los frutos y granos de café del sistema de producción convencional de la provincia de Rodríguez de Mendoza

3.2. Morfología e identificación de las colonias

Todas las colonias aisladas fueron identificadas utilizando la clave dicotómica de Pitt & Hocking, (2009), en base a sus características macro y microscópicas. Las características

macroscópicas incluyen el color y diámetro de las colonias (Fig. 3). Las colonias de *Aspergillus* sección *Circumdati* especie *A. westerdijkiae* por el anverso se mostraron sulcadas, dorado en el centro con micelio amarillo claro en los bordes y granulosa con espirales, por el anverso de color amarillo mostaza con textura arrugada y en espiral (Fig. 3-1). El diámetro de la colonia a los 7 días varió de 48 a 54 mm. En las colonias de *P. verrucosum* (Fig. 3-2) por el anverso las colonias eran sulcadas, aterciopeladas, verdiazules a verde grisáceo con micelios blancos en los bordes, densas y presentó exudado claro amarillo mostaza fuerte sulcadas a amarillo pálido opaco con diámetro promedio entre 21 a 27 mm. *Aspergillus* sp. (Fig. 3-3) mostró características amarillo pálido, algodonosas con una capa de conidióforos negro azabache con diámetros de 63 a 65 mm; las colonias de *Penicillium* sp. presentaron características sulcadas, aterciopeladas, verdiazules con el reverso amarillo mostaza a amarillo verdoso con diámetros entre 17 y 36 mm (Fig. 3-4). Las colonias de *Fusarium* sp. (Fig. 3-5) fueron blanquesinas a melón, aterciopeladas con diámetro de 23 a 43 mm. Asimismo, se estudió las características microscópicas de las colonias como los estipes, fialides, vesículas y conidios (Fig. 4). Se observaron una vesícula globosa de 28-22 μm de diámetro, estipe de 9 μm (Fig. 4-a); vesícula de 37 a 38 μm de diámetro y estipes de 7 μm (Fig. 4-c); dimensiones de estipes con paredes lisas de 21 \times 2 μm , fialides biseriadas (Fig. 4-b); estipes con paredes rugosas 40 \times 4 μm (Fig. 4-d) y microconidios de 18 \times 9 μm (Fig. 4-e).

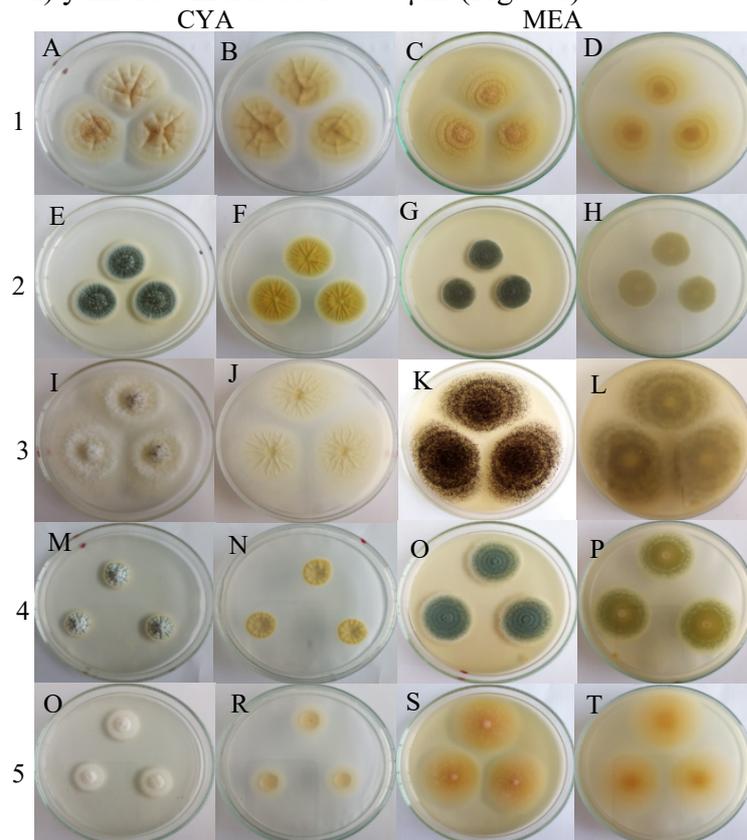


Fig. 3: Características macroscópicas de *A. westerdijkiae* (1), *P. verrucosum* (2), *Aspergillus* sp. (3), *Penicillium* sp. (4), *Fusarium* sp. (5) en medios CYA y MEA; colonias en el anverso de la placa (A, C, E, G, I, K, M, O, Q, S); colonias en el reverso de la placa (B, D, F, H, J, L, N, P, R, T).



Fig. 4: Características microscópicas de *A. westerdijkiae* (a), *P. verrucosum* (b), *Aspergillus* sp. (c), *Penicillium* sp. (d), *Fusarium* sp. (e), cabeza conidial y conidióforos (a, c); estipe, fialides y conidios (b, d); microconidios (e) con barras de 10 μm respectivamente.

3.3. Detección de OTA en medio CAM

De todos los aislados evaluados en el medio CAM, dos fueron detectados como posiblemente toxigénicos, *P. verrucosum* y *A. westerdijkiae*, debido a la fluorescencia observada en el medio. Los aislados identificados como *P. pinophilum* y *A. versicolor* y los demás no identificados no presentaron fluorescencia (Fig. 5).

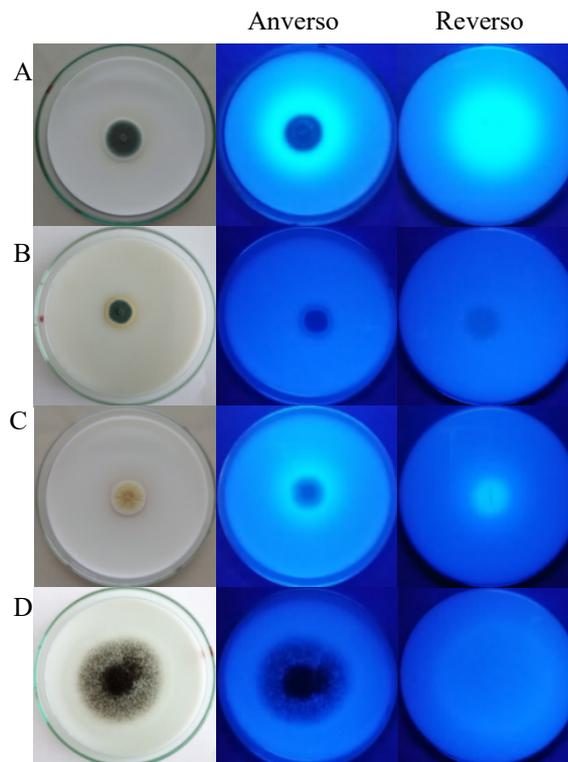


Fig. 5: Producción fluorescente (A, C) y no fluorescente (B, D) de colonias en medio CAM examinado bajo luz ultravioleta a una longitud de onda de 366 nm. (A) *P. verrucosum* (B) *Penicillium* sp. (C) *A. westerdijkiae* (D) *Aspergillus* sp.

DISCUSIÓN

La humedad es un factor que contribuye a la contaminación por hongos en el café (Maman et al., 2021) y las condiciones meteorológicas intervienen en el aumento de la humedad si es que no se controla bien los parámetros de secado y almacenamiento. El contenido de humedad después del secado debe ser menor al 11% para que los problemas de contaminación sean mínimos (Maman et al., 2021). Además, se sabe que los granos de café tienen una pulpa espesa y si el proceso de secado pudiera ser más rápido y efectivo, se podría prevenir la invasión de hongos, lo que resultaría en una menor contaminación por OTA (Noonim et al., 2008).

Magan & Lacey (1984) estudiaron la colonización en granos de café con *Cladosporium cladosporioides*, *Fusarium culmorum*, especies de *Aspergillus*, *Penicillium brevicompactum* y *P. roqueforti* y observaron que las dos primeras especies estaban presentes en el campo y las dos últimas especies eran colonizadoras de granos secos de café durante el almacenamiento. Los géneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* y *Cladosporium* son conocidos como

contaminantes naturales del café y están presentes desde el campo hasta el almacén (Nakajima et al., 1997; Pereira Galvão et al., 2005; Silva et al., 2000) datos que coinciden con el presente trabajo y explica los porcentajes de infección en las muestras de café orgánico y convencional por los géneros *Fusarium*, *Penicillium*, *Aspergillus* y otros géneros de hongos filamentosos no especificados (*Cladosporium*, *Pestalotias*, *Rhizopus*, *Colletotrichum*, entre otros).

Silva et al. (2008) investigaron la incidencia y distribución de hongos filamentosos durante la fermentación, secado y almacenamiento de granos de café y encontraron microorganismos del género *Pestalotia*, *Paecilomyces*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Penicillium* y *Aspergillus*. Couto et al., (2014) y Rezende et al., (2013) compararon los sistemas de cultivo de café orgánico y convencional y encontraron que los géneros más identificados fueron *Fusarium*, *Aspergillus* y *Penicillium*, además de esos géneros, también encontraron *Cladosporium*, *Rhizopus*, *Mucor*, *Trichoderma*, *Colletotrichum* y *Alternaria*. Por su parte, Iamanaka et al. (2014) y Vilela et al. (2010) estudiaron la micobiota en los granos de café y encontraron incidencia de hongos y las principales especies aisladas fueron *Aspergillus tubingensis*, *Aspergillus versicolor*, *Aspergillus* sección *Nigri*, *A. westerdijkiae*, *Aspergillus* sp., *Penicillium decumbens*, *Penicillium brevicompactum*, *Penicillium* sp. nov. (*Penicillium crustosum*), *Cladosporium cladosporioides* y *Fusarium latericio*.

En partes, estos hechos fueron confirmados en el presente estudio ya que en las muestras de café orgánico se identificaron *Aspergillus* de la sección *Versicolor* especie *A. versicolor*, *Aspergillus* sp., *Penicillium* del subgénero *Penicillium* especies *P. aurantiogriseum* Dierckx y *P. brevicompactum* Dierckx, del subgénero *Biverticillium* especies *P. rugulosum* Thom, *P. pinophilum* Hedgcock, *P. viridicatum* Westling y *Penicillium* sp. En las muestras de café convencional se encontró *Aspergillus* de la sección *Circumdati* especie *A. westerdijkiae*, sección *Versicolor* especie *A. versicolor* y *Aspergillus* sp., *Penicillium* del subgénero *Penicillium* especies *P. solitum* Westling y *P. verrucosum* Dierckx, *Penicillium* subgénero *Furcatum* especies *P. fellutanum* Biourge y *Penicillium* sp. Existiendo diferencia cuantitativa con relación a los aislados encontrados en los géneros, pero no diferencia cualitativa en el porcentaje de infección entre los dos sistemas de cultivo del café.

La ocratoxina A (OTA; CAS303-47-9) es un sólido cristalino blanco con intensa fluorescencia ultravioleta (UV), verde en ácido y azul en condiciones alcalinas, debido a un anillo de lactona cerrado o abierto, respectivamente (Pitt, 2014). La ocratoxina A produce enfermedades nefrotóxicas crónicas que afecta la función renal en todas las especies animales analizadas y también tiene efectos inmunosupresores, teratogénicos y genotóxicos en animales y posiblemente en humanos (Pitt & Hocking, 2009). La detección de dos aislados posibles productores de OTA, identificados solamente por los métodos biológicos como *P. verrucosum* y *A. westerdijkiae* es un alerta. Noonim et al. (2008) afirman que los hongos productores de OTA aislados del café arábica de Chiang Mai, Tailandia, pertenecían a la sección *Circumdati* de la especie *A. westerdijkiae*, *A. melleus*, y *A. steynii*. Vesonder et al. (1973) identificaron *P. verrucosum* (en ese tiempo conocido como *P. viridicatum II*) como único productor de OTA en cereales de Canadá y USA. También Lund & Frisvad (2003) encontraron *P. verrucosum* como fuente de producción de OTA en trigo y cebada de Europa, siendo necesario un porcentaje de 7% de infección por esta especie para detectar OTA en los cereales. Estas informaciones apoyan al resultado de la fluorescencia en el agar coco encontrado en la presente investigación. Además del riesgo por la presencia de toxinas, Iamanaka et al. (2014) también evaluaron la relación entre la contaminación fúngica en los granos y la calidad de la bebida. La alta infección y

diversidad fúngica fue encontrada en el café del suroeste de São Paulo con prevalencia de especies del género *Penicillium*. Los granos con alta infección presentaron una evaluación sensorial negativa.

CONCLUSIONES

Por sus características biológicas, las principales especies identificadas fueron *A. versicolor*, *P. brevicompactum* Dierckx, *P. rugulosum* Thom, *P. pinophilum* Hedgcock, *P. aurantiogriseum* Dierckx, *P. fellutanum* Biourge, *P. viridicatum* Westling y *P. solitum* Westling.

La presencia de aislados toxigénicos (*P. verrucosum* y *A. westerdijkiae*) en granos almacenados de café convencional es un alerta del riesgo de contaminación por OTA.

REFERENCIAS

- ALFENAS, A. C., & MAFIA, R. G. **Métodos em fitopatologia**. UFV. 2007.
- BESSAIRE, T., PERRIN, I., TARRES, A., BEBIUS, A., REDING, F., & THEURILLAT, V. Mycotoxins in green coffee: Occurrence and risk assessment. **Food Control**, 96(June 2018), 59–67. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.08.033>. 2019.
- BOUDRA, H., LE BARS, P., & LE BARS, J. Thermostability of ochratoxin A in wheat under two moisture conditions. **Applied and Environmental Microbiology**, 61(3), 1156–1158. <https://doi.org/10.1128/aem.61.3.1156-1158.1995>. 1995.
- CASTELLANOS-ONORIO, O., GONZALEZ-RIOS, O., GUYOT, B., FONTANA, T. A., GUIRAUD, J. P., SCHORR-GALINDO, S., DURAND, N., & SUÁREZ-QUIROZ, M. Effect of two different roasting techniques on the Ochratoxin A (OTA) reduction in coffee beans (*Coffea arabica*). **Food Control**, 22(8), 1184–1188. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2011.01.014>. 2011.
- COMISIÓN EUROPEA. **Reglamento (CE) 401/2006 de la Comisión de 23 de febrero de 2006 por el que se establecen los métodos de muestreo y análisis para control oficial del contenido de micotoxinas en productos alimenticios**. 2006 .Vol. 70, pp. 12–34.
- COUTO, F. A., SOUZA, S. C. DE, MONTEIRO, M. C. P., SILVA, D. M. DA, CIRILLO, M. Â., & BATISTA, L. R. Diversity and association of filamentous fungi in coffee beans under organic and conventional cultivation. **African Journal of Microbiology Research**, 8(26), 2505–2512. <https://doi.org/10.5897/ajmr2013.6571>. 2014.
- IAMANAKA, B. T., TEIXEIRA, A. A., TEIXEIRA, A. R. R., COPETTI, M. V., BRAGAGNOLO, N., & TANIWAKI, M. H. The mycobiota of coffee beans and its influence on the coffee beverage. **Food Research International**, 62, 353–358. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.02.033>. 2014.

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**, 65(1–2), 39–44. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(00\)00506-7](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(00)00506-7). 2001.

KUNTAWEI, S., & AKARAPISAN, A. Isolation and identification of *Aspergillus* species producing Ochratoxin A in Arabica coffee beans. **International Journal of Agricultural Technology**, 11(5). 2015.

LIN, M. T., & DIANESE, J. C. A Coconut-Agar Medium for Rapid Detection of Aflatoxin Production by *Aspergillus* spp. **In Phytopathology** (Vol. 66, Issue 12, p. 1466). 1976.

LUND, F., & FRISVAD, J. C. *Penicillium verrucosum* in wheat and barley indicates presence of ochratoxin A. **Journal of Applied Microbiology**, 95(5), 1117–1123. 2003.

MAGAN, N., & LACEY, J. Effect of water activity, temperature and substrate on interactions between field and storage fungi. **Transactions - British Mycological Society**, 82(1). [https://doi.org/10.1016/S0007-1536\(84\)80214-4](https://doi.org/10.1016/S0007-1536(84)80214-4). 1984.

MAMAN, M., SANGCHOTE, S., PIASAI, O., LEESUTTHIPHONCHAI, W., SUKORINI, H., & KHEWKHOM, N. Storage fungi and ochratoxin A associated with arabica coffee bean in postharvest processes in Northern Thailand. **Food Control**, 130(May), 108351. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108351>. 2021.

NAKAJIMA, M., TSUBOUCHI, H., MIYABE, M., & UENO, Y. Survey of aflatoxin B1 and ochratoxin a in commercial green coffee beans by high-performance liquid chromatography linked with immunoaffinity chromatography. **Food and Agricultural Immunology**, 9(2), 77–83. <https://doi.org/10.1080/09540109709354938>. 1997.

NOONIM, P., MAHAKARNCHANAKUL, W., NIELSEN, K. F., FRISVAD, J. C., & SAMSON, R. A. Isolation, identification and toxigenic potential of ochratoxin A-producing *Aspergillus* species from coffee beans grown in two regions of Thailand. **International Journal of Food Microbiology**, 128(2), 197–202. 2008.

PATERSON, R. R. M., LIMA, N., & TANIWAKI, M. H. Coffee, mycotoxins and climate change. **Food Research International**, 61, 1–15. 2014.

PEREIRA GALVÃO, R., PFENNING, L. H., & ANTÔNIO DE CASTRO, H. **Characterization and dynamic of colonization of *Cladosporium cladosporioides* (Fresen.) de Vries in coffee fruits (*Coffea arabica* L.)**. 29(6), 1112–1116. 2005.

PITT, J. I. Mycotoxins: Ochratoxin A. **In Encyclopedia of Food Safety** (Vol. 2, pp. 304–309). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-378612-8.00191-8>. 2014.

PITT, J. I., & HOCKING, A. D. Fungi and food spoilage. **In Fungi and Food Spoilage**. <https://doi.org/10.1007/978-0-387-92207-2>. 2009.

REZENDE, E. DE F., BORGES, J. G., CIRILLO, M. Â., PRADO, G., PAIVA, L. C., & BATISTA, L. R. Ochratoxigenic fungi associated with green coffee beans (*Coffea arabica* L.) in conventional and organic cultivation in Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, 44(2), 377–384. 2013.

SAMSON, R. A., VISAGIE, C. M., HOUBRAKEN, J., HONG, S. B., HUBKA, V., KLAASSEN, C. H. W., PERRONE, G., SEIFERT, K. A., SUSCA, A., TANNEY, J. B., VARGA, J., KOCSUBÉ, S., SZIGETI, G., YAGUCHI, T., & FRISVAD, J. C. Phylogeny, identification and nomenclature of the genus *Aspergillus*. **Studies in Mycology**, 78(1), 141–173. 2014.

SILVA, C. F., BATISTA, L. R., & SCHWAN, R. F. Incidence and distribution of filamentous fungi during fermentation, drying and storage of coffee (*Coffea arabica* L.) beans. **Brazilian Journal of Microbiology**, 39(3), 521–526. 2008.

SILVA, C. F., SCHWAN, R. F., SOUSA DIAS, E., & WHEALS, A. E. Microbial diversity during maturation and natural processing of coffee cherries of *Coffea arabica* in Brazil. **International Journal of Food Microbiology**, 60(2–3). 2000.

TANIWAKI, M. H. An update on ochratoxigenic fungi and ochratoxin A in coffee. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, 571, 189–202. 2005.

TANIWAKI, M. H., PITT, J. I., & MAGAN, N. *Aspergillus* species and mycotoxins: occurrence and importance in major food commodities. **Current Opinion in Food Science**, 23, 38–43. 2018.

VESONDER, R. F., CIEGLER, A., & JENSEN, A. H. Isolation of the Emetic Principle from *Fusarium*-Infected Corn. **Applied Microbiology**, 26(6), 1008–1010. 1973.

VILELA, D. M., PEREIRA, G. V. DE M., SILVA, C. F., BATISTA, L. R., & SCHWAN, R. F. Molecular ecology and polyphasic characterization of the microbiota associated with semi-dry processed coffee (*Coffea arabica* L.). **Food Microbiology**, 27(8), 1128–1135. 2010.

YAO, Y., XIAO, X., GE, L., & SUN, C. P. Quantum coherence in multipartite systems. **Physical Review A - Atomic, Molecular, and Optical Physics**, 92(2), 1–8. 2015.