

Untersuchungen zum Stoffübergang des Mykotoxins Ochratoxin A bei Kakaobohnen



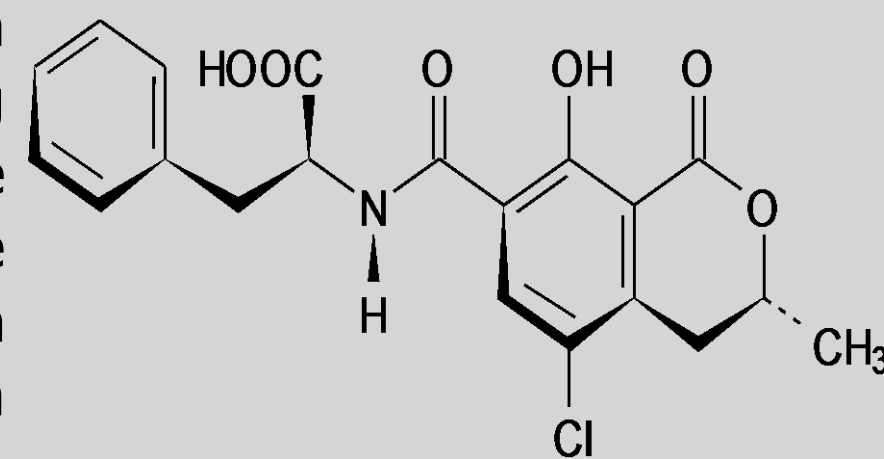
LCI Köln

Marion Raters und Reinhard Matissek

LCI
Lebensmittelchemisches Institut des Bundesverbandes der Deutschen Süßwarenindustrie e. V.,
Adamsstr. 52-54, 51063 Köln

Ochratoxin A

Bei dem Mykotoxin Ochratoxin A handelt es sich um einen Sekundärmetaboliten von toxinbildenden Schimmelpilzen der Gattung *Aspergillus ochraceus* (daher auch der Name) und *ostianus* sowie *Penicillium verrucosum*. Von den bisher bekannten 9 Ochratoxinen, die aus einer Dihydroisocumarineinheit und der Aminosäure Phenylalanin zusammensetzt sind, ist Ochratoxin A die Verbindung, die am häufigsten in Lebens- und Futtermitteln gefunden wird und die höchste Toxizität besitzt.



Aufgrund des bevorzugten Schimmelpilzwachstums bei gemäßigten klimatischen Bedingungen ist das Vorkommen von Ochratoxin A besonders typisch für stärkehaltige, einheimische Cerealien. Außerdem konnte das Mykotoxin auch in Trockenfrüchten (Rosinen u. a.), Nüssen, Gemüse (Bohnen), Feigen, Kakao, Kaffeebohnen, Oliven und Gewürzen, sowie in Gärprodukten (verschiedenen Biersorten, Weine) nachgewiesen werden.

Ziel

Von vielen pflanzlichen Lebensmitteln, u. a. Getreide und Kaffee [3] sowie auch Kakao [5] ist aus der Literatur bekannt, dass mykotoxinproduzierende Schimmelpilze hauptsächlich in den Randschichten und Schalen der Pflanzen auftreten und es somit hier zu teilweise auffälligen Gehalten an Mykotoxinen kommen kann. Auf welche Art und Weise es dabei zu einem Stoffübergang ins Innere des Kernes kommt, ist bisher jedoch weitestgehend unbekannt.

Anhand eines die Kakaofermentation nachahmenden Modellversuchs wurde ein eventueller Stoffübergang aus einem OTA-haltigen wässrigen Medium über die Kakaoschale in den Kakaokern untersucht

Versuchsaufbau

Im Hinblick auf den Fermentationsprozess wurden bei unseren Modellversuchen möglichst realitätsnahe Bedingungen geschaffen. Für den Versuch wurde eine frische Kakaofrucht, aus der Anbauregion Ghana, die bis zur Untersuchung bei -18 °C gelagert worden war, manuell aufgeschlagen und die Kakaobohnen mitsamt anhaftendem Fruchtmus entnommen (frische Kakaobohnen sind OTA-frei).

Es wurde eine essigsaurige wässrige künstliche sog. "Fermentationslösung" mit einem pH-Wert von 3,5 und einem definierten Gehalt an Ochratoxin A hergestellt und die frischen Kakaobohnen samt anhaftendem Mus hineingelegt. Das Fermentationsgefäß wurde dann abgedeckt und bei einer Temperatur von 35 °C für 10 Tage im Trockenschrank gelagert. Täglich, beginnend am 3. Tag, wurden Kakaobohnen entnommen, bei 103 °C für 2,5 h im Trockenschrank getrocknet, manuell geschält und Kakaoschale und -kern separat auf Ochratoxin A untersucht (Analysemethoden gemäß [4] und [5]). Zusätzlich wurden regelmäßig der pH-Wert und der Ochratoxin A-Gehalt der "Fermentationslösung" überprüft. Abbildung 1 zeigt den Versuchsaufbau des Migrationsversuches am Tag 0 (vor Temperierung im Trockenschrank).

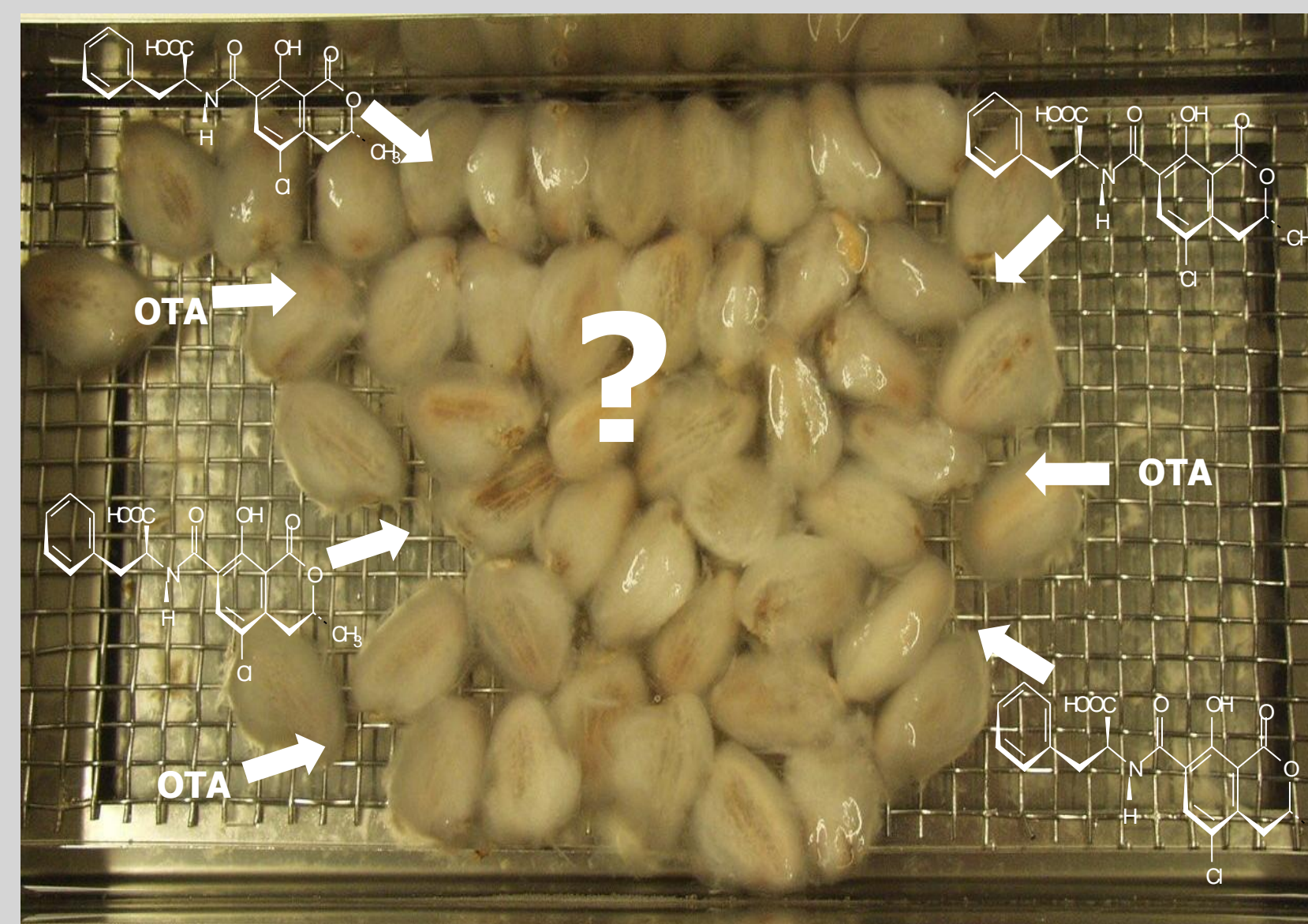


Abbildung 1: Aufbau des Fermentationsversuches (teilweise schematisch)

Exkurs „Fermentation“

Die Fermentation der Kakaobohnen wird durch die Vergärung der Zuckerstoffe im Fruchtmus eingeleitet. Sobald das zuckerhaltige Fruchtmus der Luft ausgesetzt ist, wird dieses durch stets im Umfeld vorhandene Mikroorganismen der verschiedensten Art „beimpft“. In den ersten Tagen wird durch den hohen Feuchtigkeits- und Zuckergehalt die Entwicklung von Mikroorganismen und Hefezellen begünstigt. Dadurch verflüssigt sich das Fruchtmus und löst sich von den Schalen der Kakaosamen. Die Temperatur steigt bis auf 50 °C an und der pH-Wert der Kakaosamen sinkt durch die Bildung von Essigsäure bis zum 4. Tag von 6,5 auf ca. 4,6 ab. Während der Fermentation sinkt der Essigsäuregehalt im Gärssaft von ca. 2,5% auf 1,6%, der pH-Wert des Fruchtmuses steigt hierbei von 3,5-4 auf 5,0 am vierten Tag an [6].

Ergebnisse

Als Ergebnis lässt sich feststellen, dass Ochratoxin A bereits innerhalb der ersten zwei Tage des Modellversuches aus der „Fermentationslösung“ in die Kakaoschale und den Kakaokern übergeht. Dabei sind die übergegangenen Mengen durchaus bemerkenswert: In nur zwei Tagen ca. 22 ng OTA/g Kakaobohne! In den nachfolgenden 7 Tagen sind dann kaum noch Veränderungen der OTA-Gehalte in Schale und Kern feststellbar (Tabelle 1, Abbildung 2).

Interessant ist, dass die Kakaoschalen im Vergleich zu den Kernen etwa die 10-20fache Menge an OTA aufzunehmen vermögen. Hierfür haben wir bisher noch keine wissenschaftlich einleuchtende Erklärung.

Untermauert wird unser Ergebnis zusätzlich durch die Darstellung in Abbildung 3, die die Veränderungen der OTA-Gehalte in der „Fermentationslösung“ im Verlauf der Modell-

Tabelle 1: OTA-Gehalt im Verlauf des Modellversuches (getrennt nach Kakaoschalen und -kernen)

Tag	Teil der Bohne	OTA [ng/g]
0	Schalen	n.n.
0	Kerne	n.n.
1	Schalen	19,31
1	Kerne	1,04
2	Schalen	19,93
2	Kerne	2,27
3	Schalen	17,20
3	Kerne	1,11
4	Schalen	15,35
4	Kerne	1,30
5	Schalen	20,73
5	Kerne	0,88
8	Schalen	15,21
8	Kerne	0,96
9	Schalen	14,68
9	Kerne	1,27

n.n.: 0,02 µg/kg

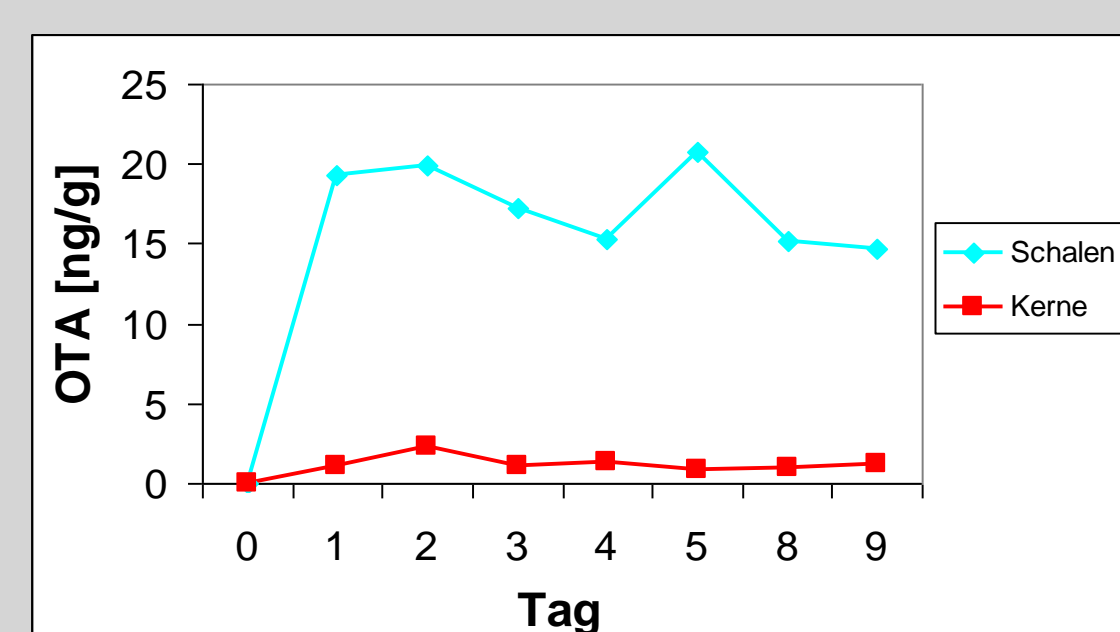


Abbildung 2: OTA-Gehalte getrennt nach Kakaoschalen und -kernen im Verlauf des Migrationsversuches

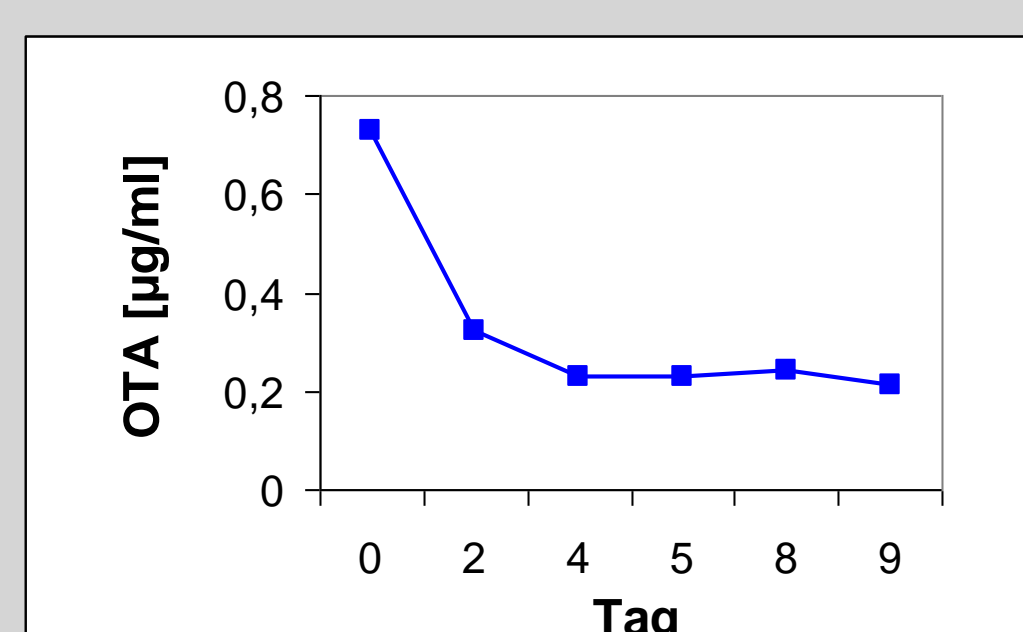


Abbildung 3: OTA-Gehalt in der "Fermentationslösung" im Laufe der Fermentation

fermentation verdeutlicht: Der Gehalt der Lösung an Ochratoxin A nimmt in den ersten beiden Tagen deutlich ab (von 0,7 auf 0,3 ng/ml) und bleibt danach nahezu konstant bei ca. 0,2 ng/ml

Fazit

Zur Klärung der Frage, ob Ochratoxin A während des Fermentationsprozesses wandert, wurde die Fermentation in einem Modellversuch nachgeahmt. Es konnte hierbei ein in den ersten beiden Tagen des Versuches ausgeprägter Stoffübergang von OTA in die Kakaoschale und in den Kakaokern festgestellt werden. Dabei reduzierte sich die OTA-Konzentration in der Fermentationslösung auf etwa 1/4 des Ursprungsgehaltes.

Literatur

- [1] Petzinger E (1998) Ochratoxin A aus toxikologischer Sicht. Getreide Mehl Brot 52:358-361
- [2] Deutsche Forschungsgemeinschaft (1990) Ochratoxin A – Vorkommen und toxikologische Bewertung. VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim
- [3] Blanc M, Pittet A, Munos-Box R, Viani R (1998) Behavior of Ochratoxin A during green coffee roasting and soluble coffee manufacture. J Agric Food Chem 46:673-675
- [4] Raters M, Matissek R (2001) Ringversuch zur Bestimmung von Ochratoxin A in Kakaopulver. Poster PV 18. Deutscher Lebensmittel-chemikertag 2001. Braunschweig
- [5] Raters M, Matissek R (2003) Neue Studien zur Analytik und zum Vorkommen von Ochratoxin A in Kakao und kakaohaltigen Erzeugnisse (nicht veröffentlicht)
- [6] Kleinert J (1997) Handbuch der Kakaoverarbeitung und Schokoladenherstellung. Behr's, Hamburg

