

FUNGOS PRODUTORES DE MICOTOXINAS NO CACAU

MARTA H. TANIWAKI¹ ; CAROLINA C. M. ALBERS² ; MARINA V. COPETTI³ ;
PRISCILLA EFRAIM⁴; MELANIE A. NESTER⁵ & BEATRIZ T. IAMANAKA⁶

Nº 0901007

RESUMO

Os objetivos do presente trabalho foram: verificar a produção de ocratoxina A em amêndoas de cacau durante os estádios de fermentação e secagem, inoculando os fungos produtores de ocratoxina A, isolados das amostras de cacau; verificar a destruição da ocratoxina A durante as etapas de processamento em planta piloto. Os experimentos para produção de ocratoxina A foram realizados inoculando artificialmente conídios de *A. carbonarius* no cacau. Houve uma menor produção de ocratoxina A em amostras que foram fermentadas em comparação com as secas diretamente ao sol, sendo mais crítico quando estas amostras foram previamente despulpadas. Quanto aos estudos de processamento, verificou-se que 94% da ocratoxina foi destruída durante o processo de fabricação do chocolate e que a maior parcela da redução foi decorrente da etapa de torração das amêndoas (86,6%), seguida do refino de liquor (52,3%).

ABSTRACT

The objectives of the present work were: to verify ochratoxin A production in cocoa beans during fermentation and drying stages, inoculating ochratoxin producing fungi, isolated from cocoa samples; to verify the destruction of ochratoxin A during processing stages in pilot plant. The experiments for ochratoxin A production were carried out inoculating artificially *A. carbonarius* conidia in cocoa beans. There was less ochratoxin A production in fermented samples compared to that dried directly to sun, being more critical when these samples were previously depulped. For processing studies, it was verified that 94% of ochratoxin was destructed during chocolate manufacture process and the highest reduction occurred at the roasting stage of beans (86.6%), followed the liquor refining process (52.3%).

¹Orientadora: Pesquisadora, Microbiologia/CCQA/ITAL, Campinas/SP, marta@ital.sp.gov.br

²Bolsista CNPq: Graduação em Engenharia de Alimentos, FEA/UNICAMP, Campinas/SP

³Colaboradora: Estagiária Microbiologia/CCQA/ITAL, Campinas/SP

⁴Colaboradora: Pesquisadora Cereal/Chocotec/ITAL, Campinas/SP

⁵Colaboradora: Estagiária Microbiologia/CCQA/ITAL, Campinas/SP

⁶Colaboradora: Pesquisadora, Microbiologia/CCQA/ITAL, Campinas/SP

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é o 5º maior produtor mundial de cacau, parte da produção é destinada à exportação (amêndoas e matérias primas) e parte ao consumo interno (principalmente chocolate). A qualidade do chocolate, produto final do processamento do cacau, depende de uma grande variedade de fatores. Dentre estes encontram-se os microrganismos, que estão presentes na fermentação e durante as etapas de secagem do produto. Essa microbiota desempenha uma função essencial no desenvolvimento das características sensoriais do chocolate, bem como na definição da sua qualidade e segurança final. Pesquisas têm comprovado a presença de fungos no decorrer do processo fermentativo e durante os vários estádios de secagem. Além do aspecto deteriorativo, alguns fungos são potenciais fontes de toxinas e, como tal, representam uma ameaça à saúde do consumidor. Atualmente, a maior preocupação se concentra na presença de ocratoxina em cacau e derivados, com relatos de sua ocorrência em diversos países. A presença da ocratoxina indica que, em algum ponto do processo de produção, está havendo condições de crescimento de fungos. Para se adotar qualquer medida preventiva é necessário conhecer as condições em que estas toxinas são produzidas pelos fungos toxigênicos e os pontos críticos para controle de seu desenvolvimento. No Brasil, não existem dados sobre a situação dos produtos de cacau, embora o Comitê de peritos em mercadorias agrícolas da Comunidade Européia já esteja discutindo a regulamentação da presença de ocratoxina em cacau e seus produtos. Isso torna importante e urgente uma avaliação da situação brasileira, uma vez que os limites podem afetar diretamente as exportações do produto.

Recentemente, pesquisas conduzidas na Espanha comprovaram a presença da ocratoxina em amostras de cacau e derivados, em níveis oscilando de <0,1 a 23,1 µg/kg (BONVEHÍ, 2004). A Comissão de peritos em aditivos e contaminantes em alimentos (JECFA) tem recomendado, provisoriamente, 100ng/kg de peso corporal/semanal como limite tolerável de ingestão máxima desta micotoxina (WHO, 2002).

Dados sobre as condições em que as micotoxinas são produzidas no cacau e derivados produzidos no Brasil são inexistentes. No contexto atual em que a globalização da economia é uma realidade, aspectos gerais de qualidade e principalmente higiênico-sanitários são fundamentais na aceitação de qualquer produto, especialmente os destinados à alimentação humana.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Teste de produção de ocratoxina A em cacau

Para a produção de amostras contaminadas com ocratoxina A foram utilizados 6 Kg de sementes de cacau despulpadas, isentas de OTA, não fermentadas, foram inoculadas com 10mL de *A. carbonarius* (10^5)/Kg de cacau e submetidas à secagem ao sol em barcaças.

2.2 Teste de avaliação da estabilidade de OTA durante o processamento de cacau

2.2.1 Processamento das amêndoas de cacau até a obtenção de chocolates

As amêndoas secas foram torradas em forno elétrico rotativo (PROBAT, tipo TP2), durante 40 minutos, com temperatura da camisa de aquecimento fixada a 140 °C, de acordo com as condições otimizadas encontradas por GILABERT-ESCRIVÁ (1997). Em seguida, as amêndoas foram descascadas manualmente e os *nibs* obtidos foram triturados em liquidificador (WALITA) e refinados em moinho de cilindros (DRAISWERKE GMBH), composto por 3 cilindros horizontais de aço encamisados e resfriados internamente com água à 15 °C, até a granulometria máxima de 25 µm para a obtenção das massas ou liquors de cacau. O tamanho máximo das partículas foi medido em micrômetro digital (MITUTOYO) com escala de 0 a 25 mm, de acordo com EFRAIM (2004). Os liquors refinados foram tratados termicamente em miniconcha, (FRIWESSA, modelo PPC), com capacidade para 1 kg, a 70 °C por 3 horas, sendo obtidas, ao final desse processo, massas refinadas com consistência pastosa.

Foram produzidos chocolates do tipo amargo. A formulação utilizada foi composta por 56,0% de *liquor* de cacau (contendo 53 % de manteiga de cacau), 43,6% de açúcar (Glaçucar, marca União) e 0,4% de lecitina de soja (Solec CH, marca Solae). Todos os chocolates foram produzidos em lotes de 700 g com um teor total de manteiga de cacau de 29,68%. Uma vez que os liquors utilizados na fabricação dos chocolates apresentavam granulometria inferior a 25 µm, na etapa de mistura foram usados 35% dos 56% totais de liquor que compunha a formulação, misturados na forma fundida (à 40°C) ao total de açúcar (43,6%) em misturador planetário (KITCHEN AID, modelo K5SS), com capacidade para 5L (Kitchen-Aid, St. Joseph, MI). A mistura foi realizada até a formação de uma massa com consistência pastosa. O restante do liquor foi acrescentado no início da etapa de conchagem.

O refino da massa foi realizado em um único estágio no mesmo refinador (DRAISWERK), utilizado para a obtenção dos liquors. Ajustou-se a distância entre os cilindros para se obter um tamanho máximo das partículas da massa entre 20 e 25µm,

medido com micrômetro digital, de acordo com o método utilizado por LUCAS (2001).

A conchagem foi realizada em bateladas de 700 g em miniconcha longitudinal, (FRIWESSA, tipo PPC), com capacidade para 1 kg. Ao início dessa etapa, o restante do liquor (21%) e a lecitina de soja foram incorporados à massa refinada. Essa etapa foi realizada durante 20 h a 60 °C.

2.2.2 Redução da ocratoxina A com o processamento do cacau

Para o cálculo da destruição da ocratoxina A, foram realizadas análises da amêndoa inicial (antes da torração), das amostras de nibs e casca após a torração e do liquor e do chocolate. Foram utilizados além da massa seca da cada amostra, obtida através dos resultados de umidade, a porcentagem de cada fração (nibs e casca) em relação à amêndoa inteira. Para tal objetivo foram descascadas 100 amêndoas e pesada cada fração separadamente. A análise de ocratoxina A seguiu a metodologia validada neste estudo anteriormente.

2.3 Análise de umidade

O teor de umidade das amêndoas e produto final foram analisados de acordo com o método 977.10, item 31.1.03 (HORWITZ, 2005), em equipamento Titroline (ALPHA SHOTT, modelo TZ1282);

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Avaliação da estabilidade de OTA durante o processamento de cacau

A Figura 1 apresenta a evolução das temperaturas da camisa do equipamento e dos gases no interior do tambor rotativo durante a torração dos *nibs* de uma das amostras durante 40 minutos.

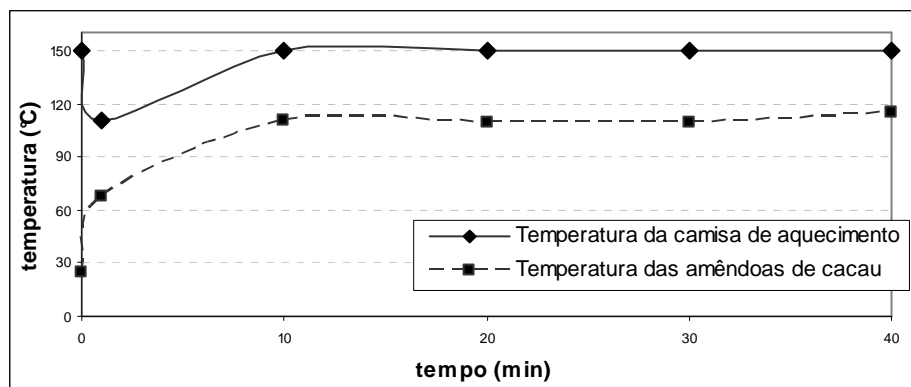


Figura 1. Evolução das temperaturas da camisa do equipamento e dos gases durante a torração dos nibs.

3.2 Resultados da redução da ocratoxina A com o processamento do cacau

Os resultados da ocratoxina A com as devidas correções do teor de umidade, e a porcentagem de redução durante o processamento, encontram-se nas Tabelas 1 e 2.

Tabela 1. Valores de umidade da amêndoa antes de torrar, nibs, casca após a torração e do liquor e chocolate.

Umidade (%)*				
Antes torração		Após torração		
Amêndoa	Nibs	Casca	Liquor	Chocolate
8,412 ± 0,400*	1,466±0,198	2,276 ± 0,002	1,825±0,091	1,356 ± 0,041

* Média de três repetições e estimativa de desvio padrão.

Tabela 2. Resultados de ocratoxina A e porcentagem de redução durante o processamento do cacau.

Ocratoxina A (µg/Kg)					
Nº repetições	Antes torração	Após torração			
	Amêndoa	Nibs	Película	Liquor	Chocolate
1	9,6953	1,2425	5,0884	0,6398	0,5847
2	10,0245	1,1595	5,9258	0,6207	0,6638
3	11,6656	1,7023	5,4097	0,7034	0,6047
4	9,4678	1,4206	5,4438	0,6470	0,5978
5	10,2652	1,3125	5,3206	0,6478	0,5881
Média	10,2237	1,3675	5,4377	0,6517	0,6078
Redução ocratoxina A (%)		86,6	46,8	93,6	94,1

De acordo com os resultados foi possível observar uma redução significativa da ocratoxina A ao longo do processo de fabricação do chocolate. Dentre as etapas do processamento do cacau, a torração foi a principal responsável pela destruição, reduzindo em 86,6% o teor de ocratoxina A nos nibs após tratamento térmico de 150°C por 40 minutos. A alta redução da ocratoxina A nos nibs pode também ser explicada pela concentração da mesma principalmente na película que, quando removida, provocou uma redução acentuada nos níveis de ocratoxina A nos nibs. Já na película a redução foi menor, de apenas 46,8%. Este fato provavelmente se deve a maior concentração da ocratoxina A na casca. Resultados semelhantes foram observados em estudos realizados por outros autores. AMÉZQUETA et al. (2004) verificou a redução da ocratoxina A em amêndoas torradas, de 65 a 95% em 95% das amostras analisadas, quando a casca foi retirada manualmente, e os autores confirmam a casca como a principal fonte de ocratoxina A nas amêndoas de cacau.

Com a obtenção do liquor que ocorreu após a moagem dos nibs e tratamento térmico de 70°C por 3 horas, a redução aumentou para 93,6% em relação à amêndoa original e 52,3% em relação aos nibs, mostrando que esta etapa, assim como a torração das amêndoas, também foi importante para a redução da toxina.

E finalmente o chocolate obtido a partir das amêndoas contaminadas, após o refino, mistura dos ingredientes e a conchagem (tratamento a 60°C por 20h), a redução foi de 94,1% em relação às amêndoas originais e 6,7% em relação ao liquor. Nesta etapa a redução foi baixa mostrando não exercer grande influência na destruição da ocratoxina A.

Para esse nível de contaminação e de acordo com as condições utilizadas para a fabricação do chocolate neste trabalho, 94,1% da ocratoxina A inicial foi destruída e os resultados mostraram que as etapas de torração das amêndoas e o refino do liquor, foram aquelas que apresentaram maior influência na redução da ocratoxina A durante a fabricação do chocolate.

5. CONCLUSÕES

A maior parte da ocratoxina foi destruída durante o processo de fabricação do chocolate e a maior parcela da redução foi decorrente da etapa de torração das amêndoas, seguida do refino de liquor.

6. AGRADECIMENTOS

A Fapesp pelo apoio financeiro e ao CNPq pela bolsa concedida.

7. REFERÊNCIAS CITADAS

AMÉZQUETA, S.; GONZALEZ-PENAS, E.; MURILLO, M. & CERAIN, A. LOPEZ. 2004. Validation of a high-performance liquid chromatography analytical method for ochratoxin A quantification in cocoa beans. **Food Additives and Contaminants**, 21(11),1096-1106.

BONVEHÍ, J.S. 2004. Occurrence of ochratoxin A in cocoa products and chocolate. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 52(20), 6347-6352

EFRAIM, P. Estudo para minimizar as perdas de flavonóides durante a fermentação de cacau para produção de chocolate. Campinas, 2004. Dissertação (Mestre em Tecnologia de Alimentos) Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.

GILABERT ESCRIVÁ, M. V. **Comparação das propriedades reológicas da massa de cacau torrada convencionalmente e por microondas.** Campinas, 1997. Dissertação (Mestre em Tecnologia de Alimentos). Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, 1997. HORWITZ, W ed. **AOAC Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists**, 18^a ed., 2005.

LUCCAS, V. Fracionamento térmico e obtenção de gorduras de cupuaçu alternativas a manteiga de cacau para uso na fabricação de chocolate. 2001. 188p. **Tese (Doutorado em Engenharia Química)** - Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2001.

PITTET, A., Tornare, D., Huggett, A., and Viani, R., 1996, Liquid chromatographic determination of ochratoxin A in pure and adulterated soluble coffee using an immunoaffinity column cleanup procedure, *J. Agric. Food Chem.*, **44**:3564-3569.

WHO. **Evaluation of certain mycotoxins in foods**, 56^o Report of the Joint FAO/WHO Expert Commission on Food Additives, Geneva, p. 27-35, 2002.