

Microbiota Fúngica de Amêndoas Fermentadas de Cupuaçu

Joana Maria Leite de Souza¹, Cleísa Brasil da Cunha Cartaxo², Virgínia de Souza Álvares³, Sandra Albuquerque Lima Ribeiro⁴ e Samuel Cavalcante da Cruz⁵

¹Engenheira-agrônoma, doutora em Ciência e Tecnologia de Alimentos, pesquisadora da Embrapa Acre, Rio Branco, AC.

²Engenheira-agrônoma, mestre em Horticultura, pesquisadora da Embrapa Acre, Rio Branco, AC.

³Engenheira-agrônoma, doutora em Fitotecnia, pesquisadora da Embrapa Acre, Rio Branco, AC.

⁴Biomédica, mestre em Biologia de Fungos, analista da Universidade Federal do Acre, Rio Branco, AC.

⁵Graduando em Engenharia Florestal, Universidade Federal do Acre, bolsista voluntário Ufac/Embrapa, Rio Branco, AC.

Resumo – O presente estudo foi conduzido com o objetivo de avaliar a frequência de fungos filamentosos em amêndoas de cupuaçu, tendo em vista a importância dessa matéria-prima alimentar para as indústrias de alimentos e de cosméticos. Um total de 16 lotes de amêndoas fermentadas de cupuaçu foram examinadas. As amostras de amêndoas de cupuaçu foram coletadas na agroindústria do projeto Reça, após serem submetidas aos processos de fermentação e secagem. Os fungos mais comuns isolados foram: *Absidia corymbifera*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Eurotium chevalieri*, *Penicillium roqueforti*, *Rhizopus* sp., *Mucor* sp., *Monascus* sp. e leveduras.

Termos para indexação: micotoxinas, qualidade, *Theobroma grandiflorum*.

Introdução

O cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) é uma planta amazônica que tem conquistado significativa parcela do mercado de polpas de frutas tropicais no Brasil e no mundo. Em virtude do crescimento da demanda por esse produto, a indústria de alimentos tem buscado formas para o aproveitamento de suas sementes, ricas em gorduras e proteínas (Cohen; Jackix, 2005).

A partir da fermentação e secagem das sementes, pode-se obter o liquor de cupuaçu, com características similares ao liquor de cacau, podendo, assim, ser utilizado na indústria de alimentos para a formulação de produtos análogos ao chocolate (Cohen; Jackix, 2004; Cohen; Souza; Jackix, 2005).

Estudos sobre o processo de fermentação e secagem de sementes de cupuaçu para a produção de liquor ou gordura têm se concentrado nas qualidades físicas, químicas e físico-químicas do produto (Carvalho et al., 2005, 2008; Lopes et al., 2003), deixando de considerar um importante atributo de qualidade que é a segurança microbiológica. Nesse sentido, a investigação para a identificação e a quantificação de fungos filamentosos em produtos destinados à alimentação humana é particularmente importante em virtude de algumas espécies serem produtoras de toxinas de significativo impacto sobre a saúde.

Copetti et al. (2014) alertaram sobre a susceptibilidade de amêndoas de cacau à contaminação fúngica ao longo de todo o processamento e sobre a presença dos fungos *Aspergillus flavus* e *Aspergillus niger* em amêndoas de cacau e das toxinas aflatoxinas e ocratoxinas, tanto em amêndoas, quanto em gordura, liquor, torta, nibs e chocolate.

Em estudo sobre a qualidade de sementes de cacau, Copetti et al. (2011) constataram que 40% a 100% das amostras de amêndoas coletadas após a etapa de secagem solar apresentaram

contaminação por *A. flavus*; e 32% a 100% das amostras coletadas no armazenamento também apresentaram o fungo.

Dada a similaridade entre as duas matérias-primas e seus processos de transformação, este estudo teve como objetivo avaliar a frequência de fungos filamentosos em amêndoas de cupuaçu.

Material e métodos

As amostras foram obtidas de 16 lotes de amêndoas fermentadas e secas de cupuaçu, das safras de 2016 e 2017, ambas entre os meses de fevereiro e maio. Cada lote correspondia a 100 kg de amêndoas e o delineamento utilizado foi uma amostragem aleatória simples. Foram tomados seis lotes ao acaso e retiradas aleatoriamente 12 amêndoas de cada lote. As amêndoas de cupuaçu fermentadas e secas foram obtidas no projeto Reça (Reflorestamento Econômico Consorciado e Adensado), localizado em Nova Califórnia e Extrema, estado de Rondônia.

As amêndoas foram desinfestadas em álcool etílico (70%) durante 30 segundos, então imersas por 2 minutos em uma solução de hipoclorito de sódio (2,5%), enxaguadas em água deionizada por três vezes e secas em papel de filtro esterilizado. A seguir foram cortadas ao meio com um bisturi e depositadas em placas de Petri, contendo meio BDA para crescimento dos fungos (Alfenas; Mafia, 2007). Após incubação por 7 dias em BOD, foram realizados microcultivos para identificação dos fungos, utilizando-se para isso o meio Czapek. Foram preparadas lâminas de microscopia para identificação dos microrganismos isolados nas amostras. Para identificação dos microrganismos presentes nas amostras, foram observados os microcultivos e realizadas análises das características morfológicas, com apoio de chaves de identificação, sendo observados todos os lotes e repetições.

Resultados e discussão

Em amêndoas, os fungos podem localizar-se externamente, desenvolvendo-se sobre seu revestimento protetor (tegumento, pericarpo, entre outros) ou podem contaminar internamente a amêndoa na forma de micélio dormente. Os resultados da caracterização quanto à incidência de fungos contaminantes estão demonstrados na Tabela 1. Os resultados da incidência da microbiota fúngica nas amêndoas fermentadas de cupuaçu permitiram identificar com maior frequência os fungos dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Syncephalast*. As espécies de *Aspergillus* identificadas e mais frequentes foram *A. flavus*, *A. oryzae* e *A. niger*. Esse resultado é importante e demonstra que estudos mais detalhados devem ser realizados, considerando-se os aspectos nutricionais das amêndoas de cupuaçu e, particularmente, por serem essas espécies de *Aspergillus* potencialmente produtoras de toxinas em alimentos.

Amostras recém-colhidas de cacau não se encontravam infectadas internamente com fungos demonstrando que, segundo Schwan e Wheals (2004), a polpa de cacau é microbiologicamente estéril. Quando o fruto é aberto, utiliza-se um facão que pode contaminar a polpa com microrganismos. Esses microrganismos irão contribuir na microbiota da fermentação. Outras fontes de microrganismos são as mãos dos trabalhadores, os cestos usados para transporte da polpa, a mucilagem seca grudada nas caixas ou tanques provenientes de fermentações anteriores.

Segundo Souza et al. (2016) durante a fermentação de amêndoas de cupuaçu a umidade pode estar entre 30,72% e 57,25% com atividade de água entre 0,54 e 0,64, o que favorece o desenvolvimento das leveduras e dos fungos hidrofílicos como os zigomicetos (*A. corymbifera*). As espécies de *G. candidum* são leveduriformes e crescem bem em condições de microaerofilia e alta atividade

de água. As espécies de *Monascus* são comuns em alimentos fermentativos e crescem bem nas condições sem muito oxigênio (Pitt; Hocking, 1997).

Tabela 1. Microbiota fúngica encontrada em seis lotes de amêndoas de cupuaçu fermentadas e secas (safra 2016/2017). Nova Califórnia, distrito de Porto Velho, RO.

Gênero/espécie	Frequência nos lotes (%)
<i>Aspergillus flavus</i>	61,3
<i>Aspergillus niger</i>	54,5
<i>Aspergillus penicillioides</i>	100,0
<i>Penicillium roqueforti</i>	40,1
<i>Syncephalast</i> sp.	36,7
<i>Absidia corymbifera</i>	6,1
<i>Eurotium chevalieri</i>	4,4
<i>Rhizopus</i> sp.	8,7
<i>Mucor</i> sp.	9,0
<i>Monascus</i> sp., <i>Aspergillus sojae</i> , <i>A. flavus</i> , <i>A. parasiticus</i> , <i>A. candidus</i> , <i>A. fumigatus</i> , <i>A. niger</i> , <i>Eurotium chevalieri</i> e <i>E. rubru</i>	10,3

Com o tempo de secagem, as amêndoas vão desidratando e os fungos xerofílicos como as espécies de *Aspergillus*, *Eurotium* e *Penicillium* passam a ser predominantes. Durante a estocagem a umidade das amostras deve permanecer baixa para evitar uma deterioração microbiana. A espécie *Aspergillus penicillioides* que é um fungo xerofílico também apareceu, chegando a 100% de infecção em algumas amostras.

Em geral, a fermentação leva de 6 a 7 dias, enquanto a secagem de 7 a 15 dias e, em alguns casos, até mais, dependendo das condições climáticas. Nessas etapas a atividade de água das amêndoas diminui e as espécies toxigênicas, sendo xerofílicas e sem outros competidores, encontram condições de desenvolvimento e produção de toxinas (Pitt; Hocking, 1997).

Conclusões

A microbiota fúngica das amêndoas fermentadas e secas de cupuaçu, realizada pela técnica descrita, revela que fungos do gênero *Aspergillus* (*A. flavus*, *A. oryzae* e *A. niger*) são os mais frequentes (61,3%).

Agradecimentos

À associação e aos produtores do projeto Reça, Vila Califórnia, RO, e à Embrapa Acre pela infraestrutura física para condução dos experimentos, à Universidade Federal do Acre por ter cedido o Laboratório de Fitossanidade para realização das análises.

Referências

- ALFENAS, A. C.; MAFIA, R. G. **Métodos em fitopatologia**. Viçosa: UFV, 2007. 382 p.
- CARVALHO, A. V.; GARCÍA, N. H. P.; WADA, J. K. A. Caracterização físico-química e curvas de solubilidade protéica de sementes, amêndoas fermentadas e torradas de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum* Schum). **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 8, n. 2, p. 127-134, 2005.
- CARVALHO, A. V.; GARCÍA, N. H. P.; FARFÁN, J. A. Proteínas da semente de cupuaçu e alterações devidas à fermentação e à torração. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 4, p. 986-993, 2008.
- COHEN, K. O.; JACKIX, M. N. H. Obtenção e caracterização física, química e físico-química de liquor de cupuaçu e de cacau. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 7, n. 1, p. 57-67, 2004.
- COHEN, K. O.; JACKIX, M. N. H. Estudo do liquor de cupuaçu. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 1, p. 182-190, 2005.
- COHEN, K. O.; SOUSA, M. V.; JACKIX, M. N. H. Parâmetros físicos e aceitabilidade sensorial de chocolate ao leite e de produtos análogos elaborados com liquor e gordura de cupuaçu. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 8, n. 1, p. 17-23, 2005.
- COPETTI, M. V.; IAMANAKA, B. T.; PEREIRA, J. L.; FUNGARO, M. H.; TANIWAKI, M. H. Aflatoxigenic fungi and aflatoxin in cocoa. **International Journal of Food Microbiology**, v. 148, p. 141-144, 2011.
- COPETTI, M. V.; IAMANAKA, B. T.; PITT, J. I.; TANIWAKI, M. H. Fungi and mycotoxins in cocoa: from farm to chocolate. **International Journal of Food Microbiology**, v. 178, p. 13-20, 2014.
- LEITÃO, M. F. Microbiologia de alimentos. In: ROITMAM, I.; TRAVASSOS, L. R.; AZEVEDO, J. L. (Ed.). **Tratado de Microbiologia**. São Paulo: Manole, 1988. p. 1-81.
- LOPES, A. S. et al. Avaliação das condições de torração após a fermentação de amêndoas de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum* Schum) e cacau (*Theobroma cacao* L.). **Brazilian Journal of Food Technology**, n. 146, 2003.
- NAZARÉ, R. F. R.; BARBOSA, V. C.; VIÉGAS, R. M. F. **Processamento das sementes de cupuaçu para obtenção de cupulate**. Belém, PA: Embrapa-CPATU, 1990. 37 p. (Embrapa-CPATU. Boletim de pesquisa, 108).
- PITT, J. I.; HOCKING, A. D. **Fungi and food spoilage**. London: Blackie Academic & Professional, 1997. 593 p.
- SCHWAN, R. F. Microbiology of cocoa fermentation: a study to improve quality. In: CONFERÊNCIA INTERNACIONAL DE PESQUISA EM CACAU, 12., 1996, Salvador. **Anais...** Salvador: Ceplac, 1996.
- SCHWAN, R. F.; WHEALS, A. E. The microbiology of cocoa fermentation and its role in chocolate quality. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 44, p. 1-17, 2004.
- SOUZA, J. M. L. de; CARTAXO, C. B. da C.; ANDRADE NETO, R. de C.; MOURA, S. I. A.; MACIEL, V. T.; FURTADO, C. M. Otimização dos processos de fermentação e secagem de sementes de cupuaçu. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 25., 2016, Gramado. **Anais...** Gramado: SBCTA, 2016.