



INSTITUTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS
Centro de Ciência e Qualidade de Alimentos

ANA PAULA FERREIRA DE OLIVEIRA

CÁDMIO E CHUMBO EM AMÊNDOAS E PRODUTOS
DERIVADOS DE CACAU

CAMPINAS

2020

ANA PAULA FERREIRA DE OLIVEIRA

**CÁDMIO E CHUMBO EM AMÊNDOAS E PRODUTOS
DERIVADOS DE CACAU**

*Dissertação apresentada ao Instituto de
Tecnologia de Alimentos para obtenção do
título de Mestre em Ciência e Tecnologia de
Alimentos.*

Aluna: Ana Paula Ferreira de Oliveira

Orientadora: Dra. Sílvia Amélia Verdiani

Tfouni

Coorientador: Dr. Marcelo Antônio Morgano

Este exemplar corresponde à versão final da Dissertação defendida pela aluna Ana Paula Ferreira de Oliveira e orientada pela Profa. Dra. Sílvia Amélia Verdiani Tfouni

CAMPINAS

2020

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001, da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) Nº do proc.: 17/21451-1 e Nº do proc.: 18/11623-2 e da Fundação de Desenvolvimento da Pesquisa do Agronegócio (Fundepag, bolsa de mestrado de A.P.F. Oliveira).

Ficha Catalográfica

Elaborada pela Bibliotecária Lucilene Paulina da Silva CRB/8 - 8507
Biblioteca Central do ITAL - Instituto de Tecnologia de Alimentos

O49c Oliveira, Ana Paula Ferreira de.

Cádmio e chumbo em amêndoas e produtos derivados de cacau.
Ana Paula Ferreira de Oliveira / Dissertação de mestrado em Ciência e
Tecnologia de Alimentos. - Campinas, SP: ITAL, 2020.

67 f.

Orientadora: Dra. Sílvia Amélia Verdiani Tfouni.

1. Contaminantes inorgânicos. 2. Produtos de cacau. 3. ICP OES.
I. Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL). Centro de Ciência e
Qualidade de Alimentos (CCQA). II. Oliveira, Ana Paula Ferreira de. III.
Título.

Título em inglês: *Cadmium and lead in cocoa beans and products.*

Keywords: Inorganic contaminant; cocoa products; ICP OES

Titulação: Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Banca Examinadora: Dra. Sílvia Amélia Verdiani Tfouni, Dra. Elisabete Segantini Saron, Dr. Valdecir Luccas.

Data da Defesa: 13/03/2020

Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

BANCA EXAMINADORA

Este exemplar corresponde à redação final da Dissertação de Mestrado defendida por Ana Paula Ferreira de Oliveira aprovada pela Comissão Julgadora em 13 de março de 2020.

Profa. Dra. Silvia Amélia Verdiani Tfouni
CCQA - (Presidente)

Prof. Dr. Marcelo Antônio Morgano
CCQA - (coorientador)

Dra. Elisabete Segantini Saron
CETEA– Itai (titular)

Prof. Dr. Valdecir Luccas
Cereal Chocotec – Itai (titular)

Dra. Raquel Fernanda Milani
CCQA – Itai (suplente)

A ata de defesa de dissertação de mestrado com as respectivas assinaturas dos membros da banca encontra-se arquivada junto à documentação do aluno.

AGRADECIMENTOS

À professora Dra Sílvia Amélia Verdiani Tfouni, pela oportunidade de trabalho e aprendizado;

ao professor Dr. Marcelo Antonio Morgano, pela disponibilidade e dedicação;

ao Instituto de Tecnologia de Alimentos – Itai – pela infraestrutura oferecida e os colaboradores de excelência;

ao Programa de Pós Graduação do Itai e ao Centro de Ciência e Qualidade de Alimentos – CCQA – especialmente à Dra. Raquel Fernanda Milani, Adriana Mauri e Fernanda Moralez Leme Gomes;

ao Departamento de Tecnologia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas – Unicamp – e à professora Dra. Priscilla Efraim, pela infraestrutura no processamento de cacau, além da fundamental disposição de trabalho e conhecimento compartilhado;

à Dra. Elisabete Segantini Saron e ao professor. Dr. Valdecir Luccas, pelas sugestões e correções indicadas para a redação final do presente trabalho;

aos amigos e familiares, especialmente à minha mãe Tereza Alves Ferreira, Renato Ariboni e Dr. Luís Gustavo Teixeira Alves Duarte pelo incentivo e suporte.

à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Código de Financiamento 001;

à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP – (Nº do proc.: 17/21451-1) bolsa de Treinamento Técnico III (Nº do proc.: 18/11623-2);

à Fundação de Desenvolvimento da Pesquisa do Agronegócio – Fundepag –bolsa de mestrado.

RESUMO

Os chocolates e alimentos com cacau são consumidos principalmente pelas suas características sensoriais e benefícios à saúde, como presença de minerais essenciais, proteínas, metilxantinas e compostos fenólicos. Contudo, estudos indicam que pode haver a contaminação do cacau e seus produtos pela presença de contaminantes inorgânicos. Estes contaminantes podem ser incorporados ao cacau já no cultivo por meio da composição geoquímica e intemperismo ou atividade vulcânica por via atmosférica e através de práticas agrícolas, uso de águas residuais contaminadas e atividades pós colheita. Uma vez que o consumo de cacau e de seus derivados vem crescendo, tanto no Brasil como no mundo, são necessárias avaliações quanto a sua qualidade para garantir a segurança aos consumidores. Desta maneira, este estudo teve como objetivo avaliar a presença dos contaminantes inorgânicos, cádmio e chumbo, em amêndoas de cacau procedentes das principais regiões produtoras do mundo (Brasil, África e Equador) e em produtos derivados do processamento (liquor, pó e manteiga de cacau). A determinação de cádmio e chumbo foi realizada utilizando a técnica de espectrometria de emissão ótica com fonte de plasma com acoplamento indutivo (ICP OES). Foram avaliados dois procedimentos de preparo de amostras, a digestão ácida assistida por micro-ondas e a decomposição por via seca, sendo posteriormente validado o método escolhido. Os limites de detecção e quantificação para Cd e Pb foram de 0,5 e 1,5 $\mu\text{g kg}^{-1}$ e 7,0 e 22 $\mu\text{g kg}^{-1}$, respectivamente. O estudo avaliou 90 amostras de amêndoas de cacau e o intervalo de concentração encontrado para Cd foi $<0,0015\text{-}1,598 \text{ mg kg}^{-1}$ e para Pb foi $<0,022\text{-}2,528 \text{ mg kg}^{-1}$. Os resultados indicam ocorrência de níveis superiores aos limites máximos das legislações do Brasil e do MERCOSUL em 8% (Cd) e 66% (Pb) das amostras

analisadas. Os derivados obtidos no processamento das amêndoas de cacau apresentaram níveis de Cd entre $<0,0015-0,118 \text{ mg kg}^{-1}$ e Pb entre $<0,022-0,136 \text{ mg kg}^{-1}$. Elevados teores de Pb foram encontrados em amêndoas de cacau do Brasil e de Cd em amêndoas do Equador. Foi observada uma tendência do Cd e Pb em permanecer nas frações não lipídicas da amêndoa (pó de cacau). A PTMI foi ultrapassada e a ingestão de chocolate produzido a partir de amêndoas contaminadas pode contribuir para exposição dos consumidores aos contaminantes inorgânicos, sobretudo para o público infantil. A fabricação de produtos de cacau a partir de amêndoas de diferentes regiões (*blends*) pode ser uma alternativa na redução dos níveis desses contaminantes no produto final destinado ao consumo.

Palavras-chave: Contaminantes inorgânicos; produtos de cacau, ICP OES

ABSTRACT

Chocolates and foods with cocoa are consumed mainly for their sensory characteristics and health benefits, such as the presence of essential minerals, proteins, methylxanthines and phenolic compounds. However, studies indicate that there may be contamination of cocoa and its products by the presence of inorganic contaminants. These contaminants can be incorporated into cocoa during cultivation through geochemical composition and environmental or volcanic activity through the atmosphere and through agricultural practices, use of contaminated wastewater and post-harvest activities. Since the consumption of cocoa and its derivatives has been growing, both in Brazil and in the world, quality evaluations are necessary to ensure consumers safety. Thus, the aim of this study was to evaluate the presence of inorganic contaminants, cadmium and lead, in cocoa beans from the main producing regions of the world (Brazil, Africa and Ecuador) and in products derived from processing (liquor, powder and cocoa butter). The technique used to determine cadmium and lead was inductively coupled plasma source atomic emission spectrometry (ICP OES) with evaluation of two sample preparation procedures, microwave and dry system, followed by validation of the method. The limits of detection and quantitation for Cd and Pb were 0.5 and 1.5 $\mu\text{g kg}^{-1}$ and 7.0 and 22 $\mu\text{g kg}^{-1}$, respectively. The study evaluated 90 cocoa beans samples and the concentration range detected for Cd was <0.0015-1.598 mg kg^{-1} and for Pb was <0.022-2.528 mg kg^{-1} . The results indicate the occurrence of levels above the maximum limits of Brazilian and MERCOSUL regulations in 8% (Cd) and 66% (Pb) of the analyzed samples. The derivatives obtained in the processing of cocoa beans presented Cd levels between <0.0015-0.118 mg kg^{-1} and Pb between <0.022-0.136 mg kg^{-1} . High levels of Pb were found in cocoa beans from Brazil and Cd in cocoa beans from Ecuador. A tendency was observed for the inorganic contaminant to remain in the non-lipid fractions of the cocoa beans processed (cocoa powder). PTMI has been exceeded and the intake of chocolate produced from contaminated beans can contribute to consumer exposure to inorganic contaminants, especially for children. The manufacture of cocoa products from beans of different regions (blends) can be an alternative in reducing the levels of these contaminants in the final product intended for consumption.

Key words: Inorganic contaminant; cocoa products; ICP OES

SUMÁRIO

RESUMO.....	v
ABSTRACT	vii
SUMÁRIO.....	ix
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	xi
INTRODUÇÃO	1
OBJETIVOS	4
Objetivo principal.....	4
Objetivos específicos	4
CAPÍTULO 1.....	5
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	5
1. CACAU	6
1.1 Origem, produção e mercado	6
1.2 Cultivo e variedades	8
1.3 Pré-processamento.....	14
1.4 Processamento.....	17
1.5 Amêndoas e produtos derivados	19
2. CONTAMINANTES INORGÂNICOS	21
2.1 Cádmió	22
2.2 Chumbo	23
2.3 Contaminantes inorgânicos em cacau.....	24
2.4 Métodos de determinação dos contaminantes inorgânicos	28
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	30
CAPÍTULO 2.....	41
Cádmió e chumbo em amêndoas de cacau: ocorrência e efeito no processamento de chocolate	41
Resumo.....	42

1. Introdução	43
2. Material e Método	45
2.1 Amostras.....	45
2.2 Reagentes	46
2.3 Determinação de Cd e Pb.....	46
2.3.1 Digestão ácida em sistema fechado assistido por micro-ondas.....	47
2.3.2 Decomposição por via seca	47
2.4 Análise estatística.....	48
2.5 Estimativas de exposição aos contaminantes inorgânicos pelo consumo de chocolate.....	48
3. Resultados e discussão	49
3.1 Avaliação dos métodos de preparo de amostras e validação do método para a determinação de Cd e Pb	49
3.2 Ocorrência de Cd e Pb em amêndoas de cacau	51
3.3 Ocorrência de Cd e Pb em amêndoas de cacau torradas e produtos derivados do processamento para produção de chocolate	55
3.4 Avaliação da estimativa de exposição aos contaminantes Cd e Pb pelo consumo de chocolates.....	57
4. Conclusão	59
Agradecimentos	60
5. Referências.....	60
CONCLUSÕES	66

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA: Análise de variância.

ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária.

AOAC: Associação de Comunidades Analíticas, do inglês *Association of Analytical Communities*.

BA: Bahia.

BMDL: *Benchmark Dose Lower Confidence Limit*.

CAC: *Codex Alimentarius Commission*.

CBR: *Cocoa butter non-lauric replacer*.

CBS: *Cocoa butter lauric based substitute*.

CCCF: Comitê Codex de Contaminantes de Alimentos, do inglês *Codex Committee on Contaminants in Foods*.

CCD: *Charge Coupled Device*.

CEPLAC: Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira.

CM: Costa do Marfim.

CRM: Material de Referência Certificado, do inglês *Certified Reference Materials*.

EFSA: *European Food Safety Authority*.

EQ: Equador.

ES: Espírito Santo.

EU: *European Union*.

FAO/WHO: Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura, do inglês *Food and Agriculture Organization of the United Nations and the World Health Organization*.

FAS AAS: Espectrometria de Absorção Atômica por Chama, do inglês *Flame Atomic Absorption and Emission Spectrometry*.

GF-AAS: Espectrometria de Absorção Atômica por Forno de Grafite, do inglês *Graphite Furnace Atomic Absorption*.

IBGE: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística.

ICCO: Organização Internacional do Cacau, do inglês *International Cocoa Organization*.

ICP OES: Espectrometria de emissão ótica com plasma acoplado indutivamente, do inglês *Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry*.

ICP-MS: Espectrometria de Massas com Fonte de Plasma com Acoplamento Indutivo, do inglês *Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry*.

INMETRO: Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia.

JECFA: Comitê Misto FAO/OMS de Especialistas em Aditivos Alimentares, do inglês *Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives*.

LMT: Limite Máximo Tolerável.

LOD: Limite de detecção.

LOQ: Limite de quantificação.

MAPA: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

MDCI: Ministério da Indústria, Comércio Exterior e Serviços.

MERCOSUL: Mercado Comum do Sul.

MMA: Ministério do Meio Ambiente.

PA: Pará.

PIB: Produto Interno Bruto.

PTFE: Politetrafluoroetileno.

PTMI: Ingestão Mensal Tolerável Provisória, do inglês *Provisional Tolerable Monthly Intake*.

RF: Radiofrequência.

RDC: Resolução de Diretoria Colegiada.

RO: Rondônia.

SAF: Sistema Agroflorestal.

SUFRAMA: Superintendência da Zona Franca de Manaus.

THQ: do inglês, *Target Hazard Quotient*.

USDA: Departamento de Agricultura dos Estados Unidos, do inglês *United States Department of Agriculture*.

US-EPA: Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos, do inglês *United States Environmental Protection Agency*.

WHO: Organização Mundial da Saúde.

INTRODUÇÃO

O cacau é um fruto popular e a partir de suas sementes obtém-se um dos alimentos mais conhecidos e apreciados no mundo todo, o chocolate. O seu sabor é condicionado a atributos genéticos, à variedade do cacauzeiro e por modificações que ocorrem durante o seu beneficiamento (SCHMIDT et al., 2015). A Costa do Marfim é o maior produtor mundial de amêndoas de cacau com produção anual de 1,9 mil toneladas de amêndoas, seguido por Gana, com 905 mil toneladas anuais (ICCO, 2019). O Brasil encontra-se entre os maiores produtores de cacau no mundo (6º lugar) e no ano de 2018 alcançou safra de 255 mil toneladas (IBGE, 2019).

Os produtos com alto teor de cacau caracterizam-se por possuir compostos benéficos à saúde, como os polifenóis que atuam na prevenção de reações oxidativas e de formação de radicais livres, bem como na proteção contra danos ao DNA celular. A epicatequina e a catequina são exemplos de componentes do cacau associado aos efeitos benéficos à saúde. Suas propriedades anti-inflamatórias, anticarcinogênicas, antitrombóticas, antimicrobianas, analgésicas e vasodilatadoras foram reportadas em estudos científicos (EFRAIM et al., 2011; SCHROETER et al., 2006). Além do mais, as amêndoas de cacau contêm vários minerais e suas sementes podem ser uma fonte importante de elementos essenciais, como Ca, Fe, K, Mg, Mn e Zn (PEIXOTO et al., 2012). Contudo, estudos recentes indicam que pode ocorrer a presença de elementos potencialmente tóxicos, como os contaminantes inorgânicos Cd, Pb, As e Ni (VILLA, et al., 2015; LO DICO et al., 2018).

A demanda mundial de cacau e a busca pela qualidade dos produtos aumentam a cada ano. No Brasil, a Resolução RDC nº 42, dispõe sobre os limites máximos de contaminantes inorgânicos em alimentos (BRASIL, 2013) e a União Europeia estabeleceu limite máximo para a Cd em cacau e produtos de chocolate no Regulamento (EU) nº 488/2014 (EU, 2014). Informações referentes à presença de contaminantes inorgânicos em produtos de cacau são escassas, sobretudo os produzidos no Brasil.

A presença dos contaminantes em cacau está fortemente relacionada a fatores ambientais da região onde é cultivado, sendo importante a realização de estudos sobre a ocorrência de Cd e Pb em amêndoas de cacau procedentes das principais regiões produtoras, de forma a garantir a saúde pública e a oferta de produtos seguros ao consumidor. Estes dados podem ser utilizados na avaliação da exposição a esses contaminantes, de modo que medidas prioritárias em gerenciamento de risco possam ser tomadas em âmbito nacional durante o controle de qualidade de produtos destinados ao consumo humano.

No presente trabalho foram estudados os contaminantes Cd e Pb em amêndoas de cacau e em produtos derivados do seu processamento (liquor, pó de cacau e manteiga de cacau). As amostras de amêndoas de cacau foram procedentes das principais regiões de produção mundial: Brasil, África e Equador. Para as amostras do Brasil foram adquiridas amêndoas das seguintes regiões: Rondônia, Bahia, Espírito Santo e Pará. A partir dos resultados obtidos foram realizados cálculos para a avaliação da estimativa de exposição associada ao consumo de produtos de cacau com a presença dos contaminantes inorgânicos Cd e Pb.

O capítulo 1 apresenta uma revisão bibliográfica sobre cacau e contaminantes inorgânicos e no capítulo 2 é apresentado o manuscrito a ser submetido para publicação no periódico *Food Control*.

Referências Bibliográficas

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC nº 42, de 29 de agosto de 2013. **Regulamento Técnico MERCOSUL sobre Limites Máximos de Contaminantes Inorgânicos em Alimentos**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 30 ago, seção 1, p.33-35, 2013.

EFRAIM, P.; ALVES, A. B.; JARDIM, D. C. P. Polifenóis em cacau e derivados: teores, fatores de variação e efeitos na saúde. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 14, n.3, p.1-21, 2011.

EU, European Union. Commission Regulation (EU) No 488/2014 amending regulation (EC) No 1881/2006 as regards maximum levels of cadmium in

- foodstuffs. **Official Journal of the European Union**, v.138, n.75, 12 May 2014.
- IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e estatística. **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola (LSPA)**. Tabela 1618 - Área plantada, área colhida e produção, por ano da safra e produto das lavouras, Dezembro de 2019. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/1618>. Acesso em: 10jan. 2020.
- ICCO, International Cocoa Organization. **Quarterly Bulletin of cocoa Statistics: Cocoa year 2018/19**, XLV, No. 3, Published: 30-08-2019. Disponível em: <https://www.icco.org/statistics/production-and-grindings/production.html>. Acesso em: 10 jan. 2020.
- LO DICO, G. M.; GALVANO, B. F.; DUGOC, G.; D'ASCENZID, C.; MACALUSOA, A.; VELLAA, A.; GIANGROSSOA, G.; CAMMILLERIA, G.; FERRANTELLIA, V. Toxic metal levels in cocoa powder and chocolate by ICP-MS method after microwave-assisted digestion. **Food Chemistry**, v.245, p.1163-1168, 2018.
- PEIXOTO, R. R. A.; OLIVEIRA, A.; CADORE, S. Multielemental determinations in chocolate drink powder using multivariate optimization and ICP OES. **Journal Agriculture Food Chemistry**, v.60, p.117–8122, 2012.
- SCHIMIDT, F. L.; EFRAIM, P.; BIASI, L. C. K.; FERREIRA, R. E. **Pré-processamento de frutas e hortaliças, café, cacau e cana de açúcar**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2015. 153p.
- SCHROETER, H.; HEISS, C.; BALZER, J.; KLEINBONGARD, P.; KEEN, C. L.; HOLLENBERG, N. K.; SIES, H.; KWIK-URIBE, C.; SCHMITZ, H.H.; KELM, M. (-)-Epicatechin mediates beneficial effects of flavanol-rich cocoa on vascular function in humans. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.103, p.4, 2006.
- VILLA, J. E. L.; PEREIRA, C. D.; CADORE, S. A novel, rapid and simple acid extraction for multielemental determination in chocolate bars. **Microchemical Journal**, v.121, p.199-204, 2015.

OBJETIVOS

OBJETIVO PRINCIPAL

Este trabalho teve como objetivo a determinação de cádmio e chumbo em amêndoas de cacau procedentes do Brasil (Rondônia, Bahia, Pará e Espírito Santo), da África (Costa do Marfim) e do Equador e em produtos derivados do seu processamento (liquor, pó de cacau e manteiga de cacau) utilizando a técnica de espectrometria de emissão ótica com plasma acoplado indutivamente (ICP OES).

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar dois procedimentos de preparo de amostras para a determinação de Cd e Pb em amêndoas de cacau: a digestão ácida em sistema fechado assistida por micro-ondas (via úmida) e decomposição por via seca;
- Realizar a validação do método escolhido avaliando as figuras de mérito, linearidade, limites de detecção e quantificação, precisão e exatidão;
- Avaliar a ocorrência de Cd e Pb em amêndoas de cacau procedentes do Brasil, África e Equador;
- Avaliar os níveis destes contaminantes nos produtos derivados obtidos após o processamento (liquor, pó e manteiga de cacau);
- Comparar os resultados obtidos para Cd e Pb com os limites estabelecidos pelas legislações vigentes;
- Calcular a estimativa de exposição aos contaminantes Cd e Pb pela ingestão de chocolate por crianças e adultos.

CAPÍTULO 1

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1. CACAU

1.1 Origem, produção e mercado

O cacauero é nativo da floresta tropical da América do Sul e foi encontrado inicialmente nas bacias dos rios Amazonas e Orinoco. Na história há relatos dos frutos de cacau como parte da cultura indígena entre Astecas (México) e Maias (América Central). O Brasil registrou oficialmente o cultivo do cacau no ano de 1679 por meio da Carta Régia que autorizava a plantação em terras pelos colonizadores (CEPLAC, entre 2005-2020^a; SILVA NETO et al., 2001).

O cacauero ocorre naturalmente entre diferentes árvores o que possibilita a produção agrícola com cultivo agroflorestal, contudo o cultivo intensivo (pleno sol) também ocorre. Segundo o Ministério do Meio Ambiente, os projetos agroflorestais são realizados por meio de ações de regeneração e recuperação florestal, no mesmo campo agrícola da restauração ou em área da propriedade (MMA, 2011). No sul da Bahia, a produção de cacau empregando o Sistema Agroflorestal (SAF) se relaciona com a preservação de matas e a conservação de espécies da região, possivelmente pelo uso da terra em tradicionais áreas de cultivo do cacau sombreado (FARIA et al., 2006).

Alternativas tem sido estudadas para proporcionar aos produtores de cacau os ganhos econômicos em função dos serviços ecológicos existentes em uma produção em SAF, ou seja, o desenvolvimento de um instrumento com objetivo de proteger e manejar com sustentabilidade florestas tropicais e que gerem uma fonte alternativa de renda entre os produtores cacaueros. Uma vez que florestas estão em efeito de pressão por desmatamento e degradação, ao mesmo tempo que populações rurais estão ali presentes (MMA, 2011). Segundo estudo com produção no Pará (Xingu) em SAF de cacau, a avaliação das relações entre a biomassa, carbono e produtividade podem oferecer o benefício como o serviço ecológico de estoque de carbono. Ainda, o SAF de cacau sombreado potencialmente pode sequestrar mais carbono que a pleno sol, pois permitem, por exemplo, a permanência de árvores de grande porte no sistema (BONAMICO, 2017).

As principais áreas de produção de cacau compreendem o oeste da África, o sudeste da Ásia e a América do Sul (BECKETT, 2008). A Costa do Marfim é o maior produtor de amêndoas de cacau do mundo, com estimativa de produção em

2017/2018 de 1964 mil toneladas seguido por Gana. Nesse sentido, a África ofereceu entre 2017/2018 o equivalente a 75% da oferta mundial de amêndoas. A América, contemplando Brasil e Equador, representaram 18% da produção anual global estimados no mesmo período (ICCO, 2019).

O cacau é um fruto de impacto econômico, constituindo um importante nicho para exportação agrícola, sendo que têm significativa contribuição para o Produto Interno Bruto (PIB) nas regiões da Costa do Marfim, Nigéria e Camarões. Por outro lado, os países que mais importam e realizam o processamento das amêndoas de cacau estão na Europa (Alemanha e Holanda) e representaram 37% da aquisição e moagem na estimativa 2017/2018 (ICCO, 2019; KONGOR, 2017; ANANG et al., 2013). O Brasil importou em 2018 cerca de 62 mil toneladas de amêndoas de cacau de países do continente africano, indicando o potencial da indústria nacional em processamento para obtenção de derivados e necessidade de aquisição de amêndoas de cacau (AIPC, 2019).

O Brasil encontra-se entre os maiores países produtores de cacau. Dados indicam que em 2018 a safra foi de 255 mil toneladas, com rendimento médio de 435 quilos de cacau por hectare. Analisando-se o contexto nacional em 2018 para a produção de cacau em amêndoas, verifica-se que as maiores regiões produtoras são o Nordeste e o Norte. Em 2018, a Bahia foi o maior estado produtor com rendimento de 123 mil toneladas, seguido do Pará (116 mil toneladas) e o Espírito Santo (10 mil toneladas) (IBGE, 2019).

A Bahia permanece entre os estados de maior produção nacional de amêndoas de cacau, conforme a Figura 1, mesmo tendo como realidade no campo as doenças agrícolas, como o fungo conhecido por vassoura-de-bruxa (*Moniliophthora perniciosa*), a falta de chuvas e preço baixo. O estado alcançou a recuperação de produção e maior produtividade por hectare em iniciativas de tecnologia genética, práticas agrícolas e produção com marcas de chocolates de origem. No entanto, o Brasil comprou em 2018 entre 86 mil toneladas de chocolate (Suíço) e 36 mil toneladas de derivados de cacau da Indonésia, Holanda e Costa do Marfim. O país ainda exportou 616 toneladas de amêndoas de cacau produzida no mesmo período, principalmente para o Japão, França e Suíça (IBGE, 2019; AIPC, 2019).

Segundo a Resolução RDC nº 264, de 22 de setembro de 2005 o chocolate no Brasil é definido como o produto obtido a partir da mistura de derivados de cacau (*Theobroma cacao* L.), massa (ou pasta ou liquor) de cacau, cacau em pó e ou manteiga de cacau, com outros ingredientes, contendo, no mínimo, 25 % (g/100 g) de sólidos totais de cacau (ANVISA, 2005).

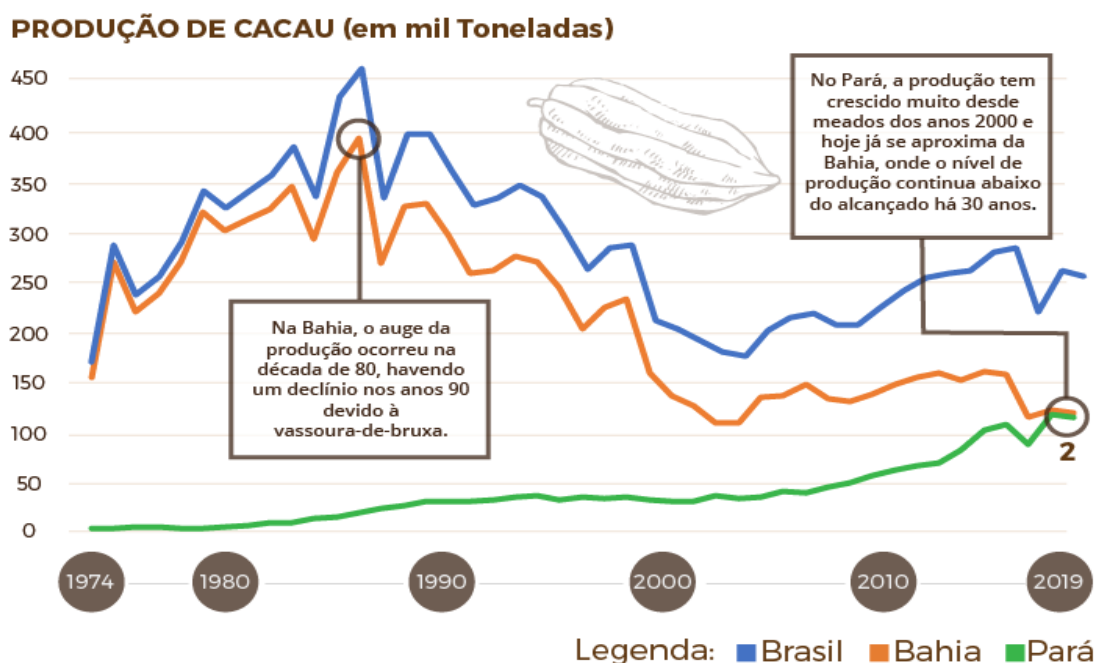


Figura 1. Produção de cacau entre os anos de 1974 a 2019.

Fonte: MAPA (2019).

1.2 Cultivo e variedades

O cacauero *Theobroma cacao* L. pertence à classe Magnoliopsida, ordem Malvales, família *Malvaceae*, gênero *Theobroma* L. e espécie *cacao*, sendo o principal fruto do gênero cultivado, devido ao valor e importância das sementes (LOPES et al., 2008; SILVA NETO et al., 2001).

O cacau foi mencionado pela primeira vez na botânica por Charles de L'Écluse que o descreveu com o nome de *Cacao fructus*, no início do século XVII. Em 1737 foi classificado por Carolus Linneu como *Theobroma fructus* e por fim, alterado em 1753, como é conhecido hoje, *Theobroma cacao* L. (SOUZA et al., 2018).

Os principais cultivos comerciais de cacau no mundo encontram-se entre 20°N e 20°S da linha do Equador em regiões ambientais adequadas ao manejo. Os cacagueiros são seletivos quanto ao local de crescimento, incluindo o tipo de solo que preferem. No Brasil, os principais estados produtores de cacau estão localizados em uma ampla faixa de latitude, o que confere atributos únicos entre os países produtores de cacau no mundo (SCHMIDT et al., 2015). Contudo, os cultivos de cacau ocorrem em um cinturão verde (Figura 2) onde as duas principais regiões para a indústria cacagueira (África Ocidental e Amazônia) estão em situação de risco ambiental (MONFREDA et al., 2008).



Figura 2. Distribuição global do cacau.
Fonte: adaptado de Monfreda et al. (2008).

O cacagueiro é uma planta perene de ciclo produtivo maior que 100 anos, no entanto, o ciclo produtivo ideal é de 35 anos, com rendimento econômico após seis anos do plantio (SUFRAMA, 2003). A produtividade esperada a partir do sétimo ano é de 1200 a 1500 quilos de cacau por hectare (CEPLAC, entre 2005-2020^a).

Há dois métodos tradicionais de plantio para o cacau: pleno sol e cultivo agroflorestal. O método sob o sol apresenta menor vida útil ao cacagueiro, sendo mais comum no Brasil nos estados do Pará e Espírito Santo. O método cabruca é uma forma de cultivo em SAF comum na Bahia, onde o cacagueiro fica à sombra de árvores de maior porte. Este sistema apresenta maior tempo de vida para o cacagueiro (MULLER & GAMA-RODRIGUES et al., 2012).

Em Sistema Agroflorestal o cultivar apresenta importância ambiental para a proteção contra erosão e degradação dos solos, conservação de remanescentes florestais e conservação de espécies arbóreas de valor ecológico, ou seja, proteção e alimentação à fauna, às espécies endêmicas e às espécies em extinção. Ainda, o cacau tem importância na conservação de nascentes e cursos d'água, substituição das matas ciliares, o que promove o funcionamento por proteção e atuação de corredores ecológicos interligando fragmentos florestais (LOBÃO, 2004; SCHROTH et al., 2004).

O cacaueteiro necessita de solo com partículas grossas com boa retenção de água, drenagem e com quantidade razoável de nutrientes, a cerca de uma profundidade de 1,5 metros para o seu desenvolvimento radicular (Figura 3). Quanto ao pH, este pode variar de 5,0 a 7,0. Sabe-se que o pH é crítico na solubilidade de minerais e nutrientes, portanto é um indicador para parâmetros do solo (OLOLADE et al., 2010).

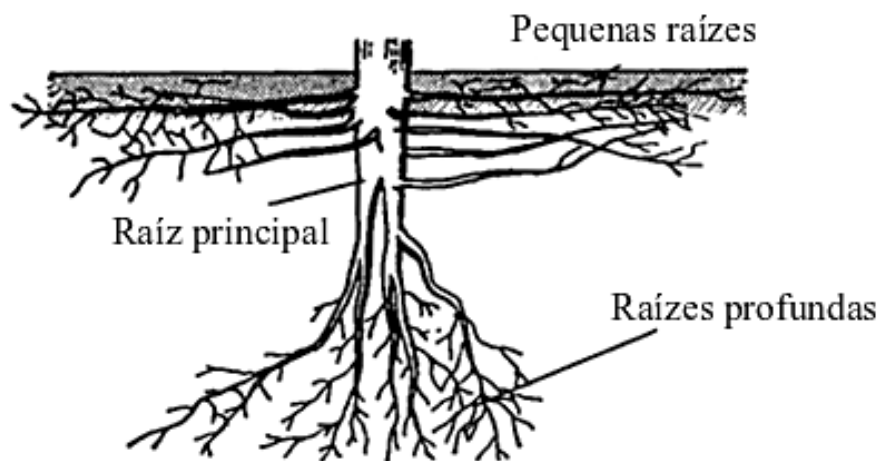


Figura 3: Raízes em cacaueteiro.

Fonte: Adaptado de FAO (1984).

Solos tropicais e subtropicais precisam da matéria orgânica para a manutenção da sustentabilidade, pois o seu incremento permite o ganho na fertilidade, aumento da capacidade de troca de cátions, melhoria nas características químicas, físicas e biológicas. Para as culturas de cacau é indicado que os primeiros 15 centímetros de solo contenham matéria orgânica, o que inclui os restos de plantas, animais e microrganismos em todos os estágios de decomposição. A

falha entre a adição da matéria orgânica no solo e o processo de decomposição, não permite que o sistema entre em um novo equilíbrio, promovendo a exaustão do sistema e a degradação do solo (OLOLADE et al., 2010; BARRETO et al., 2006).

O fruto de cacau apresenta pericarpo de três partes: o epicarpo, que pode ser pigmentado, o mesocarpo, menos lignificado e o endocarpo, que é carnudo e não muito espesso (Figura 4).

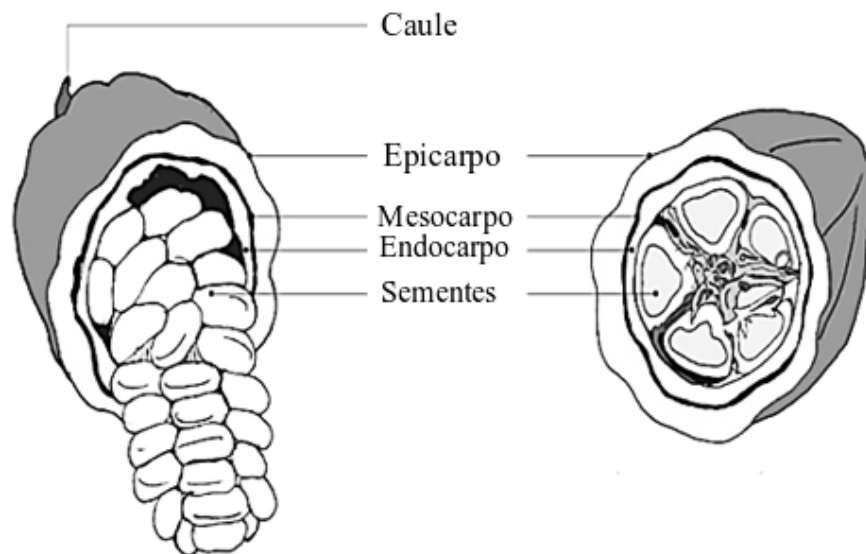


Figura 4. Secções longitudinais do fruto de cacau.

Fonte: adaptado de CAC (2013).

Em estágio imaturo do fruto verifica-se coloração verde, já em estágio maduro, coloração amarela. Ainda, outros são roxos na fase de desenvolvimento e laranja no período de maturação. A quantidade de frutos necessários para obter 1 kg de cacau comercial é na maioria das vezes de 15 a 31 frutos. A fase de polinização até o amadurecimento dos frutos pode durar de 140 a 205 dias, média de 167 dias (SILVA NETO et al., 2001).

Conforme Figura 5, a semente do cacau apresenta forma variada, podendo ser elipsoide a ovoide, com comprimento de 2 a 3 cm. O embrião da semente corresponde a dois cotilédones, este de cores que vão do branco ao violeta. Verifica-se envolta à semente uma polpa branca mucilaginosa que tem um sabor ácido e doce. As sementes são muito sensíveis à desidratação, em mudanças de temperatura morrem em um curto tempo (AFOAKWA, 2015).

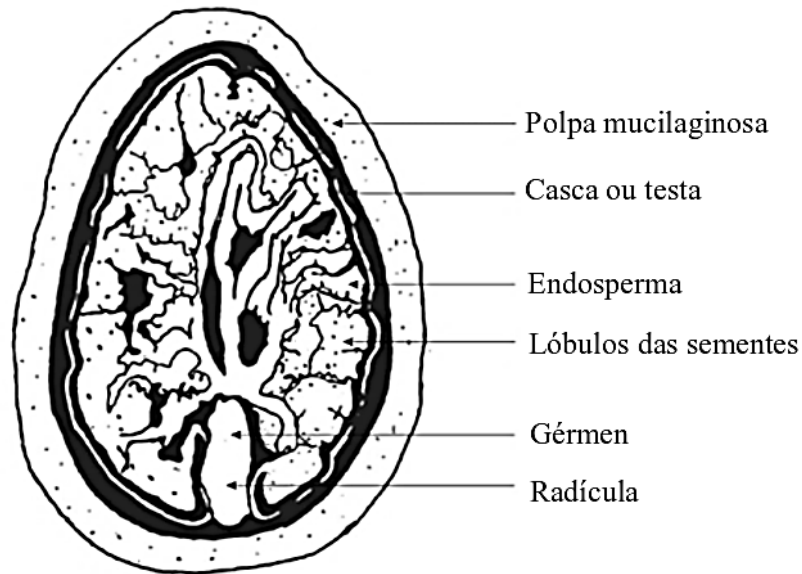


Figura 5. Seção longitudinal da semente de cacau.

Fonte: adaptado de CAC (2013).

Há três variedades comuns de cacau que são produzidas comercialmente: Criollo e Forastero (Figura 6) e Trinitário, um híbrido. As variedades apresentam diferenças quanto ao aspecto de vagens, rendimento de sementes, características de sabor e resistência a pragas e doenças (AFOAKWA, 2015).



Forastero

Criollo

Figura 6. Variedades de cacau.

Fonte: FAO (1984).

O Criollo é o cacau original, descrito como variedade nativa encontrada na Floresta Amazônica. Atualmente apresenta baixa produção mundial, sendo proveniente do norte, sul e centro América. Possui sementes grandes e cotilédones

de coloração branca ou violeta clara devido a um gene inibidor de antocianina (FERRÃO, 2002; FOWLER, 2008). As antocianinas pertencem ao grupo de metabólitos secundários vegetais (flavonoides) e são pigmentos naturais. As principais funções das antocianinas em vegetais incluem a atração de polinizadores e dispersores e proteção a tecidos da planta no ciclo de vida (GRIS et al., 2007). O pH é o fator que mais influência na coloração das antocianinas, visto que, em função de sua acidez ou alcalinidade, estas podem apresentar diferentes estruturas (BORDIGNON et al., 2009).

As amêndoas da variedade Criollo quando processadas corretamente originam chocolates e outros derivados com sabor mais suave, frutado, pouco amargo e considerado fino. O cacau Criollo é relatado como contendo alta quantidade de pirazinas (compostos formados pela Reação de Maillard) e exibe pH baixo, o que afeta facilmente o perfil do sabor. A variedade Criollo apresenta baixo rendimento e é suscetível a doenças, desta maneira é raro o seu cultivo. (ORTIZ de BERTORELLI et al., 2009; THOMPSON et al., 2007; FERRÃO, 2002).

O cacau Forastero, nativo da bacia amazônica, compreende a maior produção mundial de cacau e é comumente referido como cacau bulk no comércio. O cacau Forastero é cultivado na África Ocidental, particularmente na Costa do Marfim, Gana, Nigéria e Camarões. As sementes são planas, adstringentes e de cor púrpura, devido à maior presença de antocianinas. Os cacaueiros do Forastero são produtivos e considerados moderadamente resistentes a pragas e doenças (SALTINI et al., 2013; LIMA et al., 2011; FERRÃO, 2002).

O tipo Trinitário é o híbrido das variedades Criollo e Forastero, de ocorrência espontânea na natureza. Apresenta de média a baixa produção mundial, sendo cultivado na América Central. Nesta variedade os cotilédones das sementes apresentam coloração variando de branca à violeta-pálida (MOTAMAYOR et al., 2008; PIRES, 2003).

Os híbridos de cacau conferem, dentre as características de cultivar selecionado, a tolerância ou resistência a doenças de importância regional além de adaptabilidade local. O controle de doenças no Equador e em Trinidad na década de 40 utilizou o clone resistente (variedade SCA 6) e cruzamentos com trinitários para incremento do tamanho das sementes (CEPLAC, entre 2005-2020^a).

1.3 Pré-processamento

O beneficiamento do cacau destina-se à obtenção de um produto de qualidade e inclui as seguintes etapas de pré-processamento das sementes: colheita, quebra dos frutos, fermentação, secagem e armazenamento (Figura 7) (RUSCONI, et al., 2010; COHEN et al., 2003).

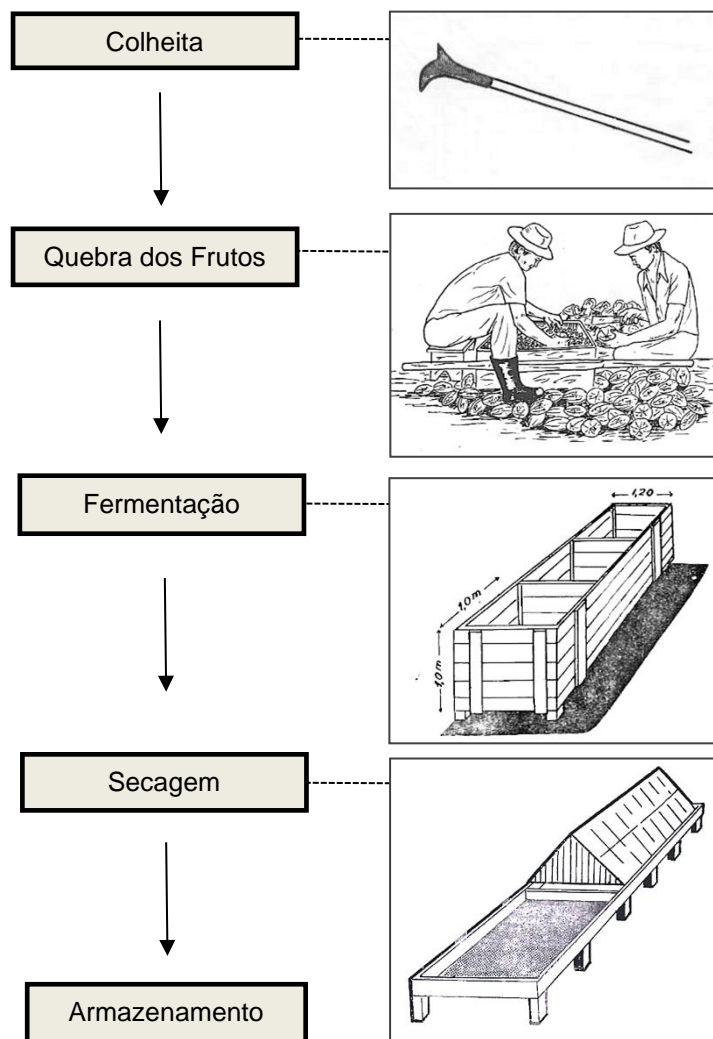


Figura 7. Etapas de pré-processamento das sementes de cacau.
Fonte: Adaptado de Costa et al. (1973) e CEPLAC (entre 2005-2020^b).

Colheita – Os frutos do cacau são considerados não climatéricos, assim é necessária a colheita em grau adequado de maturação, de maneira a oferecerem as quantidades de açúcares desejáveis para o melhor aproveitamento na etapa fermentativa. A colheita é realizado com faca, facão ou podão (SILVA NETO et al., 2001).

Quebra dos Frutos – Logo após a colheita, tem-se a abertura dos frutos e a separação do material interno onde se encontram as sementes de cacau envoltas por uma polpa mucilaginosa. As sementes juntamente com a polpa passam por um processo natural de fermentação, essencial para a formação dos precursores de sabor e aroma em chocolates (SCHMIDT et al., 2015).

Fermentação – Para a fermentação, as sementes do cacau mole passam para caixas de madeira, chamadas cochos, instalados em locais cobertos e protegidos. A fermentação provoca a liquefação da polpa, devido à quebra de açúcares e mucilagem pela presença de leveduras, bactérias naturais e enzimas (FERRÃO, 2002). Desta maneira, na fermentação ocorre hidrólise proteolítica e hidrólise dos açúcares presentes. O objetivo da fermentação é a eliminação da polpa, a oxidação das antocianinas, a diminuição da adstringência, do amargor e do teor de alcaloides nas amêndoas. Na fermentação há a morte do gérmen e a semente perde a capacidade de reprodução (SCHMIDT et al., 2015; ORTIZ de BERTORELLI et al., 2009).

A fermentação apresenta as fases anaeróbica e aeróbica. Na fase anaeróbica os açúcares são transformados em etanol. Esta etapa ocorre nas primeiras 24h–48h da fermentação, geralmente no fundo do cocho devido ao sistema permanecer sem movimentação. Nesta fase ocorre desenvolvimento das leveduras *Sacharomyces cerevisiae* e *Sacharomyces chevalieri*. A etapa aeróbica da fermentação tem o seu início no estágio de revolvimento das sementes no cocho, onde se incorpora oxigênio ao processo. A fermentação aeróbica atinge temperatura de 45 a 50°C e há produção de ácido acético e láctico. Estão envolvidos no processo aeróbico os microrganismos: *Lactobacillus fermenti*, *Lactobacillus plantarum*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Streptococcus lactis*, *Lactobacillus acidophilus* e *Lactobacillus bulgaricus* (EFRAIM, 2011; SILVA NETO et al., 2001).

O excesso de polpa nas sementes de cacau durante a fermentação leva a uma alta produção de ácido, o que é prejudicial para o sabor final. Desta maneira, a redução da polpa é importante, alterando o teor de açúcar fermentado pela semente e, com isto provocando menor produção de ácido na fermentação (AFOAKWA & PATTERSON, 2010). O processo de fermentação acontece entre 2 e 8 dias, encerrando-se com a etapa seguinte de secagem. A variedade de cacau

Criollo apresenta fermentação mais curta de 3 a 5 dias, já para a variedade Forastero tem-se a fermentação mais longa, de 5 a 7 dias (FERRÃO, 2002; SILVA NETO et al., 2001).

Álcoois, aldeídos e cetonas são os principais grupos de compostos encontrados no cacau cru e no início da fermentação (1 ou 2 dias); álcoois, ésteres e ácidos, principalmente ácido acético, são desenvolvidos no meio da fermentação (3 a 5 dias), e na fermentação final, com 6 a 8 dias, verifica-se presença de ácidos, ésteres e álcoois. O processo de fermentação tem maior impacto no perfil de compostos voláteis, comparado à etapa de secagem. As concentrações de alguns compostos indesejáveis ocorridos após 8 dias de fermentação sugerem excesso de fermentação, dispensando longos períodos nesta etapa (RODRIGUEZ-CAMPOS et al., 2011). Por fim, para a fase de fermentação, vale destacar a prova de corte ou *cut test*, indicador de que a massa foi bem fermentada. Este método consiste em uma análise subjetiva, relacionando-se o aspecto da amêndoa, como a coloração, ao longo da fermentação. O teste é feito com o corte de algumas amêndoas no sentido do seu comprimento, sendo consideradas ideais as amêndoas de cor ligeiramente marrom com um anel de contorno de cor marrom escuro, quase sempre com formação de galerias na superfície (EFRAIM, 2009).

Secagem e Armazenamento – O processo de secagem tem como objetivo diminuir o teor de umidade das amêndoas para 5-7%, além da redução de acidez e da continuidade de processos bioquímicos iniciados na fermentação, os quais promovem sabor, aroma e cor. A secagem mais comum é feita naturalmente à luz do sol, contudo, em épocas ou regiões com alto índice pluviométrico utilizam-se secadores rotativos ou fornos. A secagem natural é feita em instalações com teto móvel ou estufas. O tempo de secagem depende do clima e tem duração de 7 a 10 dias (ARAUJO et al., 2014).

A secagem com ar forçado é mais rápida do que a secagem ao sol, no entanto, há menor eliminação do ácido acético, menor desenvolvimento de sabor e aroma, maior adstringência e amargor. A secagem com ar forçado tem duração de 2 a 3 dias, em média. Usam-se diferentes tipos de secadores de ar forçado, como o secador de bandeja, circular e rotativo, sendo a temperatura ideal por volta de 30 a 35°C na massa de amêndoas. Após as sementes serem fermentadas e secas, estas passam a ter a denominação de amêndoas. As amêndoas fermentadas e

secas são geralmente acondicionadas em sacos de aniagem (tecido de juta, linho cru, algodão ou com outra fibra vegetal/ polimérica) de 60 kg (SCHMIDT et al., 2015; EFRAIM et al., 2009; ORTIZ de BERTORELLI et al., 2009)

1.4 Processamento

O cacau é um cultivar perene comercialmente explorado para a produção de amêndoas. O processamento das amêndoas fermentadas e secas inclui limpeza, desbacterização, quebra e separação, torrefação, moagem, refino e prensagem. As etapas de processamento destinam-se à obtenção das principais matérias primas: o liquor, o pó de cacau e a manteiga de cacau (Figura 8) (SCHMIDT *et al.*, 2015).

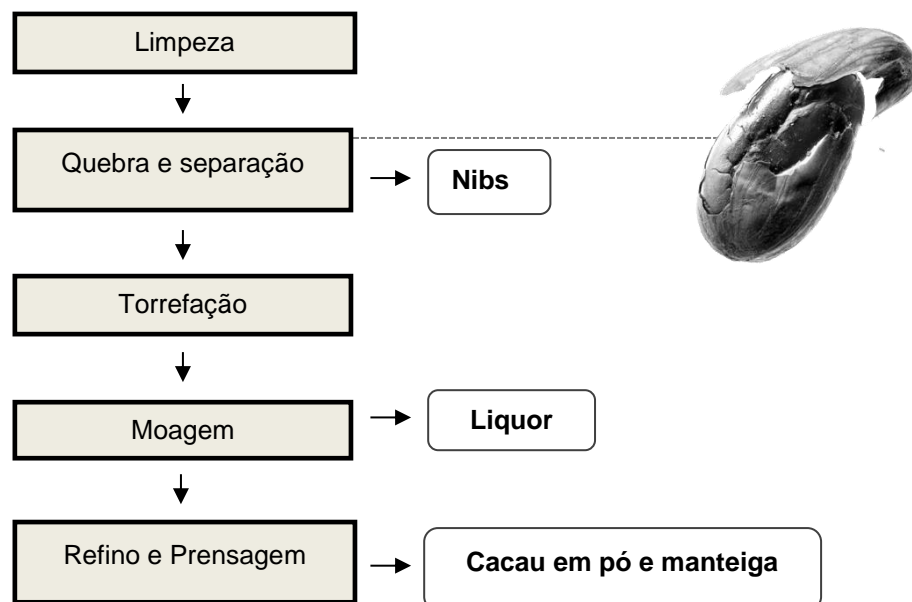


Figura 8. Processamento de amêndoas de cacau.

Fonte: Adaptado de Okiyama, 2017.

Limpeza – As amêndoas pré-processadas são limpas em peneiras antes do procedimento de torrefação. O objetivo da limpeza é retirar partículas como cascas, pedras, pedaços de madeira, frações metálicas e insetos. Um material contaminado por fragmentos ocasiona perda de qualidade no processo tecnológico, como a formação de gases durante a torrefação. As operações de limpeza incluem separação por peneiras, com diferentes tamanhos, aspiração de pós-finos e leves, uso de imãs para retirada de partículas metálicas e ventilação, por uso da diferença de densidade (COHEN et al., 2003).

Pré-Tratamento térmico e desbacterização– Pode ser utilizado um pré-tratamento térmico com uso de aquecimento em condições mais amenas comparado à torrefação. Esta etapa causa evaporação da umidade no interior da amêndoa, aumentando a friabilidade da casca e provocando a sua expansão, o que facilita a separação dos cotilédones e da casca. Alguns sistemas promovem um efeito desbacterizante da superfície das amêndoas, especialmente em equipamentos com uso de vapor e de raios ultravioletas (AFOAKWA, 2015).

Quebra e Separação – Na sequência da etapa de limpeza há a quebra das amêndoas e separação dos cotilédones e da casca (ou testa). O material é classificado conforme interesse em nibs e por tamanho. Os nibs são os cotilédones fragmentados das amêndoas, livres de casca e gérmen. Se ocorrer a presença de casca e gérmen em etapas seguintes, confere-se gosto amargo e textura fibrosa ao produto (BECKETT, 2008).

Torrefação – A torrefação das amêndoas inteiras ou nibs é um tratamento térmico que diminui a umidade do produto para aproximadamente 2%. Nessa etapa há diminuição da presença de ácidos voláteis, principalmente o acético, inativação de enzimas e micro-organismos que podem degradar a manteiga de cacau e causar mudanças de textura dos cotilédones. Na torrefação ocorre a reação de Maillard, onde aminoácidos reagem com açúcares redutores formando compostos voláteis, pirazinas, carbonilas, hidrocarbonetos, cetonas, furanos e outros heterocíclicos bem como a formação de melanoidinas. Esta etapa envolve os fatores tempo e temperatura para controle do processo e geralmente, emprega ar quente em temperatura de 120°C por 15 minutos até 2 horas. Interfere na torrefação a variedade escolhida do cacau, as condições de cultivo, os tratamentos de processamento anteriores, umidade e ácidos voláteis presentes, tamanho das amêndoas e nibs. Quanto aos equipamentos, os torradores utilizados podem ser do tipo circular, tambor rotativo, com aquecimento direto ou a vapor, e torradores contínuos (DJIKENG et al., 2018; MOUNJOUENPOUA et al., 2018).

Moagem e refino – As amêndoas torradas seguem para as etapas de moagem e refino, formando-se uma massa ou liquor de cacau. Na obtenção do liquor os nibs são moídos e refinados, com granulometria ideal em torno de 20 a 24 µm. Os moinhos para moagem dos nibs mais utilizados são o moinho tipo martelo e moinho de pinos. Para o refino utiliza-se moinho de cilindros ou moinho de

esferas. As propriedades reológicas do liquor de cacau, como a viscosidade, são aspectos que afetam o processamento e obtenção da manteiga e pó de cacau (COHEN et al., 2003).

Prensagem Hidráulica – A prensagem hidráulica da massa ou liquor de cacau resulta na obtenção da torta e da manteiga de cacau. O cacau em pó provém da prensagem da torta de cacau e contém 10-12% de gordura. Os principais parâmetros de qualidade do cacau em pó são a cor, o sabor e o pH (SCHMIDT et al., 2015; EFRAIM et al., 2009; BECKETT, 2008).

1.5 Amêndoas e produtos derivados

Amêndoas – As características físico-químicas e sensoriais das amêndoas de cacau são atribuídas a variedade do cacauzeiro, o cultivo e o processamento. As etapas de pré-processamento são geralmente realizadas no país de origem e desempenham uma função crítica no perfil de sabor das amêndoas (KRÄHMER et al., 2015). A composição química de amêndoas de cacau após fermentação e secagem incluem em nibs aproximadamente: 3,2% de água; 57% de gordura; 4,2% de cinzas; 2,5% de nitrogênio total; 1,3% de teobromina; 0,7% de cafeína; 9% de amido e 3,2% de fibras. As cascas das amêndoas de cacau apresentam em sua composição química: 6,6% de água; 5,9% de gordura; 20,7% de cinzas; 3,2% de nitrogênio total; 0,9% de teobromina; 0,3% de cafeína; 5,2% de amido e 19,2% de fibras (BECKETT, 2008). Os compostos de sabor nas amêndoas de cacau são formados durante a torrefação, a partir de precursores gerados durante o processo de fermentação e secagem, sendo que mais de 600 compostos de sabor foram identificados a partir de grãos de cacau e de produtos derivados (CRAFACK et al., 2014).

Liquor de Cacau – O liquor de cacau é obtido das amêndoas pré-processadas moídas e refinadas. Apresenta composição de lipídios (48-54%), fibras, proteínas, açúcares, compostos fenólicos, minerais, teobromina, cafeína e água. O liquor de cacau apresenta ponto de fusão de 34°C. No produto com uso do liquor de cacau verifica-se sabor amargo e cor marrom. O liquor de cacau feito a partir de massa de cacau *bulk* (comumente a variedade Forastero) possui sabor característico para fabricação de chocolates, sendo bem aceito comercialmente.

Contudo, o produto proveniente de cacau fino (variedade Criollo) apresenta sabor mais suave, notas florais, de frutas e nozes (SILVA, 2013; SUKHA, 2008).

As características organolépticas, físico, químicas e microbiológicas são parâmetros de qualidade para o liquor de cacau. Neste sentido podemos dividir o liquor em 3 produtos distintos quanto a cor: marrom (liquor natural), marrom escuro (liquor alcalino) e marrom avermelhado (liquor vermelho) e que apresentam variações na composição de gordura e de pH (SUKHA, 2008).

Manteiga de Cacau– Apresenta coloração amarela, e ponto de fusão entre 30-35°C. A cristalização adequada ocorre em temperatura menor de 26,7°C tornando-se quebradiça. A composição da manteiga de cacau muda conforme o local e meio de cultivo do cacauzeiro, clima e tipo de solo, variando-se os teores de ácidos graxos e triacilgliceróis. A manteiga de cacau apresenta composição principalmente de ácidos graxos saturados esteárico (C18:0) variando entre 32 a 36%, palmítico (C16:0) com 24 a 27% e ácido oleico (C18:1) monoinsaturado de 33 a 37%. Possuem compostos minoritários, como tocoferóis, carotenos e esteróis (JAHURUL et al., 2013; VENTER et al., 2007).

Cacau em Pó – O cacau em pó é obtido da moagem da torta de cacau e seu refino em temperatura controlada. Os tipos de cacau em pó variam em cor e no teor de gordura podendo ser encontrado como cacau em pó magro (10-12% de manteiga de cacau) ou gordo (20% de manteiga de cacau). O meio de obtenção pode ser natural, alcalino ou lecitinado. O tipo conhecido como natural é feito a partir da moagem direta após extração parcial da manteiga de cacau, com sabor mais agressivo. O cacau em pó tipo alcalino obtido com uso de álcalis carbonato de potássio, amônio ou de sódio, contém sabor e cor modificados no processo. O cacau em pó lecitinado é o mais utilizado em bebidas e possui melhor dispersabilidade do cacau. O cacau em pó apresenta em sua composição proteínas, fibras, polifenóis, vitaminas e minerais. Os parâmetros de qualidade avaliados para o cacau em pó são a cor, a granulometria e o pH. O cacau em pó é utilizado comercialmente na formulação de chocolates, achocolatados e *compounds* (BECKETT, 2008; COHEN et al., 2003). Os *compounds* são denominados substitutos do chocolate, onde a manteiga de cacau é total ou parcialmente substituída por uma gordura vegetal, como por exemplo, a gordura

fracionada de palmiste (*Cocoa butter substitute* –CBS) ou a hidrogenada de algodão (*Cocoa butter replacer* – CBR) (LIMA, 2000).

2. CONTAMINANTES INORGÂNICOS

Os contaminantes inorgânicos entram na cadeia alimentar por meio da ingestão de água ou alimentos cultivados em ambientes contaminados (Figura 9) e também por meio da inalação de material particulado contendo os elementos. As principais fontes de contaminantes inorgânicos são a antropogênica, a utilização de água contaminada na irrigação de sistemas agrícolas, os fertilizantes, os pesticidas, a queima de biomassa, a combustão de carvão e de óleo, a emissão de poluentes de veículos, a incineração de resíduos urbanos, industriais e as atividades de fundição e mineração (CAC, 2018; OGA, 2003). O movimento dos metais no meio ambiente acontece com a redistribuição por meio de ciclos biológicos e geológicos. Ciclos biológicos movendo metais incluem a biomagnificação por plantas e animais resultando na incorporação em ciclos alimentares (KLAASSEN & WATKINS, 2012).

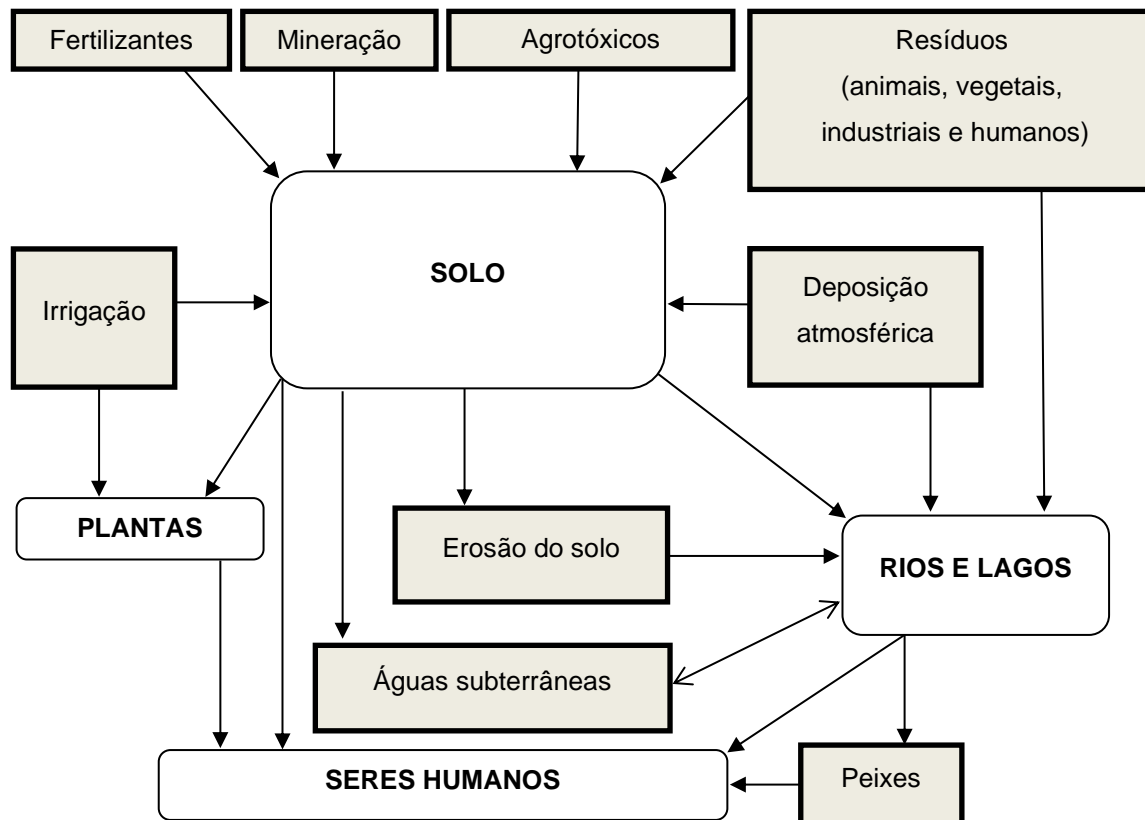


Figura 9. Vias de exposição aos contaminantes inorgânicos pelo homem e fontes de adição no meio ambiente.

Fonte: Adaptado de Martins et al. (2011)

2.1 Cádmi

O cádmio é um contaminante inorgânico que apresenta alta toxicidade. Ele é obtido como subproduto da fundição de zinco e chumbo e cerca de 75% do que é produzido utiliza-se em baterias. O cádmio também é utilizado em pigmentos para tintas e plásticos (OGA, 2003).

Os alimentos constituem a principal fonte de cádmio para a população em geral e muitas plantas acumulam prontamente o elemento do solo, sendo que tanto as fontes naturais quanto as antropogênicas ocorrem nele. Por outro lado, o tabagismo é a principal fonte não ocupacional de exposição ao cádmio (SATARUG et al., 2003.)

A toxicidade aguda pela ingestão de elevada concentração de cádmio na forma de bebidas ou alimentos altamente contaminados causa irritação grave no epitélio gastrintestinal, levando a náuseas, vômitos e dor abdominal. A longo prazo

os principais efeitos tóxicos resultantes da exposição a baixos níveis de cádmio são danos renais, doenças pulmonares, osteoporose e doenças cardiovasculares. Estudos epidemiológicos sugerem que o cádmio pode ser um agente etiológico para a hipertensão essencial e a mitocôndria cardíaca pode ser o local da redução da contratilidade miocárdica induzida pelo metal. É sugerida também uma relação entre a exposição ao cádmio em crianças e adultos e o comportamento anormal e a diminuição de inteligência (CAC, 2018; KLAASSEN & WATKINS, 2012; SATARUG et al., 2003).

O *Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives* (JECFA) estabelece uma ingestão mensal tolerável provisória (PTMI) para Cd de 25 $\mu\text{g kg}^{-1}$ de peso corpóreo (p.c.) (FAO/WHO, 2013). Limites máximos permitidos para a presença de cádmio em alimentos são estabelecidos pelas legislações brasileira e MERCOSUL, sendo 0,3 mg kg^{-1} para pasta de cacau; 0,2 mg kg^{-1} para chocolates e produtos de cacau com menos de 40% de cacau e de 0,3 mg kg^{-1} para chocolates e produtos à base de cacau com mais de 40% de cacau (BRASIL, 2013; MERCOSUL, 2011). O limite para o cádmio em produtos de cacau de acordo com o *Codex Alimentarius* é 0,65 mg kg^{-1} . Para produtos à base de chocolates e doces foram fixados diferentes limites máximos dependendo da composição do chocolate quanto ao teor de cacau, variando desde 0,1 mg kg^{-1} para chocolate ao leite até 0,8 mg kg^{-1} para chocolate com mais de 70% de cacau em sua composição (CAC, 2019). A União Europeia dispõe sobre os limites máximos permitidos para Cd em chocolates e produtos nas categorias: chocolate ao leite com menos de 30% de cacau: 0,10 mg kg^{-1} ; chocolate com menos de 50% de cacau e chocolate ao leite com mais de 30% de cacau: 0,30 mg kg^{-1} ; chocolate com mais de 50% de cacau: 0,8 mg kg^{-1} e para o cacau em pó 0,6 mg kg^{-1} (EU, 2014).

2.2 Chumbo

O chumbo é um metal tóxico presente no meio ambiente e sistemas biológicos. A tinta contendo chumbo é a principal fonte de exposição ao metal por crianças. Entretanto, a principal rota de exposição para a população em geral é por meio do alimento e da água. Outras fontes potenciais são a prática recreativa de tiro, carregamento manual de munição, a soldagem, a fabricação de joias,

cerâmica, armas e o polimento de vidros. O chumbo pode induzir uma série de efeitos adversos em humanos, dependendo da dose e duração da exposição. Os efeitos tóxicos do chumbo a nível mínimo no sangue são os neurológicos (encefalopatia, déficit de audição, déficit de QI e efeitos no útero); os hematológicos (anemia e aumento da protoporfirina eritrocitária) e renais (nefropatia) (CAC, 2018; KLAASSEN & WATKINS, 2012; NASCIMENTO et al., 2006).

Os efeitos tóxicos do chumbo variam de inibição enzimática à produção de patologias graves. As crianças são mais sensíveis aos efeitos no sistema nervoso central. O chumbo é classificado como carcinógeno, induzindo ao aparecimento de tumores no sistema respiratório e digestório. Atinge potencialmente todos os órgãos e sistemas do organismo, os meios de toxicidade sugeridos incluem processos bioquímicos fundamentais, como a habilidade do chumbo de inibir ou imitar a ação do cálcio e de interagir com proteínas (MOREIRA & MOREIRA, 2004).

A legislação nacional, através da RDC 42 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA – (BRASIL, 2014) e MERCOSUL (2011), estabelecem um limite máximo de Pb de 0,5 mg kg⁻¹ para pasta de cacau; 0,2 mg kg⁻¹ para chocolates e produtos de cacau com menos de 40% de cacau e 0,4 mg kg⁻¹ para chocolates e produtos à base de cacau com mais de 40% de cacau.

2.3 Contaminantes inorgânicos em cacau

Tem sido reportado na literatura que amostras de cacau procedentes da América Latina podem conter contaminantes inorgânicos, sendo o cádmio o contaminante mais estudado. A presença de Cd e Pb em cacau pode ocorrer naturalmente, como parte da composição geoquímica do local e disponibilizado por intemperismo ou por via atmosférica, com depósitos nos cultivos devido à atividade vulcânica (MATHER, 2015). Ainda, a contaminação de cultivos acontece através de atividades industriais, além de práticas agrícolas com a aplicação de fertilizantes fosfatados, uso de águas residuais na irrigação, lodo de esgoto e matéria orgânica como esterco (CLEMENS et al., 2013). O cádmio e chumbo não apresentam função fisiológica no metabolismo da planta e acumulam-se nas raízes e nas partes comestíveis, como por exemplo nos grãos (RASCIO & NAVARI-IZZO, 2011). Algumas plantas toleram as concentrações de Cd e Pb sem expressar quaisquer

sintomas de toxicidade, sendo que a acumulação nas partes comestíveis pode causar efeitos adversos à saúde humana (MARSCHNER, 2012).

Chavez et al. (2015) avaliaram a concentração de Cd em cultivos de cacau em 19 fazendas do sul do Equador. A concentração de Cd em folhas, sementes e cascas foi de: 0,10; 0,94 e 0,09 mg kg⁻¹, respectivamente. O teor de Cd no solo superficial e nos mais profundos, com média de 1,54 e 0,85 mg kg⁻¹, respectivamente, indicam que provavelmente a contaminação esteja relacionada à atividade antropogênica. A correlação entre as concentrações de Cd extraível do solo e de teor em sementes foi verificada e os autores relataram que o teor de Cd nos cultivos apresentou distribuição na seguinte ordem: solo > grão > casca > folhas. No entanto, em estudo da relação entre Cd em tecidos do cacau e em solo de Trinidad e Tobago, a distribuição encontrada para os níveis de Cd seguiram a ordem: folhas > casca do fruto > casca amêndoa > nibs > solo RAMTAHAL et al. (2016).

Barraza et al. (2017) avaliaram solos e frutos de cacau de 31 fazendas no Equador com impacto de extração de petrolíferas e o estudo verificou a maior concentração de Cd nas camadas superficiais de solo (0 e 20 cm de profundidade) em relação as camadas mais profundas, sendo os valores máximos encontrados de $2,23 \pm 0,07$ mg kg⁻¹ e $0,73 \pm 0,01$ mg kg⁻¹, respectivamente. Foram encontrados teores superiores aos limites da legislação equatoriana (0,5 mgkg⁻¹) em 39% dos locais estudados para as amostras de solo; enquanto as concentrações máximas nas folhas, cascas do fruto e sementes foram de: $7,87 \pm 0,05$; $2,81 \pm 0,02$ e $3,50 \pm 0,16$ mg kg⁻¹, respectivamente. O estudo indicou a distribuição de Cd na ordem: folhas > sementes > casca do fruto. Embora as folhas tenham apresentado maior teor do contaminante, os resultados indicaram que 50% das amêndoas apresentaram Cd acima de 0,8 mg kg⁻¹(BARRAZA et al. 2017). No Peru, os níveis médios encontrados em Cuzco para as sementes de cacau foram de $0,17 \pm 0,41$ mg kg⁻¹ e em folhas de $0,23 \pm 0,62$ mg kg⁻¹. Em Tumbes (Peru) as sementes apresentaram valores de $1,78 \pm 0,35$ mg kg⁻¹ e em folhas de $2,50 \pm 0,62$ mg kg⁻¹. Aproximadamente 57% das amostras de sementes de cacau das regiões produtoras do Peru continham concentrações de Cd acima de 0,80 mg kg⁻¹ (ARÉVALO-GARDINI et al., 2017).

As amêndoas fermentadas e secas procedentes do Equador e da República Dominicana apresentaram teores de Cd de $0,629 \pm 0,067 \text{ mg kg}^{-1}$ e $0,128 \pm 0,031 \text{ mg kg}^{-1}$, respectivamente (KRUSZEWSKI et al., 2018). Recentemente Romero-Estévez et al. (2019) em estudo de contaminantes inorgânicos de 09 regiões do Peru encontraram um intervalo de concentração para Cd entre 0,264 e 1,715 mg kg^{-1} , condizentes com dados reportados na literatura (CHAVEZ et al. 2015, BARRAZA et al., 2017, KRUSZEWSKI et al., 2018). Em amostras de cacau da Malásia foram reportados valores médios em amêndoas de cacau (n= 86) para Cd ($0,25 \pm 0,22 \text{ mg kg}^{-1}$) e para Pb ($0,50 \pm 0,42 \text{ mg kg}^{-1}$). O teor máximo encontrado para Cd foi de $1,27 \text{ mg kg}^{-1}$ e para Pb $1,6 \text{ mg kg}^{-1}$ (MOHAMED et al., 2020).

A absorção pela raiz do cacauzeiro parece ser a principal via de distribuição de Cd e Pb na planta, sendo regulada por propriedades físico-químicas do solo e por práticas agrícolas. Entretanto, as regiões com atividades vulcânicas e outras possíveis fontes de contaminação devem ser monitoradas, pois estas fontes estão fortemente relacionadas à origem de produção e as condições locais. Fatores como a qualidade do solo, a informação genética da planta e as suas interações possuem consequência significativa nos teores de contaminantes inorgânicos quantificados. Ainda, a mobilidade e a bioacumulação de Cd e Pb no solo são influenciadas por complexos processos biológicos e características como o pH, a quantidade de matéria orgânica, a capacidade de troca iônica e a composição do solo (arenoso, argiloso e microbiota).

A matéria orgânica contida nos solos atua principalmente na biodisponibilidade do cádmio, pois interfere na sua capacidade de adsorção. Essa capacidade deve-se à troca de cátions, bem como à função quelante (ADRIANO 2001; HE et al. 2015). O teor de matéria orgânica pode diminuir a biodisponibilidade do cádmio indiretamente, que irá atuar em outras propriedades do solo, principalmente devido aumento do pH. Contudo, existem substâncias húmicas que formam complexos solúveis e afetam a mobilidade, tornando-a maior (KHAN et al. 2017; SHAHID et al. 2016).

As plantas absorvem o Cd como um cátion bivalente, que é sua forma mais predominante nos solos e no meio ambiente. Em solos não poluídos a concentração de Cd varia entre 0,01 e 1,1 mg kg^{-1} (KABATA-PENDIAS, 2011). A Agência de Proteção Ambiental dos EUA (US-EPA) estabeleceu como nível crítico

para teor de Cd em solos destinados à agricultura o valor de $0,43 \text{ mg kg}^{-1}$ (EPA, 2002). A aplicação de fertilizantes fosfatados é considerada uma das principais fontes de Cd nos solos destinados à agricultura, pois nesses fertilizantes pode-se encontrar níveis de Cd de 130 mg kg^{-1} (JIAO et al., 2012). As diferentes fontes que disponibilizam o Pb no ambiente, incluindo o solo, produzem uma variedade de compostos e a forma como isso ocorre tem efeitos na solubilidade e mobilidade inicial do elemento (ABDELWAHEB et al., 2019).

Nos últimos anos tem sido estudada a presença dos contaminantes inorgânicos tanto no cacau quanto nos derivados, especialmente no chocolate. Villa et al. (2014) estudaram 30 amostras de chocolates do comércio do Brasil com diferentes teores de cacau (34 a 85%) e tipos de chocolate (amargo, ao leite e branco) e os resultados indicaram que os chocolates amargos apresentam maiores concentrações de Cd e Pb comparados aos chocolates ao leite e branco. A maior concentração de Pb foi encontrado em chocolate amargo ($0,138 \text{ mg kg}^{-1}$) e todas as amostras apresentaram teores menores que o limite máximo tolerável estabelecido na legislação brasileira. A correlação entre os níveis de elementos traços e o conteúdo de sólidos de cacau também foi verificado em amostras de chocolate provenientes de diferentes países em estudo de YANUS et al. (2014).

Em 2018, Lo Dico et al. avaliaram a presença de contaminantes inorgânicos em amostras de cacau em pó e chocolates da Itália coletados em supermercados, encontrando teores máximos $0,303 \pm 0,035 \text{ mg kg}^{-1}$ para o Cd e $1,228 \pm 0,146 \text{ mg kg}^{-1}$ para o Pb. Enquanto que para amostras de cacau em pó, chocolate amargo, chocolate ao leite e nibs de cacau procedentes dos EUA foram obtidos teores de Cd variando de $0,004$ a $3,15 \text{ mg kg}^{-1}$ e de Pb de $<\text{LOD}$ a $0,38 \text{ mg kg}^{-1}$. Os teores destes contaminantes apresentaram uma relação positiva com a porcentagem de sólidos de cacau nos produtos de chocolate denominados branco, ao leite e amargo. A origem geográfica indicada no rótulo dos produtos permitiu verificar que amostras procedentes da América Latina apresentam teores mais elevados de Cd do que as da África (ABT et al., 2018).

2.4 Métodos de determinação dos contaminantes inorgânicos

Os métodos analíticos mais comumente usados para a determinação de Cd, Pb em amostras de cacau e chocolates estão baseados na técnica de espectrometria de absorção atômica por chama (FAS AAS) (RAMTAHAL et al., 2016); espectrometria de absorção atômica por forno de grafite (GF-AAS) (VILLA et al., 2014); espectrometria de emissão ótica com fonte de plasma com acoplamento indutivo (ICP OES) (CHAVEZ et al., 2005) e espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) (BERTOLDI et al., 2016).

Para a determinação de Pb e Cd em produtos de cacau têm sido usados diferentes procedimentos para digestão de amostra seguido da quantificação por métodos espectrofotométricos. Chavez et al. (2015) determinaram Pb e Cd em folhas, casca e grão de cacau utilizando a digestão com ácido nítrico a 140°C por 180 minutos. Um método preciso, exato e sensível usando vaporização eletrotérmica acoplada a espectrometria de emissão ótica com microtocha em plasma capacitivo foi desenvolvido por Butaciu et al. (2016) para estudo de Cd em alimentos. Para a digestão das amostras foi usado a digestão ácida (HNO₃ – H₂O₂) assistida por micro-ondas. Yanus et al. (2014) estudaram 8 elementos traços, incluindo Pb e Cd, em amostras de chocolates com diferentes proporções de cacau utilizando a técnica ICP-MS. As amostras (100 mg) foram digeridas em um banho-maria usando uma mistura 1:2 de H₂O₂ 30% e HNO₃ concentrado, em seguida foram filtradas e foi usada solução de índio como padrão interno.

O método oficial da AOAC - *Official Methods of Analysis of AOAC International*, n. 999.11 (LATIMER, 2012) para determinação de Pb, Cd, Cu, Fe e Zn em alimentos é baseado na digestão por via seca. É um procedimento simples, tem baixo custo e utiliza mínima quantidade de reagentes químicos, contribuindo com os princípios da química verde. A decomposição da amostra é realizada em forno tipo mufla com aquecimento por convecção ou por micro-ondas onde ocorre à queima de fração orgânica da amostra com o oxigênio do ar permitindo no final do processo a obtenção da porção inorgânica na forma de cinzas, apta à solubilização em meio ácido. O procedimento utilizado acondiciona a amostra em um cadinho de porcelana, níquel ou platina, com temperatura no forno entre 450 e

550°C. O método, entretanto, limita-se aos elementos voláteis (MAGALHAES et al., 2010).

Outros métodos comumente utilizados no preparo de amostras para a determinação de contaminantes inorgânicos fazem uso da digestão ácida em sistemas assistidos por radiação micro-ondas. A amostra absorve a radiação e sofre um aumento na sua temperatura. Isto é devido à interação da radiação eletromagnética com os íons dissolvidos e com o solvente, há interação do ácido usado na decomposição da amostra e com isso ocorrem os fenômenos de migração iônica e rotação de dipolos. Esse movimento molecular no material contribui para o seu aquecimento e para a conversão de energia, fenômeno que depende do fator de dissipação de energia. A decomposição da amostra pode ser realizada usando sistemas abertos ou recipientes fechados sob pressão, com aproveitamento do efeito da temperatura e com redução de perdas por volatilização (NOGUEIRA, et al., 2010).

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDELWAHEB, M.; JEBALI, K.; DHAOUADI, H; DRIDI-DHAOUADI, S. Adsorption of nitrate, phosphate, nickel and lead on soils: Risk of groundwater contamination. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.179, p.182-187, 2019.
- ABT, E.; SAM, J. F.; GRAY, P.; ROBIN, L. P. Cadmium and lead in cocoa powder and chocolate products in the US Market. **Food Additives & Contaminants: Part B**, v.11, p.92-102, 2018.
- ADRIANO, D.C. **Trace Elements in Terrestrial Environments: Biogeochemistry, Bioavailability and Risks of Metals**. 2nd Edition, New York: Springer,2011. 867p.
- AFOAKWA, E. O.; PATERSON, A. **Cocoa fermentation: Chocolate flavour quality**. Encyclopedia of biotechnology in agriculture and food. U.K: Taylor & Francis Publishing Inc., 2010.
- AFOAKWA, E.O. **Cocoa production and processing technology**. Boca Raton: Taylor and Francis Group, 2015.374p.
- AIPC, Associação Nacional das Indústrias Processadoras de Cacau. **Estatística**. Disponível em: <http://www.aipc.com.br/#estatisticas>. Acesso em:10 jan. 2020.
- ANANG, B. T.; MENSAH, F.; SAMOAH, A. Farmer's assessment of the government spraying program in Ghana. **Journal of Economics and Sustainable Development**, v.4, n.7, p.92–99, 2013.
- ANVISA. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. 2005. Regulamento técnico para chocolate e produtos de cacau. Resolução RDC nº 264, de 22 de setembro de 2005.
- ARAUJO, R.; FERNANDES, C.; RIBEIRO, D.; EFRAIM, P.; STEINMACHER, D.; LIEBEREI, R.; BASTIDE, P.; ARAUJO. Cocoa Quality Index A proposal. **Food Control**, v.46, p. 49-54, 2014.
- ARÉVALO-GARDINI, E., ARÉVALO-HERNÁNDEZ, C. O., BALIGAR, V. C., & HE, Z. L. Heavy metal accumulation in leaves and beans of cacao (*Theobroma cacao* L.) in major cacao growing regions in Peru. **Science of the Total Environment**, p.605–606, 2017.

- BARRAZA, F.; SCHRECK E.; LÉVÊQUE, T.; UZU, G.; LÓPEZ, F.; RUALEZ, J.; PRUNIER, J.; MARQUET, A. MAURICE, L. Cadmium bioaccumulation and gastric bioaccessibility in cacao: A field study in areas impacted by oil activities in Ecuador. **Environmental Pollution**, v.229, p.950-963, 2017.
- BARRETO, A. C.; LIMA, F. H. S.; FREIRE, M. B. G. dos S.; ARAUJO, Q. R. de.; FREIRE, F. J. Características químicas e físicas de um solo sob floresta, sistema agroflorestal e pastagem no Sul da Bahia. **Revista Caatinga**, v.19, n.4, p.415-425,2006.
- BECKETT, S. T. **Industrial Chocolate Manufacture and Use**. 4 ed, New Jersey: Wiley-Blackwell, 2008. 720p.
- BERTOLDI, D. ; BARBERO, A. ; CAMIN, F. ; CALIGIANI, A. ; LARCHER, R. Multielemental fingerprinting and geographic traceability of *Theobroma cacao* beans and cocoa products. **Food Control**, v.65, p.46-53, 2016.
- BONAMICO, Marco Araujo. **Relação entre estoque de carbono acima do solo e produção de cacau em sistemas agroflorestais de cacau em São Félix do Xingu - PA, Brasil**. 2017. 79 p. Dissertação (Mestrado em Ciências: Ecologia Aplicada) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2017.
- BORDIGNON, C. L.; FRANCESCOTTO, V.; NIENOW, A. A.; CALVETE, E.; REGINATTO, F. H. Influência do pH da solução extrativa no teor de antocianinas em frutos de morango. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.29, n.1, p.183, 2009.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC nº 42, de 29 de agosto de 2013. Regulamento Técnico MERCOSUL sobre Limites Máximos de Contaminantes Inorgânicos em Alimentos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 30 ago, seção 1, p.33-35, 2013.
- BUTACIU, S.; FRENTIU, T.; SENILA, M.; DARVASI, E.; CADAR, S.; PONTA, M.; PETREUS, D.; ETZ, R.; FRENTIU, M. Determination of Cd in food using an electrothermal vaporization capacitively coupled plasma microtorch optical emission microspectrometer: Compliance with European legislation and comparison with graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Food Control**, v.61, p.227-234, 2016.

- CAC, **Codex Alimentarius Commission**. Code of Practice for the prevention and reduction of ochratoxin a contamination in cocoa. CAC/RCP 72-2013. 2013.9p.
- CAC, **Codex Alimentarius Commission**. REPORT OF THE 13rd SESSION OF THE CODEX COMMITTEE ON CONTAMINANTS IN FOODS. *REP19/CF*. Yogyakarta, Indonesia, 29 April–3 May 2019.
- CAC, **Codex Alimentarius Commission**. Working document for information and use in discussions related to contaminants and toxins in the GSCTFF. CF12 Session, Utrecht, Netherlands, 12–16 Março, 2018.
- CEPLAC^a, Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira. **Cacau: História e Evolução**. Entre 2005-2020. Disponível em: http://www.ceplac.gov.br/radar/radar_cacau.htm. Acesso em: 10 dez. 2019.
- CEPLAC^b, Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira. **Coleta de mele fabricação de geleia de cacau**. Departamento de Educação do CEPLAC, 23p. Entre 2005-2020. Disponível em: http://www.ceplac.gov.br/paginas/publicacoes/paginas/cartilhas_tecnicas/cartilhas/CT_17.pdf. Acesso em: 10 jan. 2020.
- CHAVEZ, E.; HE, Z.L.; STOFFELLA, P.J.; MYLAVARAPU, R.S.; LI, Y.C.; MOYANO, B.; BALIGAR, V.C. Concentration of cadmium in cacao beans and its relationship with soil cadmium in southern Ecuador. **Science of the Total Environment**, v.533, p.205-214, 2015.
- CLEMENS, S.; AARTS, M. G. G., THOMINE, S.; VERBRUGGEN, N. Plant science: The key to preventing slow cadmium poisoning. **Trends in Plant Science**, v.18, p.92-99, 2013.
- COHEN, K. O.; LUCCAS, V.; SOUSA, M. V.; JACKIX, M. N. H. Processamento tecnológico das amêndoas de cacau e de cupuaçu. **Belém: EMBRAPA Amazônia Oriental**, DOCUMENTOS 178, v.34, 2003.
- COSTA, A. S.; FRAZÃO, D. A. C.; TOURINHO FILHO, E.; DAGUER, A. R. F. Cultura do cacau. **Embrapa Amazônia Oriental**, 27 p. Belém, PA: IPEAN: ACAR-PARÁ, 1973. Disponível em: <http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/146496/1/CACAU.pdf>. Acesso em: 10 jan. 2020.
- CRAFACK, M., KEUL, H., ESKILDSEN, C. E., PETERSEN, M. A., SAERENS, S., BLENNOW, A., SKOVMAND-LARSEN, M., SWIEGERS, J. H., PETERSEN,

- G. B., HEIMDAL, H., & NIELSEN, D. S. Impact of starter cultures and fermentation techniques on the volatile aroma and sensory profile of chocolate. **Food Research International**, v.63, p.306–316, 2014.
- DJIKENG, F. T.; TEYOMONOU, W. T.; TENYANG, N.; TIENCHEU, B.; MORFOR, A. M. TOUKO, B. A. H.; HOUKETCHANG, N.; BOUNGO, G.T.; KARUNA, M.S.L.;NGOUFACK, F.Z.; WOMENI, H.M. Effect of traditional and ovenroasting on the physicochemical properties of fermented cocoa beans. **Heliyon**, v.4, p.17, 2018.
- EFRAIM, P. **Contribuição a melhoria de qualidade de produtos de cacau no Brasil, por meio da caracterização de derivados de cultivares resistentes a vassoura-de-bruxa e de sementes danificadas pelo fungo**, 2009. 208p. Tese (Doutorado em tecnologia de alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP.
- EFRAIM, P.; ALVES, A. B.; JARDIM, D. C. P. Polifenóis em cacau e derivados: teores, fatores de variação e efeitos na saúde. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.14, n.3, p.1-21, 2011.
- EPA – **United States Environmental Protection Agency**. 2002. Supplemental guidance for developing soil screening levels for superfund sites. Disponível em: <http://www.epa.gov/superfund/health/conmedia/soil/index.htm>. Acesso em: 10 jan.2020.
- EU, European Union. Commission Regulation (EU) No 488/2014 amending regulation (EC) No 1881/2006 as regards maximum levels of cadmium in foodstuffs. **Official Journal of the European Union**, v.138, n.75, 12 May 2014.
- FAO - Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura. FAO Economic and Social Development Series. Cocoa. First published 1970, Reprinted 1972, 1977, 1984, p. 69. ISBN 92-5-100623-7. Disponível em: <http://www.fao.org/3/ad220e/AD220E00.htm>. Acesso em janeiro de 2020.
- FAO/WHO - Food Agriculture Organization/World Health Organization. Joint FAO/WHO Expert Committee on food additives, seventy-seventh meeting, summary and conclusions. Rome (Italy): Joint FAO/WHO Food Standards Programme. (JECFA/77/SC) Rev. 1, 2013.

- FARIA, D.; LAPS, R. R.; BAUMGARTEN, J.; CETRA, M. C. I. O. Bat and bird assemblages from forests and shade cacao plantations in two contrasting landscapes in the Atlantic Forest of southern Bahia, Brazil. *Biodiversity & Conservation*, v. 15, n. 2, p. 587–612, 2006.
- FERRÃO, J. E. M. Cacao: Tecnologia pós-colheita. Instituto de Cooperação Portuguesa- Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas, Lisboa, 2002.
- FOWLER, M. S. Cocoa beans: from tree to factory. In: *Industrial chocolate manufacture and use*. Beckett Oxford: Blackwell Science, p. 8–35, 1999.
- GRIS, E.F.; FERREIRA, L.D.; FALCÃO, M.T. Bordignon-Luiz, Caffeic acid copigmentation of anthocyanins from Cabernet Sauvignon grape extracts in model systems. *Food Chemistry*, v. 100, n. 3, p. 1289, 2007
- HE, S.; HE, Z.; YANG, X.; STOFFELLA, P. J.; BALIGAR, V. C. Soil Biogeochemistry, Plant Physiology, and Phytoremediation of Cadmium-Contaminated Soils. **Advances in Agronomy**, v.134, p.135-225, 2015.
- IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e estatística. **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola (LSPA)**. Tabela 1618 - Área plantada, área colhida e produção, por ano da safra e produto das lavouras, Dezembro de 2019. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/1618>. Acesso em: 10 jan. 2020.
- ICCO, International Cocoa Organization. **Quarterly Bulletin of cocoa Statistics: Cocoa year 2018/19**, XLV, No. 3. Published: 30-08-2019. Disponível em: <https://www.icco.org/statistics/production-and-grindings/production.html>. Acesso em: 10 jan. 2020.
- JAHURUL, M. H. A.; ZAIDUL, I. S. M.; NORULAINI, N. A. N.; SAHENA, F.; JINAP, S.; AZMIR, J.; SHARIF, K. M.; MOHD OMAR, A. K. Cocoa butter fats and possibilities of substitution in food products concerning cocoa varieties, alternative sources, extraction methods, composition, and characteristics. **Journal of Food Engineering**, v.117, p.467–476, 2013.
- JIAO, W.; CHEN, W.; CHANG, A.C.; PAGE, A.L. Environmental risks of trace elements associated with long-term phosphate fertilizers applications: a review. **Environmental Pollution**, v.168, p.44–53, 2012.
- KABATA-PENDIAS, A. **Trace Elements in Soils and Plants**.4. Ed, Boca Raton: CRC Press, 2011, 548p.

- KHAN, M. A., KHAN, S., KHAN, A., & ALAM, M. Soil contamination with cadmium, consequences and remediation using organic amendments. **Science of The Total Environment**, v.601–602, p.1591–1605, 2017.
- KLAASSEN, Curtis D.; WATKINS, John B. **Fundamentos em toxicologia de Casarett e Doull**. 2. Ed, Porto Alegre: AMGH, 2012.472p.
- KONGOR, E. J.; STEUR, H.; WALLE, D. V.; GELLYNC, X.; AFOAKWA, O.; BOECKX, P.; DEWETTICK, K. Constraints for future cocoa production in Ghana. **Agroforestry Systems**, p.1572-9680, 2017.
- KRAHMER, A.; ENGEL, A.; KADOW, D.; ALI, N.; UMAHARAN, P.; KROH, L. W.; SCHULZ, H. Fast and neat – Determination of biochemical quality parameters in cocoa using near infrared spectroscopy. **Food Chemistry**, v.181, p.152–159, 2015.
- KRUSZEWSKI, B.; OBIEDZINSKI, M.; W. KOWALSKA, J. Nickel, cadmium and lead levels in raw cocoa and processed chocolate mass materials from three different manufacturers. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.66, p.127-135, 2018.
- LATIMER J.R., G.W. (Ed) Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 19th ed. Gaithersburg, Maryland: **AOAC**, 2012.
- LIMA, D. M. A. G. **Comportamento termomecânico do *compound* (chocolate composto)**. 2000. 129p. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas, SP.
- LIMA, L. J. R., ALMEIDA, M. H., ROB NOUT, M. J., & ZWIETERING, M. H. *Theobroma cacao* L., “The Food of the Gods”: Quality determinants of commercial cocoa beans, with particular reference to the impact of fermentation. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.51, n.8, p.731–761, 2011.
- LOBÃO, D. E.; SETENTA W. C.; VALLE, R. R. Sistema agrossilvicultural cacauero - modelo de agricultura sustentável. **Agrossilvicultura**, v.1, n.2, p. 163-173, 2004.
- LO DICO, G. M.; GALVANO, B. F.; DUGOC, G.; D'ASCENZID, C.; MACALUSOA, A.; VELLAA, A.; GIANGROSSOA, G.; CAMMILLERIA, G.; FERRANTELLIA, V. Toxic metal levels in cocoa powder and chocolate by ICPMS method after microwave-assisted digestion. **Food Chemistry**, v.245, p.1163-1168, 2018.

- LOPES, A. S., PEZOA-GARCÍA, N.H., AMAYA-FARFÁN, J. Qualidade nutricional das proteínas de cupuaçu e de cacau. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.28, n.2, p.263-268, 2008.
- MAGALHÃES, C. E. C.; FLORES, E. M. M.; KRUG, F. J.; BARIN, J. S.; MESKO, M. F. **Decomposição de Materiais Orgânicos por Combustão. In: Métodos de preparo de amostras: fundamentos sobre o preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar.** 1ª ed. rev. Piracicaba, 2010. 340p.
- MAPA, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Cacau do Brasil.** Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/noticias/brasil-quer-retomar-protagonismo-no-cenario-global-de-cacau-e-chocolate>. Acesso em: 10 dez. 2019.
- MARSCHNER, P. Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants. **Academic Press**, London; Waltham, MA, 2012.
- MARTINS, C. A. S; NOGUEIRA, N. O.; RIBEIRO, P. H; RIGO, M. M.; CANDIDO, A. O. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v.17, n.3-4, p.383-391, jul-set, 2011.
- MATHER, T. A. Volcanoes and the environment: Lessons for understanding Earth's past and future from studies of present-day volcanic emissions. **Journal of Volcanology and Geothermal Research**, v.304, p.160-179, 2015.
- MERCOSUL. **Resolução GMC n. 12/2011.** Regulamento técnico MERCOSUL sobre limites máximos de contaminantes inorgânicos em alimentos, 2011.
- MMA, Ministério do Meio Ambiente. **Pagamentos por Serviços Ambientais na Mata Atlântica: lições aprendidas e desafios.** Guedes, F. B.; Seehusen, S. E. (Org.). Brasília, DF: 2011. 272 p. Série Biodiversidade, 42. ISBN 978-85-7738-157-9.
- MOHAMED, R., ZAINUDIN, B. H., YAAKOB, A. S (2020). Method validation and determination of heavy metals in cocoa beans and cocoa products by microwave assisted digestion technique with inductively coupled plasma mass spectrometry. **Food Chemistry**, v.303, p.125392, 2020.
- MONFREDA, C.; RAMANKUTTY, N.; FOLEY, J.A. Farming the planet. Part 2: Geographic distribution of crop areas, yields, physiological types, and net

- primary production in the year 2000. **Global Biogeochemical Cycles**, v.22, p.19, 2008.
- MOREIRA, F. R.; MOREIRA, J. C. Os efeitos do chumbo sobre o organismo humano e seu significado para a saúde. **Revista Panamericana de Salud Pública**, v.15, n.2, p.119–129, 2004.
- MOTAMAYOR, J. C.; LACHENAUD, P.; MOTA, J. W. S.; LOOR, R.; KUHN, D. N. Geographic and Genetic Population Differentiation of the Amazonian Chocolate Tree (*Theobroma cacao* L.). **PLoS ONE**, v.10, n.3, 2008.
- MOUNJOUENPOUA, P.; BELIBIB, D.; ANDOSEHA, B. K.; OKOUDAB, A.; MOUANFONA, K.; EHABE E.E.; NDJOUENKEUC, R. Temperature/duration couples variation of cocoa beans roasting on the quantity and quality properties of extracted cocoa butter. **Annals of Agricultural Sciences**, v.63, n.1, p.19-24, 2018.
- MULLER, M. W.; GAMA-RODRIGUES, A. C. Sistemas agroflorestais com cacauero. In: VALLE, R. R. **Ciência, tecnologia e manejo do cacauero**. Brasília, DF: CEPLAC, 2012. 407-435p.
- NASCIMENTO, L.F.C.; FILHO, H.J.I.; BALTAZAR, E.O. Níveis de Chumbo em colostro humano: um estudo no Vale do Paraíba. **Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil**, v.6, p.69-74, 2006.
- NOGUEIRA, A. R. A.; MORAES, P. D.; FLORES, E. M. M.; ARIN, J. S.; MESKO, M. F.; KRUG, F.J.; KNAPP, F. J.; NOBREGA, J. A. **Decomposição Assistida por Radiação Micro-ondas. In: Métodos de preparo de amostras: fundamentos sobre o preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar**. 1ª ed. rev., Piracicaba, 2010. 340p.
- OGA, S. **Fundamentos da Toxicologia**. 2ª Edição. São Paulo. Editora O Atheneu, 2003.
- OKIYAMA, D. C. G., NAVARRO, S. L. B., & RODRIGUES, C. E. C. Cocoa shell and its compounds: Applications in the food industry. **Trends in Food Science and Technology**, v.63, n.103–112, 2017.
- LOLADE, I. A., AJAYI, I. R., GBADAMOSI, A. E., MOHAMMED, O. Z., & SUNDAY, A. G. A study on effects of soil physico-chemical properties on cocoa production in Ondo State. **Modern Applied Science**, v.4, n.5, p.1–9, 2010.

- ORTIZ DE BERTORELLI, L.; GRAZIANI DE FARIÑAS, L.; & GERVAISE ROVEDAS, L. Influencia de vários factores sobre características del grano de cacao fermentado y secado al sol. **Agronomía Tropical**, v.59, n.2, p.119–127, 2009.
- PIRES, J.L., 2003. **Avaliação quantitativa e molecular de germoplasma para o melhoramento do cacauero com ênfase na produtividade, qualidade de frutos e resistência a doenças**. 2003. 220p. Tese (Doutorado em genética e melhoramento) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.
- RAMTAHAL, G.; YEN, I.C.; BEKELE, I.; BEKELE, F.; WILSON, L.; MAHARAJ, K.; HARRYNANAN, L. Relationships between cadmium in tissues of cacao trees and soils in plantations of Trinidad and Tobago. **Food and Nutrition Sciences**, v.7, p.37-43, 2016.
- RASCIO, N.; NAVARI-IZZO, F. Heavy metal hyper accumulating plants: how and why do they do it? And what makes them so interesting? **Plant Science**, v.180, p.169–181, 2011.
- RODRIGUEZ-CAMPOS, J.; ESCALONA-BUENDIA, H.B.; OROZCO-AVILA, I.; LUGO-CERVANTES, E.; JARAMILLO-FLORES, M.E. Dynamics of volatile and non-volatile compounds in cocoa (*Theobroma cacao L.*) during fermentation and drying processes using principal components analysis. **Food Research International**, v.44, p.250–258, 2011.
- ROMERO-ESTÉVEZ, D., YÁNEZ-JÁCOME, G. S., SIMBAÑA-FARINANGO, K., & NAVARRETE, H. Content and the relationship between cadmium, nickel, and lead concentrations in Ecuadorian cocoa beans from nine provinces. **Food Control**, p.106, 2019.
- RUSCONI, M., CONTI, A. *Theobroma cacao L.*, the food of the gods: A scientific approach beyond myths and claims. **Pharmacological Research**, v.61, n.1, p.5-13, 2010.
- SALTINI, R., AKKERMAN, R., & FROSCH, S. Optimizing chocolate production through traceability: a review of the influence of farming practices on cocoa bean quality. **Food Control**, v.29, p.167–187, 2013.
- SATARUG, S.; BAKER, J. R.; UNBENJAPOL, S.; HASWELL-ELKINS, M.; REILLY, P. E. B.; WILLIAMS D. J.; MOORE, M. R. A global perspective on cadmium

- pollution and toxicity in non-occupationally exposed population. **Toxicology Letters**, v.137, p.65-83, 2003.
- SHAHID, M., DUMAT, C., KHALID, S., NIAZI, N. K., & ANTUNES, P. M. C. Cadmium Bioavailability, Uptake, Toxicity and Detoxification in Soil-Plant System. In P. de Voogt (Ed.) **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology**, v.241, p.73–137, 2016.
- SCHIMIDT, F. L.; EFRAIM, P.; BIASI, L. C. K.; FERREIRA, R. E. **Pré-processamento de frutas e hortaliças, café, cacau e cana de açúcar**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2015. 153p.
- SCHROTH, G.; FONSECA, G. A. B.; HARVEY, C. A.; GASCON, C.; VASCONCELOS, H. L.; IZAC, A. N. **Agroforestry and biodiversity conservation in tropical landscapes**. Washington: Island Press, 2004. 537p.
- SILVA, A. R. A. S. **Caracterização de amêndoas e chocolate de diferentes variedades de cacau visando melhoria da qualidade tecnológica**. 2013. 136p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP.
- SILVA NETO, P. J. da; MATOS, P. G. G. de; MARTINS, A. C.; de. S; SILVA, A. de P. (Org.).**Sistema de produção de cacau para a Amazônia brasileira**. Belém: CEPLAC, 2001.125p.
- SOUZA, P. A.; MOREIRA, L. F.; SARMENTO, D. H. A.; DA COSTA, F. B. *Cacao: Theobroma cacao*. **Exotic Fruits**, v.82, p.69–75, 2018.
- SUFRAMA, Superintendência da Zona Franca de Manaus. Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior. **Potencialidades Regionais e Estudo da Viabilidade Econômica do Cacau**, v. 3, p. 18, 2003. Disponível em: http://www.suframa.gov.br/publicacoes/proj_pot_regionais/sumario/cacau.pdf. Acesso em: 10jan. 2020.
- SUKHA D. A.; BUTLER, D.R.; UMAHARAN, P. E.; BOULT, E. The use of an optimised organoleptic assessment protocol to describe and quantify different flavour attributes of cocoa liquors made from Ghana and Trinitario beans. **European Journal of Food Technology**, v.226, n.3, p.405-413, 2008.

- THOMPSON, S. S.; MILLER, K. B.; LOPEZ, A. S. Cocoa and coffee. In: **M. P. Doyle, & L. R. Beuchat**, Food microbiology: fundamentals and frontiers, v.3, p.837–850, 2007.
- VENTER, M. J.; SCHOUTEN, N.; HINK, R.; KUIPERS, N. J. M.; HAAN, A. B. DE. Expression of cocoa butter from cocoa *nibs*. **Separation and Purification Technology**, v.55, p.256-264, 2007.
- VILLA, J. E. L.; PEREIRA, C. D.; CADORE, S.A novel, rapid and simple acid extraction for multielemental determination in chocolate bars. **Microchemical Journal**, v.121, p.199-204, 2015.
- YANUS, R. L.; SELA, H.; BOROJOVICH, E.J.C.; ZAKON, Y.; SAPHIER, M.; NIKOLSKI, A.; GUTFLAIS, E.; LORBER, A.; KARPAS, Z. Trace elements in cocoa solids and chocolate: An ICPMS study. **Talanta**, v.119, p. 1-4, 2014.

CAPÍTULO 2

Cádmio e chumbo em amêndoas de cacau: ocorrência e efeito no processamento de chocolate

Ana Paula Ferreira de Oliveira^a, Raquel Fernanda Milani^a, Priscila Efraim^b, Marcelo Antonio Morgano^a, Silvia Amélia Verdiani Tfouni^a

^a Instituto de Tecnologia de Alimentos, Av. Brasil, 2880, 13070-178, Campinas-SP, Brasil.

^b Universidade Estadual de Campinas, R. Monteiro Lobato, 80, 13083-862, Campinas-SP, Brasil.

O artigo será submetido à revista *Food Control*.

RESUMO

O objetivo do presente estudo foi avaliar os níveis de cádmio e de chumbo em amêndoas de cacau provenientes de três das principais regiões produtoras do mundo, e de seus derivados obtidos no processamento (liquor, pó e manteiga de cacau). A quantificação dos contaminantes foi realizada por ICP OES com avaliação dos procedimentos de preparo de amostras por via úmida usando um sistema fechado assistido por micro-ondas e por via seca em forno mufla. Os limites de detecção e quantificação para Cd e Pb foram de 0,5 e 1,5 $\mu\text{g kg}^{-1}$ e 7,0 e 22 $\mu\text{g kg}^{-1}$, respectivamente. Foram avaliadas 90 amostras de amêndoas de cacau e o intervalo de concentração encontrado para Cd foi $<0,0015\text{-}1,598 \text{ mg kg}^{-1}$ e para Pb foi $<0,022\text{-}2,528 \text{ mg kg}^{-1}$. Houve ocorrência de níveis superiores aos limites máximos permitidos em 8% (Cd) e 66% (Pb) das amostras. Elevados teores de Pb foram encontrados em amêndoas do Brasil e de Cd em amêndoas do Equador. Os produtos derivados obtidos no processamento de cacau apresentaram níveis de Cd entre $<0,0015\text{-}0,118 \text{ mg kg}^{-1}$ e Pb entre $<0,022\text{-}0,136 \text{ mg kg}^{-1}$. Foi observada uma tendência do contaminante inorgânico em permanecer nas frações não lipídicas da amêndoa (pó de cacau). A ingestão de chocolate produzido a partir de amêndoas contaminadas pode contribuir para exposição dos consumidores aos contaminantes inorgânicos, ultrapassando a PTMI de Cd para crianças. O uso de amêndoas de diferentes regiões (blends) na fabricação de produtos de cacau pode ser uma alternativa na redução dos níveis desses contaminantes no produto final destinado ao consumo.

Palavras-chave: amêndoas de cacau, produtos derivados, cádmio, chumbo, ICP OES

1. Introdução

O cacau é uma espécie historicamente cultivada no Oeste da África, nas Américas Central e Sul e no Sudeste da Ásia apresentando produção anual de 4651 mil toneladas de amêndoas (ICCO, 2019). A composição e os atributos de sabor no cacau e seus derivados são influenciados pelas propriedades genéticas da variedade, origem geográfica, meio de cultivo e processamento. Logo, a identificação das características químicas e bioquímicas e a relação entre elas e o ambiente são fatores importantes para a sua qualidade e aspectos tecnológicos (Loureiro et al., 2017; Cohen et al., 2003). O consumo de alimentos à base de cacau é um hábito mundial, sendo que os consumidores estão cada vez mais interessados na qualidade dos produtos (como a certificação de origem), nos aspectos de segurança de alimentos, nas práticas ambientais sustentáveis, assim como em sabores finos (ICCO, 2007).

A ingestão de chocolate e derivados pode proporcionar benefícios à saúde por estes conterem minerais essenciais como Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn e Zn (Bertoldi et al., 2016) e compostos antioxidantes com altas concentrações de flavonoides. Esses compostos atuam em funções biológicas, como a proteção aos efeitos de doenças do coração ou na modulação da resposta imunológica e anti-inflamatória (Martín & Ramos, 2016). Contudo, estudos têm reportado a presença de contaminantes inorgânicos como Al, As, Cd, Cr, Ni e Pb em produtos contendo cacau (Lo Dico et al., 2018; Villa et al., 2014). A exposição a longo prazo a elementos tóxicos como Cd e Pb pode causar efeitos renais, ósseos e neurológicos, sendo que os alimentos são uma das principais fontes de exposição a estes contaminantes para a população em geral (Lippi, 2013).

Uma das principais fontes de contaminação das amêndoas de cacau por contaminantes inorgânicos é o solo, sendo que a relação entre os níveis desses contaminantes nas amêndoas e nos solos das regiões de cultivo tem sido estudada (Bertoldi et al., 2016; Romero-Estévez et al., 2019; Mohamed et al., 2020). Estudos também verificaram uma relação entre o aumento de sólidos de cacau e o aumento da concentração

de contaminantes inorgânicos em produtos de cacau (Yanus et al., 2014; Villa et al., 2014; Abt et al., 2018). Entretanto, há poucos dados disponíveis a respeito da distribuição dos contaminantes inorgânicos nas diferentes etapas do processamento das amêndoas de cacau.

Diversas regulamentações foram estabelecidas em função da crescente preocupação com relação aos níveis seguros de contaminantes inorgânicos em amêndoas de cacau e derivados. Em vigor desde 2019, a União Europeia dispõe sobre os limites máximos permitidos para Cd em chocolates e produtos nas categorias: 0,10 mg kg⁻¹ para chocolate ao leite com <30% de cacau; 0,30 mg kg⁻¹ para chocolate com <50% de cacau e chocolate ao leite com ≥ 30% de cacau; 0,8 mg kg⁻¹ para chocolate com ≥ 50% de cacau e 0,6 mg kg⁻¹ para cacau em pó (EU, 2014). Limites máximos também foram estabelecidos pelo Mercosul, China e Codex Alimentarius, entre outros, para o contaminante Cd em cacau e derivados (MERCOSUL, 2011; Brasil, 2013; USDA, 2014; CAC 2019).

O Brasil é o sexto maior produtor mundial de cacau, apresentando uma safra de amêndoas de 255 mil toneladas em 2018. Contudo, há uma carência de informações sobre os níveis de contaminantes inorgânicos em amêndoas das diferentes regiões produtoras do país (IBGE, 2019).

Sendo assim, os principais objetivos do presente estudo foram: i) avaliar a ocorrência de Cd e Pb em amêndoas de cacau cultivadas no Brasil, África e Equador; ii) avaliar o comportamento e ocorrência destes contaminantes nos produtos derivados obtidos após o processamento das amêndoas (liquor, pó e manteiga de cacau) e iii) calcular a estimativa de exposição aos contaminantes Cd e Pb pela ingestão de chocolate por crianças e adultos.

2. Material e Método

2.1 Amostras

O estudo da ocorrência de Cd e Pb em amêndoas de cacau avaliou 90 amostras de amêndoas de cacau fermentadas e secas provenientes de diferentes locais de origem, representando as principais regiões produtoras do Brasil: Bahia (BA) (n=33), Pará (PA) (n=29), Espírito Santo (ES) (n=4) e Rondônia (RO) (n=08), África: Costa do Marfim (CM) (n=12) e Equador (EQ) (n=4). As amostras foram homogeneizadas com casca e armazenadas em freezer até o momento das análises.

Para o estudo da ocorrência de Cd e Pb em amêndoas de cacau torradas e em produtos derivados (liquor, pó e manteiga de cacau) foi realizado um processamento em escala piloto, a partir de uma amostragem de amêndoas de cacau fermentadas e secas provenientes da Bahia. Foram processadas conforme segue: a batelada de 2 kg foi torrada em forno elétrico rotativo (JAF Inox, Tambaú, SP) com circulação de ar forçada por 60 minutos a 120°C. A seguir as amêndoas foram quebradas em um moinho de facas de aço inoxidável (ICMA, Campinas, SP) e separadas por granulometria (peneiras de 5,66 mm e 2,83 mm). A casca e o gérmen dos nibs foram separados por densidade em um descascador (JAF, Inox, Tambaú, SP) e a seguir os nibs foram refinados em um moinho de três cilindros horizontais Melanger mill (Spectra 10, Índia) para obtenção do liquor. O diâmetro máximo das partículas foi controlado com micrômetro digital (Mitutoyo, Suzano, Brasil) de forma a permanecer entre 20 e 25µm. A manteiga e a torta de cacau foram obtidas a partir da prensagem de 500 g do liquor em prensa hidráulica (Ercitec, Bauru, SP) e o cacau em pó foi obtido a partir da peneiração da torta de cacau.

Para avaliar o comportamento do contaminante inorgânico Cd durante o processo foi feito um balanço de massa utilizando o peso dos produtos obtidos e as suas concentrações quantificadas em cada uma das etapas do processo (torrefação, moagem e prensagem).

2.2 Reagentes

Os reagentes utilizados no estudo foram de grau analítico ou superior. Peróxido de hidrogênio 30% (m/v) (Merck, Darmstadt, Germany), ácido clorídrico 37% (m/v) (Merck, Darmstadt, Germany) e ácido nítrico obtido por destilação sub-boiling (Berghof, Eningen, Germany). A água (18,2 MΩ cm) foi purificada em sistema de osmose reversa (Gehaka, São Paulo, Brasil).

2.3 Determinação de Cd e Pb

Foram avaliados dois procedimentos de preparo de amostras: a digestão ácida em sistema fechado assistido por micro-ondas e a decomposição por via seca (cinzas). Toda a vidraria utilizada permaneceu em imersão em solução de HNO₃ 20% (v/v) por, no mínimo, 2 horas, seguida de enxague com água deionizada. A determinação analítica de Cd e Pb foi realizada utilizando um espectrômetro de emissão ótica com fonte de plasma com acoplamento indutivo (ICP OES), modelo 5100 VDV (Agilent Technology, Tóquio, Japão), com fonte de radiofrequência (RF) de 27 MHz e detector multielementar simultâneo de estado sólido do tipo CCD (Charge Coupled Device). As condições experimentais otimizadas de operação do equipamento de ICP OES foram: potência de radiofrequência de 1200 W; vazão de nebulização de 0,5 L min⁻¹; vazão auxiliar (Ar) de 1,0 L min⁻¹; vazão principal (Ar) de 12 L min⁻¹; correção de fundo de 2 pontos; tempo de integração e leitura de 10 s e 3 replicatas, visão axial, câmara de nebulização de duplo passo e nebulizador seaspray; argônio líquido com pureza de 99,996% (Air Liquid, SP, Brasil). O comprimento de onda da linha analítica foi: Cd (214.439 nm) e Pb (220.353 nm). As curvas analíticas foram preparadas a partir de solução-padrão de 100 mg L⁻¹ para Cd e Pb (Specsol – Quimlab, Jacareí, Brasil) em solução de HCl 5% (v/v) nas seguintes faixas de concentração: Cd 0,001 a 1,00 mg L⁻¹ e Pb de 0,002 a 1,00 mg L⁻¹.

2.3.1 *Digestão ácida em sistema fechado assistido por micro-ondas*

A digestão da amostra de cacau foi realizada em um sistema fechado assistido por micro-ondas (Start D, Milestone, Sorisole, Itália), adaptado de Butaciu et al. (2016): 0,5 g de amostra de amêndoa de cacau foi pesado em vaso de digestão PTFE seguida de adição de 8 mL de HNO₃ concentrado, permanecendo em repouso por uma noite. Foram adicionados 2 mL de H₂O₂ 30% (m/v) e foi realizada a digestão por micro-ondas utilizando aquecimento com aplicação de 1000 W de potência nas condições: (a) temperatura ambiente a 170°C por 15 min e (b) mantido a 170°C por 25 min. Após resfriamento, o digerido foi transferido quantitativamente para tubos graduados de 20 mL usando água desionizada.

2.3.2 *Decomposição por via seca*

O método foi adaptado de Latimer (2012): 2,5 g de amostra foram pesados em cápsulas de porcelana, pré-carbonizados em chapa elétrica e incinerados em forno tipo mufla (F3-DM/T, Fornitec, São Paulo) com aquecimento programado de 1°C/min até 450 °C, mantendo-se por 15 horas. As cinzas foram umidificadas com água deionizada e solubilizadas com a adição de 1 mL de HCl 37% (m/v). A solução resultante foi transferida quantitativamente para tubo graduado de 20 mL com água deionizada e filtrada em papel quantitativo (Nalgon, Itupeva, Brasil).

A avaliação dos métodos de preparo de amostras e a validação do método por via seca foram realizadas conforme orientação do INMETRO (2018) avaliando-se as figuras de mérito linearidade, sensibilidade, limite de detecção (LOD), limite e quantificação (LOQ), precisão e exatidão. Nesta etapa foram utilizados uma amostra de amêndoas de cacau (BA) e os materiais de referência certificados (CRM): Tea Leaves (INCT-TL-1, Instytut

Chemii I Techniki Ja, drowej, Warszawa, Polônia) e Peach Leaves (NIST 1547, NIST, Maryland, EUA).

2.4 *Análise estatística*

Os resultados foram expressos como média e intervalo de concentração e foram aplicados os testes ANOVA (one-way) e Tukey, com um nível de significância de 95% ($p < 0,05$) usando o programa XLSTAT versão 2012.6.03 (Addinsoft, França).

2.5 *Estimativas de exposição aos contaminantes inorgânicos pelo consumo de chocolate*

A estimativa de exposição a partir do consumo de chocolates foi avaliada. Para tal, foram considerados os teores mais elevados de Cd e Pb encontrados nas amêndoas de cacau, o consumo de chocolate 100% cacau e uma ingestão diária de 15,75 g de chocolate (5,75 kg ano per capita) (MDCI, 2018). Foi adotado um peso corpóreo (p.c.) de 60 kg para adultos e 15 kg para crianças (FAO/WHO, 2013). As estimativas de ingestão de Cd e Pb foram calculadas conforme a equação 1. Para o Cd o valor encontrado foi comparado com a ingestão mensal tolerável provisória (PTMI) de $25 \mu\text{g kg}^{-1} \text{mês}^{-1}$ (FAO/WHO, 2013), e para o Pb foi comparado com a dose de referência (BMDL_{01}) de $12 \mu\text{g kg}^{-1} \text{dia}^{-1}$ (EFSA, 2013).

$$\text{Ingestão} = \frac{\text{Concentração} \times \text{Consumo}}{\text{Peso corpóreo}} \text{ mg/kg p.c. (Equação 1)}$$

onde: concentração = maior nível encontrado do contaminante nas amostras de amêndoas de cacau analisadas (em mg kg^{-1}); consumo = quantidade ingerida do alimento no período, em kg (15,75 g por dia).

O quociente de risco (THQ), proposto pela Environmental Protection Agency (US EPA), vem sendo usado como um parâmetro para avaliar o risco potencial à saúde associado à exposição a longo prazo para uma determinada substância. O THQ foi calculado conforme a equação 2. Os valores de THQ menores ou iguais a 1 não sugerem efeitos adversos para a população exposta, enquanto valores maiores que 1 são considerados uma preocupação.

$$THQ = \frac{E_{FR} \times Ed \times F_{IR} \times C}{RfD \times BWa \times ATn} \times 10^{-3} \quad (\text{Equação 2})$$

Onde **E_{FR}** é a frequência de exposição ao elemento (365 dias), **Ed** é a duração da exposição (70 anos), **F_{IR}** é a taxa de ingestão de alimentos em g/dia, **C** é a concentração do elemento no alimento em mg/kg, **RfD** é a dose de referência do elemento em mg/kg/dia (US-EPA 2016; Khan et al., 2008), **BWa** é o peso corporal de referência de 60 kg e **ATn** é o tempo médio de exposição (365 dias x 70 anos) e 10⁻³ é a unidade de conversão.

3. Resultados e discussão

3.1 Avaliação dos métodos de preparo de amostras e validação do método para a determinação de Cd e Pb

A avaliação dos métodos de preparo de amostras por digestão por micro-ondas e via seca foi realizada utilizando CRM de folhas de chá (Tea Leaves INCT-TL-1) e uma amostra de amêndoa de cacau do Brasil. Os resultados encontrados na análise do CRM são apresentados na Tabela 1 e indicam que ambos os métodos apresentam valores de recuperação dentro da faixa recomendada pela AOAC (2016) (80% a 110%).

Além do uso de MRC para avaliar os dois métodos de preparo de amostras também foi realizado um ensaio com uma amostra de amêndoa de cacau utilizando o teste T, sendo obtidos valores satisfatórios. O resultados médios (n=3) para Cd foram 0,056 ± 0,001 mg

kg⁻¹ e 0,055 ± 0,005 mg kg⁻¹ para os métodos de via seca e de micro-ondas, respectivamente, com p-valor de 0,760 (t-crítico: 2,776), o que indica ausência de diferença estatística para os métodos (p>0,05). Para Pb, os valores médios (n=3) foram 2,43 ± 0,12 mg kg⁻¹ e 2,35 ± 0,34 mg kg⁻¹ para os métodos de via seca e de micro-ondas, respectivamente, com p-valor de 0,711 (t-crítico: 2,776), o que corresponde a ausência de diferença estatística (p>0,05). Deste modo, os dois métodos avaliados se mostraram apropriados para a determinação de Cd e Pb em amostras de amêndoas de cacau. Para este estudo adotou-se o método por via seca (cinzas), em razão deste empregar menor uso de reagentes químicos, permitir a realização de um maior número de amostras simultâneas e possuir menor custo.

[Tabela 1]

Tabela 1. A- Avaliação da exatidão dos métodos de via úmida e via seca (n=3) para a determinação de Cd e Pb utilizando CRM de folhas de chá. **B-** Resultados obtidos na validação do método por via seca para coeficiente de correlação (r), limites de detecção (LOD) e de quantificação (LOQ), exatidão (CRM de folhas de pêssgo, n= 3) e precisão (coeficiente de variação - CV, n= 6).

Método	Elemento	Valor certificado ^a (mg kg ⁻¹)	Valor encontrado (mg kg ⁻¹)		Recuperação (%)	
A	Via úmida	Cd	0,030 ± 0,004	0,032 ± 0,002		107 ± 5
		Pb	1,78 ± 0,24	1,53 ± 0,10		86 ± 6
	Via seca	Cd	0,030 ± 0,004	0,031 ± 0,004		103 ± 14
		Pb	1,78 ± 0,24	1,53 ± 0,16		86 ± 9
B	Via seca		Valor Certificado ^b (mg kg ⁻¹)	Valor encontrado (mg kg ⁻¹)		Recuperação (%)
		Cd	0,0261 ± 0,0022	0,0271 ± 0,0024		104 ± 9
	Pb	0,869 ± 0,018	0,785 ± 0,043		90 ± 5	
			r	LOD (mg kg ⁻¹)	LOQ (mg kg ⁻¹)	CV* (%)
	Cd	0,9998	0,0005	0,0015	3	
	Pb	0,9999	0,007	0,022	6	

^aTea Leaves INCT-TL-1 ; ^b Peach Leaves Nist 1547; *CV = Coeficiente de variação.

Os resultados obtidos na validação do método por via seca estão apresentados na Tabela 1 (B). Os limites de detecção e de quantificação foram calculados a partir dos valores de desvio-padrão (s) de 10 brancos analíticos, sendo $LOD = 3s$ e $LOQ = 10s$; a precisão foi avaliada pelo coeficiente de variação de 6 repetições analíticas de uma mesma amostra de amêndoa de cacau, sendo expressa pelo coeficiente de variação (CV), em porcentagem. Os valores obtidos mostraram-se satisfatórios, onde o CV máximo foi de 6%. A exatidão do método foi avaliada com uso de material de referência certificado (CRM) de folhas de chá, sendo obtidos valores entre 90 e 104%. Ambos os resultados são concordantes com o estabelecido pela AOAC (2016): CV máximo aceitável de 11% e faixa aceitável de 80 a 110%, respectivamente.

3.2 *Ocorrência de Cd e Pb em amêndoas de cacau*

Os resultados obtidos para os contaminantes Cd e Pb em amêndoas de cacau das regiões produtoras do Brasil (BA, PA, ES e RO), África (CM) e Equador(EQ) estão apresentados na tabela 2 e na Figura 1. Conforme pode ser observado, a maioria das amostras de amêndoa de cacau analisadas apresentaram resultados quantificáveis para Cd e Pb, 89% e 94%, respectivamente.

[Tabela 2]

Tabela 2. Média (n=3), intervalo de concentração e porcentagem de amostras acima do limite máximo tolerável (LMT) para Cd e Pb (mg kg⁻¹) em amêndoas de cacau do Brasil, África e Equador.

País/ Região	N	Cd (mg kg ⁻¹)			Pb (mg kg ⁻¹)		
		Média ± SD (Faixa)	Amostras > LMT (%)		Média ± SD (Faixa)	Amostras > LMT (%)	
			Brasil/ Mercosul ¹	UE ²		Brasil/ Mercosul ¹	UE ²
Brasil/ BA	33	0,060 ± 0,052 ^a (<0,015 - 0,213)	0	0	0,727 ± 0,583 ^a (<0,022 - 2,17)	58	-
África/ CM	12	0,038 ± 0,028 ^a (<0,015 - 0,064)	0	0	0,629 ± 0,307 ^a (0,037 - 1,04)	75	-
Brasil/ ES	04	0,142 ± 0,017 ^a (0,124 - 0,158)	0	0	0,533 ± 0,178 ^a (0,365 - 0,756)	75	-
Brasil/ PA	29	0,129 ± 0,149 ^a (0,038 - 0,819)	10	0	0,985 ± 0,656 ^{ab} (0,291 - 2,53)	79	-
Brasil/ RO	08	0,063 ± 0,008 ^a (0,052 - 0,076)	0	0	0,397 ± 0,216 ^{ab} (<0,022 - 0,624)	63	-
Equador/ EQ	04	1,153 ± 0,364 ^b (0,721 - 1,59)	100	100	0,019 ± 0,024 ^b (<0,022 - 0,050)	0	-

^{ab}valores médios nas colunas com a mesma letra não diferem ao nível de 95% de confiança.

LMT = Limites máximos toleráveis para pasta de cacau: Cd = 0,3 mg kg⁻¹; Pb = 0,5 mg kg⁻¹ (Brasil, 2013; MERCOSUL, 2011)¹ e cacau em pó: Cd = 0,6 mg kg⁻¹ (EU, 2014)².

Região: CM: Costa do Marfim; BA: Bahia; ES: Espírito Santo; PA: Pará; RO: Rondônia e EQ: Equador.

[Figura 1]

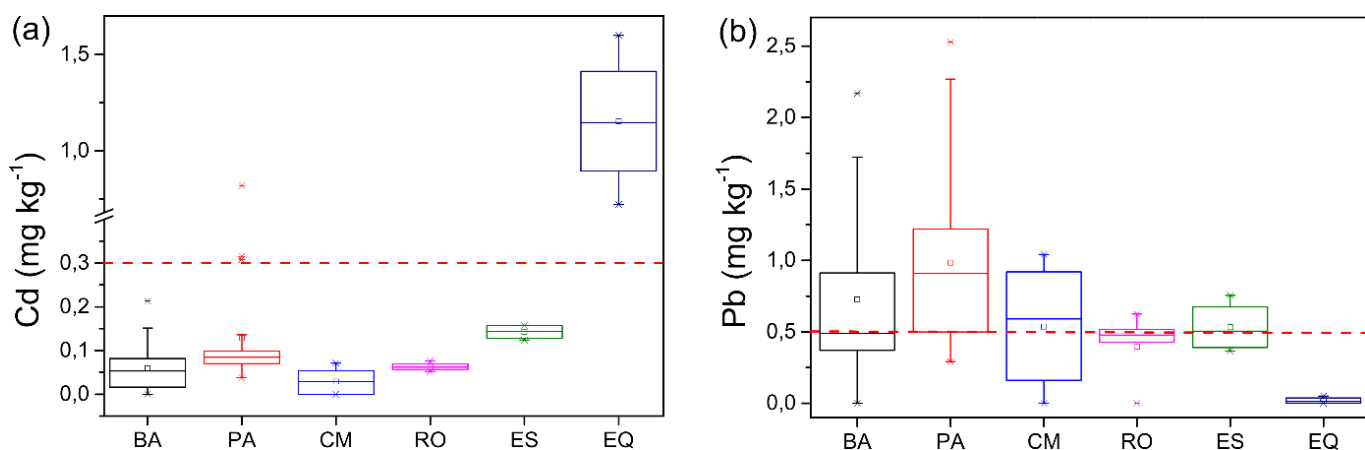


Figura 1. Gráficos Box-plot das distribuições de dados em (a) Cd e (b) Pb por regiões produtoras. CM: Costa do Marfim; BA: Bahia; ES: Espírito Santo; PA: Pará; RO: Rondônia e EQ: Equador EQ. A linha vermelha tracejada representa o limite máximo permitido de Cd e Pb para pasta de cacau estabelecido pelo o Mercosul (Brasil, 2013).

As amostras de amêndoas das diferentes regiões apresentaram intervalo de concentração para Cd entre $<0,0015$ e $1,59 \text{ mg kg}^{-1}$, tendo sido detectado em todas as regiões estudadas. Os maiores teores de Cd encontrados no estudo foram nas amêndoas de cacau procedentes das regiões PA, com valor médio de $0,129 \pm 0,149 \text{ mg kg}^{-1}$, e EQ, com valor médio de $1,153 \pm 0,364 \text{ mg kg}^{-1}$, sendo que nessas regiões, três amostras do PA (10%) e quatro amostras do EQ (100%) tiveram níveis superiores ao limite máximo estabelecido nas regulamentações do Brasil e Mercosul ($0,3 \text{ mg kg}^{-1}$). Quando comparados com a regulamentação da União Europeia, esses níveis estão acima do limite máximo ($0,6 \text{ mg kg}^{-1}$) em todas as amostras do EQ.

As amostras do EQ apresentaram ainda resultados similares aos relatados na literatura para amêndoas de cacau provenientes do Equador e do Peru (Romero-Estévez et al., 2019; Arévalo-Gardini et al. 2017), enquanto que nas regiões do Brasil e CM menores teores foram encontrados. Esses resultados são esperados uma vez que a região noroeste da América do Sul apresenta solos com teores mais elevados de Cd (Chavez et al., 2015). A presença elevada desse elemento também pode ser proveniente da atividade de

extração de petróleo que ocorre na região da Amazônia Equatoriana. Barraza et al. (2017) relatou teores de Cd acima da legislação em amostras de solo dessa região, sendo que nesses solos uma maior concentração de Cd é encontrada nas camadas superficiais ($2,23 \pm 0,07 \text{ mg kg}^{-1}$) em relação às camadas mais profundas: $0,73 \pm 0,01 \text{ mg kg}^{-1}$.

Conforme exposto na tabela 2, o contaminante Pb foi detectado nas amêndoas da África, do Equador e das diferentes regiões do Brasil, em um intervalo de concentração de $<0,022$ a $2,528 \text{ mg kg}^{-1}$. Os maiores teores de Pb foram detectados em amêndoas provenientes de regiões do Brasil, sendo o maior valor ($2,528 \text{ mg kg}^{-1}$) encontrado em amostra do PA. As amostras do PA apresentaram a maior média de concentração ($0,985 \pm 0,656 \text{ mg kg}^{-1}$) seguido da região BA ($0,727 \pm 0,583 \text{ mg kg}^{-1}$), ES ($0,533 \pm 0,178 \text{ mg kg}^{-1}$) e RO ($0,397 \pm 0,216 \text{ mg kg}^{-1}$). Os menores valores médios para o contaminante Pb foram detectados nas amostras procedentes do Equador (EQ).

Ao comparar os dados obtidos com a legislação do Brasil e do Mercosul, verifica-se que foram encontrados teores superiores aos limites máximos estabelecidos para Pb ($0,5 \text{ mg kg}^{-1}$) em 9 amostras da CM (75%), 23 do PA (79%), 19 da BA (58%), 5 de RO (63%) e 3 do ES (75%) (Brasil, 2013; MERCOSUL, 2011). Enquanto que as amostras da região EQ estão de acordo com os limites máximos estabelecidos.

Na tabela 3 estão apresentados teores de Cd e Pb em amostras de amêndoas de cacau reportados nos últimos 5 anos. Conforme se pode observar, existe uma grande variação nos teores desses elementos nas diferentes regiões produtoras, sendo os maiores teores reportados nas regiões do Equador e Peru. Essa grande variação também foi observada no presente estudo, onde os níveis apresentaram considerável variação entre as diferentes regiões produtoras estudadas.

[Tabela 3]

Tabela 3. Concentrações médias de Cd e Pb (mg kg⁻¹) reportadas em trabalhos recentes da literatura para amêndoas de cacau e derivados (cacau em pó), procedentes das principais regiões produtoras do mundo.

Cacau	Origem	n	Analito (mg kg ⁻¹)		Referência	
			Cd	Pb		
Amêndoa	Malásia	86	0,25	0,50	Mohamed (2020)	
Pó		97	0,33	0,27		
Amêndoa	Equador	Esmeraldas	9	1,22	1,83	Romero-Estévez (2019)
		Santo Domingo	9	0,420	1,97	
		Guayas	9	1,73	1,75	
		Napo	9	0,280	0,502	
Amêndoa	Peru	Tumbes	10	1,78	2,75	Arévalo-Gardini (2017)
		Piura	10	1,55	3,78	
		Cajamarca	10	0,770	1,00	
		Amazonas	10	0,970	2,15	
		San Martín	10	0,790	1,67	
		Huánuco	10	0,640	1,50	
		Junin	10	0,410	2,67	
Cuzco	10	0,170	1,00			
Nibs	América Latina	7	0,620	0,003	Abt (2018)	
Amêndoa	República Dominicana	6	0,128	0,162	Kruszewski (2018)	
Pó	Itália	35	0,159	0,417	Lo Dico (2018)	
Amêndoa	África Ocidental	21	0,093	0,108	Bertoldi (2016)	
	Lesta da África	8	0,508	0,101		
	Ásia	8	0,328	0,097		
	América do Sul	14	1,39	0,068		
	América Central	10	0,544	0,053		
Amêndoa	Camarões	10	0,050	0,370	Vítola (2016)	
	Nigéria	10	0,020	0,520		
	Gana	10	0,017	0,320		

* Amostras obtidas de mercados da Itália.

3.3 Ocorrência de Cd e Pb em amêndoas de cacau torradas e produtos derivados do processamento para produção de chocolate

Foi realizado um processamento em escala piloto para verificar a ocorrência e o comportamento dos contaminantes Cd e Pb durante o processamento de amêndoas de

cacau e a obtenção dos produtos derivados. As amêndoas foram processadas utilizando o método “*bulk*” (ICCO, 2007) descrito anteriormente.

A amostra de amêndoa fermentada e seca utilizada no processo apresentou nível de Cd de $0,113 \pm 0,003 \text{ mg kg}^{-1}$. Após o processamento, foi observada a sua presença nos diferentes produtos derivados do cacau: cascas ($0,124 \pm 0,004 \text{ mg kg}^{-1}$); cacau em pó ($0,111 \pm 0,010 \text{ mg kg}^{-1}$); liquor ($0,060 \pm 0,006 \text{ mg kg}^{-1}$) e manteiga (não detectado $<0,0015 \text{ mg kg}^{-1}$). Yanus et al., (2014) avaliaram os contaminantes nas etapas do processamento das amêndoas e diferentemente do presente estudo, encontraram os menores teores de Cd nas cascas, enquanto que no cacau em pó foram detectados os maiores teores, discordando com o presente estudo.

O balanço de massa (Figura 2) do processamento de cacau e distribuição do Cd indica que a maior parte do Cd ficou retida na etapa de moagem no resíduo do moinho (59%), enquanto 35% foram transferidos para o produto derivado liquor e 6% ficaram na casca. Na etapa de prensagem, todo o Cd presente no liquor foi transferido para o pó de cacau (100%), sendo que a manteiga e o resíduo da prensa não apresentaram contaminação (0%). Os dados obtidos mostram uma tendência do contaminante inorgânico em permanecer nas frações não lipídicas da amêndoa. Em chocolates meio amargos, contendo um maior teor de sólidos (cacau em pó), ocorre maior contaminação por Cd do que nos chocolates ao leite e branco, que apresentam maior quantidade de manteiga de cacau ou leite em pó (Villa et al., 2014).

[Figura 2]

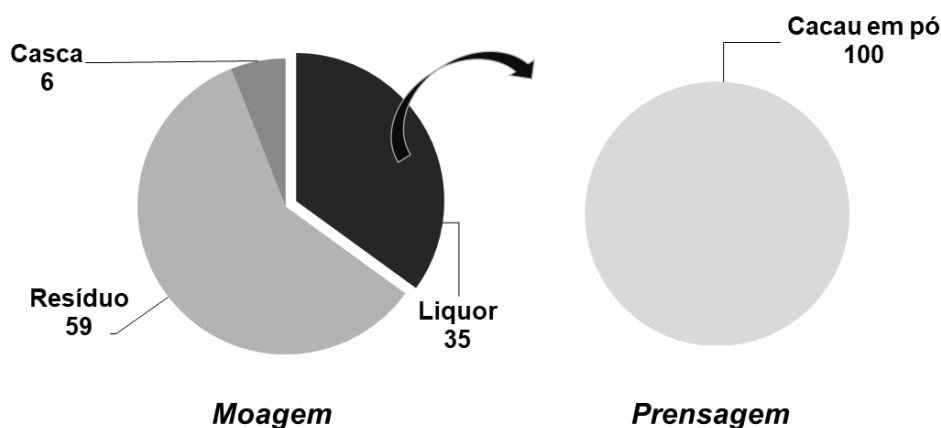


Figura 2. Balanço de massa para Cd(%) nos produtos derivados do cacau durante a moagem e prensagem.

Para o Pb foram encontrados teores menores que o limite de quantificação ($<0,022 \text{ mg kg}^{-1}$) nos derivados do processamento, com exceção da casca, onde foi encontrado $0,142 \pm 0,006 \text{ mg kg}^{-1}$ e, portanto, não foi possível estudar a sua distribuição.

3.4 Avaliação da estimativa de exposição aos contaminantes Cd e Pb pelo consumo de chocolates

A avaliação da estimativa de ingestão dos contaminantes Cd e Pb foi calculada considerando o pior cenário possível. Para tal foram utilizadas as maiores concentrações de Cd e Pb detectadas nas amêndoas de cacau e foi considerado que todo o contaminante presente na amêndoa foi transferido para o produto final (chocolate). Foi considerado um valor de ingestão de chocolate de $15,75 \text{ g/dia}$, baseado no consumo per capita anual de $5,75 \text{ kg}$ de chocolate no Brasil (MDCI, 2018), e 60 kg de peso corpóreo para adultos e 15 kg para crianças. Os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 4.

[Tabela 4]

Tabela 4. Avaliação da estimativa de exposição aos contaminantes Cd e Pb. Considerações: teores máximos (mg kg^{-1}) por região estudada e consumo de 479,16 g (mensal) e 15,75 g (diário) de chocolate 100% cacau por adultos (60 kg) e crianças (15 kg).

Elemento	Origem amêndoa cacau	Concentração máxima encontrada (mg kg^{-1})	Adultos (60 kg)		Crianças (15 kg)	
			Estimativa de Ingestão mensal ($\mu\text{g/kg pc}$)	% PTMI	Estimativa de Ingestão mensal ($\mu\text{g/kg pc}$)	% PTMI
Cd	BA	0,213	1,70	7	6,80	27
	CM	0,064	0,51	2	2,04	8
	ES	0,158	1,26	5	5,05	20
	PA	0,819	6,54	26	26,16	105
	RO	0,076	0,61	2	2,43	10
	EQ	1,60	12,80	51	51,10	204
			Estimativa de Ingestão diária ($\mu\text{g/kg pc}$)	% BMDL_{01}	Estimativa de Ingestão diária ($\mu\text{g/kg pc}$)	% BMDL_{01}
Pb	BA	2,17	0,57	5	2,28	19
	CM	1,04	0,27	2	1,09	9
	ES	0,756	0,20	2	0,79	7
	PA	2,52	0,66	6	2,65	22
	RO	0,624	0,16	1	0,66	5
	EQ	0,050	0,01	0	0,05	0

PTMI (Provisional Tolerable Monthly Intake) para Cd = $25 \mu\text{g kg}^{-1}$ peso corpóreo; **BMDL₀₁** (Benchmark dose of 1% extra risk for developmental neurotoxicity) para Pb = $12 \mu\text{g kg}^{-1}$ peso corpóreo.

CM: Costa do Marfim; BA: Bahia; ES: Espírito Santo; PA: Pará, RO: Rondônia e EQ: Equador.

De acordo com os dados da tabela 4, a estimativa de ingestão mensal de Cd variou de 0,51 a $12,80 \mu\text{g/kg pc}$, para adultos, e 2,04 a $51,10 \mu\text{g/kg pc}$, para crianças. Os maiores valores foram obtidos quando foi considerado um chocolate produzido a partir de amêndoas da região EQ, onde as ingestões atingiriam 51% da PTMI para adultos e 204% para crianças. Quando consideradas amêndoas da região PA, a ingestão estimada de Cd representou 26% da PTMI para adultos e 105% para crianças. Nesses dois cenários, apenas o consumo de chocolate já seria suficiente para que crianças ultrapassassem a ingestão tolerável mensal de Cd. A estimativa diária de Pb, levando em conta as mesmas

considerações, resultou por sua vez, em estimativas de ingestão diária de 0,01 a 0,66 µg/kg pc, para adultos, e 0,05 a 2,65 µg/kg pc, para crianças, atingindo um máximo de 6% da BMDL₀₁ para adultos e 22% para crianças na região PA.

O maior consumidor per capita de chocolate do mundo é a Alemanha com média de 11,1 kg/ano, ou seja, 30,4 g/dia (Chocosuisse, 2018). Fazendo as mesmas considerações para esse mercado, a estimativa de ingestão mensal para Cd atingiria até 99% da PTMI para adultos e 395% para crianças. Enquanto que para Pb a ingestão diária seria de até 11% da BMDL₀₁ para adultos e 43% para crianças.

A avaliação de risco a partir do cálculo do quociente de risco (THQ) utilizando as mesmas considerações aplicadas para a avaliação de PTMI para Cd e BMDL₀₁ para Pb mostraram resultados inferiores a 1. Para que os valores de THQ ultrapassem a unidade (THQ > 1), com possibilidade de risco, é necessário um consumo de chocolate de 42 g/dia para Cd e 80 g/dia para Pb, valores que podem ocorrer a consumidores frequentes de chocolate. Os dados obtidos no presente estudo mostram que o consumo de chocolate produzido a partir de amêndoas de cacau contendo Cd e Pb podem contribuir na ingestão de elementos tóxicos.

4. Conclusão

O método de digestão de amostras por via seca e quantificação por ICP OES mostrou-se adequado para a determinação dos teores de Cd e Pb em amostras de amêndoas de cacau e derivados, sendo obtidos valores satisfatórios para exatidão e precisão.

Foram encontrados teores de Cd e Pb superiores aos limites máximos estabelecidos pelas legislações do Brasil e do MERCOSUL em 8% e 66% das amostras, respectivamente. As amostras procedentes do Equador (EQ) apresentaram os maiores teores médios de Cd e os menores de Pb, enquanto que os maiores níveis de Pb foram

encontrados em amêndoas do Brasil, das regiões PA e BA, indicando uma forte relação com a origem de cultivo e produção. O uso de amêndoas de diferentes regiões (*blends*) na fabricação de produtos de cacau pode ser uma alternativa na redução dos níveis desses contaminantes no produto final destinado ao consumidor.

Os resultados obtidos mostram que um consumo superior a 42g de chocolate por dia pode representar um risco à saúde dos consumidores adultos e que as crianças estão mais susceptíveis ao risco por esses contaminantes, por se tratar de um produto com grande apelo infantil.

Os resultados apontam que, além do Cd, a presença de Pb em amêndoas de cacau pode ser um problema para a saúde dos consumidores e que este contaminante deve ser investigado.

Agradecimentos

Os autores agradecem a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP 17/21451-1 e 18/11623-2), o Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, bolsa de produtividade de M. A. Morgano) e a Fundação de Desenvolvimento da Pesquisa do Agronegócio (Fundepag, bolsa de mestrado de A. P. F. Oliveira). O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

5. Referências

Abt, E., Fong Sam, J., Gray, P., & Robin, L. P. (2018). Cadmium and lead in cocoa powder and chocolate products in the US Market. *Food Additives and Contaminants: Part B Surveillance*, 11(2), 92–102. doi.org/10.1080/19393210.2017.1420700

- AOAC - International, *Official methods of analysis of AOAC International*, in Guidelines for Standard Method Performance Requirements (Appendix F). Gaithersburg: AOAC International, 2016.
- Arévalo-Gardini, E., Arévalo-Hernández, C. O., Baligar, V. C., & He, Z. L. (2017). Heavy metal accumulation in leaves and beans of cacao (*Theobroma cacao* L.) in major cacao growing regions in Peru. *Science of the Total Environment*, 605–606 (2017), 792–800. doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.06.122
- Barraza, F., Schreck, E., Lévêque, T., Uzu, G., López, F., Ruales, J., Maurice, L. (2017). Cadmium bioaccumulation and gastric bioaccessibility in cacao: A field study in areas impacted by oil activities in Ecuador. *Environmental Pollution*, 229, 950–963. doi.org/10.1016/j.envpol.2017.07.080
- Bertoldi, D., Barbero, A., Camin, F., Caligiani, A., & Larcher, R. (2016). Multielemental fingerprinting and geographic traceability of *Theobroma cacao* beans and cocoa products. *Food Control*, 65, 46–53. doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.01.013
- Butaciu, S., Frentiu, T., Senila, M., Darvasi, E., Cadar, S., Ponta, M. Frentiu, M. (2016). Determination of Cd in food using an electrothermal vaporization capacitively coupled plasma microtorch optical emission microspectrometer: Compliance with European legislation and comparison with graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Food Control*, 61, 227–234. doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.09.040
- Brazil - Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). (2013). Resolução RDC nº 42, de 29 de agosto de 2013. Dispõe sobre o Regulamento Técnico MERCOSUL sobre Limites Máximos de Contaminantes Inorgânicos em Alimentos. *Diário Oficial Da República Federativa Do Brasil*, 33–35.
- CAC - Codex Alimentarius Commission. REPORT OF THE 13rd SESSION OF THE CODEX COMMITTEE ON CONTAMINANTS IN FOODS. REP19/CF. Yogyakarta, Indonesia. 29 April – 3 May 2019.
- Chavez, E., He, Z. L., Stoffella, P. J., Mylavarapu, R. S., Li, Y. C., Moyano, B., & Baligar, V.

- C. (2015). Concentration of cadmium in cacao beans and its relationship with soil cadmium in southern Ecuador. *Science of The Total Environment*, 533, 205–214. doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.06.106
- Chocosuisse, 2018. Chocosuisse Statistical Bulletin. Facts & Figures. Per capita consumption of chocolate products. <https://www.chocosuisse.ch/en/services-3/facts-figures-3/> (Accessed: 03.10.19).
- Cohen, K. de O.; Luccas, V.; Sousa, M. V. de; Jackix, M. De N. H. (2003). Processamento tecnológico das amêndoas de cacau e de cupuaçu. Embrapa Amazônia Oriental. Documentos 178, 39. <http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/63573/1/Oriental-Doc178.PDF> (Accessed: 03.10.19).
- EU, 2014. Commission Recommendation (EU). No 488/2014 of 12 May 2014 amending regulation (EC) No 1881/2006 as regards maximum levels of cadmium in foodstuffs. *Official Journal of the European Union*, L138, 2014, 75-79.
- EFSA, 2013. European Food Safety Authority. Scientific Opinion on Lead in Food. *EFSA Journal*, 8(4), 1570. doi.org/10.2903/j.efsa.2010.1570
- FAO/WHO - Food Agriculture Organization/World Health Organization. (2013). Joint FAO/WHO Expert Committee on food additives, seventy-seventh meeting, summary and conclusions. Rome (Italy): *Joint FAO/WHO Food Standards Programme*. (JECFA/77/SC Rev. 1).
- IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e estatística. LSPA - levantamento sistemático da produção agrícola. Pesquisa mensal de previsão e acompanhamento das safras agrícolas no ano civil. Rio de Janeiro, 1-82, janeiro 2019.
- ICCO (2019). Production of cocoa beans. Quarterly Bulletin of cocoa Statistics. Cocoa year 2018/19, XLV, No. 3. Published: 30-08-2019. <https://www.icco.org/statistics/production-and-grindings/production.html>. (Accessed: 10.01.20)

- ICCO, 2007. Project to Determine The Physical, Chemical And Organoleptic Parameters to Differentiate Between Fine And Bulk Cocoa. *Executive Committee - one hundred and thirty-fourth meeting EBRD Offices*, London, 11-14 September 2007.
- INMETRO – Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (2018). DOQ-CGCRE-008- Orientação sobre validação de métodos analíticos. Rev. 07 - Julho 2018. Rio de Janeiro (RJ): Coordenação Geral de Acreditação
- Khan, S., Cao, Q., Zheng, Y.M., Huang, Y.Z. & Zhu, Y.G. (2008). Health risks of heavy metals in contaminated soils and food crops irrigated with wastewater in Beijing, China. *Environmental Pollution*, 152 (3), 686-692, 2008. doi.org/10.1016/j.envpol.2007.06.056
- Kruszewski, B., Obiedziński, M. W., Kowalski, J. (2018). Nickel, cadmium and lead levels in raw cocoa and processed chocolate mass materials from three different manufacturers. *Journal of Food Composition and Analysis*, 66, 127-135. doi.org/10.1016/j.jfca.2017.12.012
- Latimer J.R., G.W. (Ed) Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 19th ed. Gaithersburg, Maryland: AOAC, 2012
- Lippi, D. (2013). Chocolate in History: Food, Medicine, Medi-Food. *Nutrients*, 5(5), 1573–1584. doi.org/10.3390/nu5051573
- Lo Dico, G. M., Galvano, F., Dugo, G., D’ascenzi, C., Macaluso, A., Vella, A., Ferrantelli, V. (2018). Toxic metal levels in cocoa powder and chocolate by ICP-MS method after microwave-assisted digestion. *Food Chemistry*, 245 (August 2017), 1163–1168. doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.11.052
- Loureiro, G. A. H. A., Araujo, Q. R., Sodré, G. A., Valle, R. R., Souza, J. O., Ramos, E. M. L. S., Grierson, P. F. (2017). Cacao quality: Highlighting selected attributes. *Food Reviews International*, 33 (4), 382–405. doi.org/10.1080/87559129.2016.1175011
- Martín, M. A., & Ramos, S. (2016). Cocoa polyphenols in oxidative stress: Potential health implications. *Journal of Functional Foods*, 27, 570–588. doi.org/10.1016/j.jff.2016.10.008

- MERCOSUL (2011). Resolução GMC n. 12/2011. Regulamento técnico MERCOSUL sobre limites máximos de contaminantes inorgânicos em alimentos.
- MDCI – Ministério da Indústria, Comércio Exterior e Serviços. Cacau e Chocolate no Brasil: Desafios na Produção e Comércio Global. Brasília, dezembro de 2018. 128 p. <https://unesdoc.unesco.org/ark:/48223/pf0000366689/> (Accessed: 01.10.19).
- Mohamed, R., Zainudin, B. H., Yaakob, A. S (2020). Method validation and determination of heavy metals in cocoa beans and cocoa products by microwave assisted digestion technique with inductively coupled plasma mass spectrometry. *Food Chemistry*, 303 (2020), 125392. doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125392
- Romero-Estévez, D., Yáñez-Jácome, G. S., Simbaña-Farinango, K., & Navarrete, H. (2019). Content and the relationship between cadmium, nickel, and lead concentrations in Ecuadorian cocoa beans from nine provinces. *Food Control*, 106 (July), 106750. doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.106750
- USDA - Foreign Agricultural Service: China's Maximum Levels for Contaminants in food. On November 13, 2013, China released the National Food Safety Standard of Maximum Levels of Contaminants in Foods (*GB 2762-2012*), which became effective on June 1, 2014.
- US-EPA - U.S. Environmental Protection Agency (2016). Regional Screening Levels (RSLs) – Generic Tables (May 2016). Washington, DC: U.S. *Environmental Protection Agency*. <https://www.epa.gov/risk/regional-screening-levels-rsls-generic-tables-may-2016> (Accessed: 20.08.19).
- Villa, J. E. L., Peixoto, R. R. A., & Cadore, S. (2014). Cadmium and lead in chocolates commercialized in Brazil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62 (34), 8759–8763. doi.org/10.1021/jf5026604
- Vītola, V., & Ciproviča, I. (2016). The Effect of Cocoa Beans Heavy and Trace Elements on Safety and Stability of Confectionery Products. *Rural Sustainability Research*, 35 (330), 19–23. doi.org/10.1515/plua-2016-0003

Yanus, R. L., Sela, H., Borojovich, E. J. C., Zakon, Y., Saphier, M., Nikolski, A. Karpas, Z.
(2014). Trace elements in cocoa solids and chocolate: An ICP MS study. *Talanta*, 119,
1–4. doi.org/10.1016/j.talanta.2013.10.048

CONCLUSÕES

O método de digestão de amostras por via seca e quantificação por ICP OES mostrou-se adequado para a determinação dos teores de cádmio e chumbo em amostras de amêndoas de cacau e derivados, sendo obtidos valores satisfatórios para exatidão (90 e 104%) e precisão ($CV < 6\%$).

Os teores de cádmio e chumbo em amêndoas de cacau estão relacionados a origem de cultivo e produção, sendo o Cd predominante na região do Pará (Brasil) e Equador, e Pb nas regiões Pará e Bahia (Brasil). Os teores encontrados nas amostras foram superiores aos limites máximos estabelecidos pelas legislações do Brasil e do MERCOSUL para Cd e Pb ($0,3 \text{ mg kg}^{-1}$ e $0,5 \text{ mg kg}^{-1}$, respectivamente) em 8% (Cd) e 66% (Pb) das amostras. Os resultados apontam a presença de Pb em amêndoas de cacau como um problema que deve ser investigado em estudos futuros.

A presença de cascas das amêndoas de cacau nas etapas de moagem e prensagem para a produção de chocolate indicou tendência de Cd nos derivados liquor e cacau em pó e o Pb foi detectado apenas em cascas de amêndoas de cacau. Deste modo, a prática de retirada das cascas é recomendada para diminuição dos níveis desses contaminantes.

A exposição aos contaminantes inorgânicos foi estimada com base no pior cenário possível, ou seja, um chocolate 100% cacau com os maiores teores de Cd e Pb determinados nas análises. Assim, o consumo de chocolate obtido a partir de amêndoas de cacau contaminadas por Cd, pode ultrapassar 100% da PTMI para crianças. Nas condições do cálculo a exposição a longo prazo para Pb com o consumo de chocolate superior a 42g/dia pode levar a $THQ > 1$, indicando preocupação à saúde. O uso de amêndoas de diferentes regiões (*blends*) na fabricação de produtos de cacau pode ser uma alternativa na redução dos níveis desses contaminantes no produto final destinado ao consumidor.

O cacau produzido no Equador, Brasil e África tem qualidade necessária para a elaboração de chocolates, porém altas concentrações de contaminantes inorgânicos estão presentes em amostras dessas regiões e podem produzir alimentos com teores destes metais que excedem os valores máximos estabelecidos pelas legislações nacional e internacional. A contaminação ambiental em cultivos agrícolas por metais é um problema mundial que apresenta riscos aos humanos, animais, microbiota, contaminação de águas superfícies e profundas.

Tendo em vista a demanda dos consumidores por informações referentes as questões de segurança dos alimentos, verifica-se que a ferramenta de rastreabilidade se

torna cada vez mais uma importante agenda para o comércio global do cacau. Os mercados atuais exigem níveis seguros de resíduos de pesticidas, micotoxinas, hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs), contaminantes inorgânicos, entre outros, em amêndoas de cacau e produtos derivados. Para tanto é necessário conhecer as fontes de contaminação na cadeia de produtiva cacauera e compreender a rota do cacau desde a fazenda até o processamento final. Logo, os países estão atribuindo regulamentações mais rigorosas e neste contexto, os produtores e setores industriais devem estar atualizados das normas vigentes que regem as questões de segurança dos alimentos e higiene a fim de tomarem as medidas necessárias.