



PROGRAMME MIXTE FAO/OMS SUR LES NORMES ALIMENTAIRES
COMITE DU CODEX SUR LES CONTAMINANTS DANS LES ALIMENTS

Sixième session
Maastricht, les Pays-Bas, 26 – 30 Mars 2012

DOCUMENT DE DISCUSSION SUR L'OCHRATOXINE A DANS LE CACAO

HISTORIQUE

1. Le Comité du Codex sur les additifs alimentaires et les Contaminants (CCFAC) lors de sa 38^{ème} Session à la Haye (2006) est convenu de développer un document de discussion sur l'ochratoxine A (OTA) dans le cacao¹. Un groupe de travail électronique (eWG) présidé par le Ghana a présenté un document de discussion (CX/CF/07/1/18) sur l'OTA dans le cacao à Beijing lors de son premier Comité du Codex sur les contaminants dans les aliments (CCCCF)². Ce document de discussion a été mis à jour et présenté lors du deuxième CCCCf à la Haye en tant que CX/CF/08/2/15, mais après certaine délibération le comité a suspendu l'examen de l'OTA dans le cacao à cause du besoin de générer de nouvelles données³.
2. Lors de la 4^{ème} session du CCCCf, la délégation du Brésil a informé le Comité d'une nouvelle étude effectuée au Brésil qui pourrait constituer la base pour le développement d'un code d'usages pour réduire ou prévenir l'OTA dans le cacao. Le Comité est convenu qu'un groupe de travail électronique dirigé par le Ghana et co-présidé par le Brésil, devrait préparer un document de discussion sur l'OTA dans le cacao pour évaluer si un code d'usages devrait être développé.⁴
3. Lors de la 5^{ème} Session du CCCCf, le groupe de travail électronique a présenté un document de discussion mis à jour (CX/CF 11/43/12) soulignant les recommandations du groupe de travail électronique concernant le futur développement possible d'un code d'usages pour la prévention/la réduction de la contamination par l'OTA dans le cacao en prenant en compte la connaissance actuellement disponible.
4. La 5^{ème} session du CCCCf a rétabli le groupe de travail électronique dirigé par le Ghana pour mettre à jour le document de travail en prenant en compte les nouvelles données disponibles⁵. Comme convenu par le CCCCf, le groupe de travail électronique a préparé le document de discussion en incorporant de nouvelles données en vue de développer un code d'usages pour l'examen lors de sa 6^{ème} session du CCCCf. Ce document de discussion est accompagné d'un avant-projet de document proposant une nouvelle activité (comme présenté dans l'Annexe I à ce document) et un plan possible de l'avant-projet de code d'usages (Annexe II). Une liste des participants dans le groupe de travail électronique est présenté dans l'Annexe III de ce document.

INTRODUCTION

5. L'ochratoxine A est une mycotoxine naturellement présente dans le monde entier dans les denrées alimentaires telles que les céréales et les produits céréaliers, les légumineuses, le café, la bière, le jus de raisin, les fruits de la vigne séchés et le vin ainsi que dans les produits cacaotés, les fruits à coque et les épices (EFSA, 2006). Dans le cacao, l'OTA est principalement associée à la coque des fèves de cacao et au cacao sec et dégraissé (cacao en poudre) (Amezqueta et al., 2004; Bastide et al., 2006). Les champignons et l'OTA sont présents à tous les stades de la chaîne de production: la récolte (manuelle et le broyage des cosses), la fermentation (fermentation en boîte ou dans l'exploitation agricole sur des peaux de bananes), le séchage (solaire ou mécanique), l'entreposage, (dans des sacs en toile de jute), la fabrication des aliments et le transport (COCOQUAL, 2007; FAO/WHO/UNEP, 1999).
6. Le terme « cacao » est dérivé de la plante *Theobroma cacao* L. appartenant à la famille des *Malvaceae*. L'arbre est originaire de l'Amazonie et des autres zones tropicales de l'Amérique du Sud et centrale et a poussé dans une région à 20° du Nord et du Sud de l'Équateur. La moyenne des températures minimales et maximales dans les régions où poussent le cacao est de 18°C et 32°C. Une chute de pluie de 1000-4000 mm/an est requise.

¹ ALINORM 05/28/12, paras. 229-230 et ALINORM 06/29/12 para. 145.

² ALINORM 07/30/41, para. 113.

³ ALINORM 08/31/41, paras. 169-170.

⁴ ALINORM 10/33/41, para. 115.

⁵ REP11/CF para. 75.

7. Le terme « cocoa » concerne les fèves disponibles dans le commerce et les produits dérivés alors que l'anglais « cacao » concerne le cacaoyer et ses différentes parties, bien que ces deux termes soient dans certains cas interchangeables.
8. Le cacao est un produit à base de fruits secs fermentés. Les fèves de cacao ne sont pas consommées telles quelles. Elles subissent une transformation industrielle avant la consommation. Le cacao est un ingrédient très important dans les produits pharmaceutiques ainsi que dans différentes sortes d'aliments, tels que les tourteaux, les biscuits, les confiseries à base de chocolat, le chocolat à tartiner, les boissons au cacao, les aliments pour enfants, les glaces ainsi que les sucreries. (Tafari et al, 2004).
9. Durant la transformation industrielle du cacao, les premières étapes consistent à nettoyer, torréfier et à éliminer de façon mécanique la coque. Pour des raisons techniques, il n'est pas possible d'éliminer totalement la coque; jusqu'à environ 2% du poids du grué de cacao total peut être dû à la présence de cosse et de germe qui n'a pas été possible à enlever durant le processus de transformation (CODEX STAN141-1983 Rev1, 2001). Le grué est broyé dans la masse de cacao/liqueur pour une transformation ultérieure.
10. Environ 68% de l'approvisionnement mondial de fèves de cacao provient de l'Afrique occidentale, notamment de la Côte d'Ivoire, du Ghana et du Nigeria. Le cacao est également produit en Asie et en Amérique latine (Tableau 1). En tant que récolte produite par de petits exploitants, le cacao constitue une culture marchande non-périssable précieuse pour des milliers de paysans dans les pays producteurs de cacao, et son importance est capitale pour les économies de ces pays. Les fèves de cacao sont, en grande partie, exportées vers l'Europe et l'Amérique du Nord pour être transformées en liqueur de cacao, en beurre de cacao et en gâteau au cacao qui sera transformé en en poudre au cacao et chocolat (tableau 2) (ICCO 2007).

Tableau 1. Production mondiale de fèves de cacao (2008 – 2010) (milliers de tonnes)

Pays	2008/09		2009/2010 Evaluations		2010/2011 Prévisions	
Afrique	2519,4	69,9%	2482,5	68,4%	3100,2	73,9%
Cameroun	226,6		205,0		215,0	
Côte d'Ivoire	1223,2		1242,3		1470,0	
Ghana	662,4		632,0		1010,0	
Nigeria	250,0		235,0		240,0	
Autres	157,2		168,2		165,2	
Amérique	485,4	13,5%	516,7	14,2%	536,1	12,8%
Brésil	157,0		161,2		195,0	
Équateur	135,0		149,8		140,0	
Autres	193,4		205,7		200,1	
Asie & Océanie	597,7	16,6%	632,8	17,4%	559,0	13,3%
Indonésie	490,0		550,0		470,0	
Papouasie Nouvelle Guinée	59,4		38,7		45,0	
Autres	48,3		44,1		44,0	
Total mondial	3602,5		3632,0		4195,3	

(Référence: ICCO Quarterly Bulletin of Cocoa Statistics. Vol. XXXVII No. 3, Année cacao 2010/2011)

Note: Les totaux peuvent différer de la somme des constituants à cause de l'arrondissement.

Tableau 2. Consommation mondiale/mouture des fèves de cacao (milliers de tonnes) (2008-2011)
 (Référence: ICCO bulletin trimestriel des statistiques de cacao. Vol. XXXVII No. 3, Cocoa Année 2010/2011)

	2008/2009		2009/2010 Évaluations		2010/2011 Prévisions	
Europe	1445,8	41,3%	1494,0	40,4%	1561,4	40,8%
Allemagne	341,7		361,1		410,0	
France	154,4		145,0		155,0	
Italie	58,3		63,2		65,0	
Pays-Bas	460,0		500,0		530,0	
Espagne	90,9		87,0		90,0	
Royaume-uni	110,0		110,0		70,0	
Autres	104,2		105,0		110,0	
Afrique	621,7	17,8%	684,5	18,5%	650,9	17,0%
Cameroun	24,0		26,9		27,5	
Cote d'Ivoire	418,6		411,4		340,0	
Ghana	133,1		212,2		250,0	
Nigeria	34,0		25,0		25,0	
Autres	12,0		9,0		8,4	
Amérique	780,4	22,3%	815,3	22,1%	846,5	22,1%
Brésil	216,1		226,1		235,0	
Canada	55,4		59,2		62,0	
États-Unis	360,7		381,9		395,0	
Autres	148,2		148,1		154,5	
Asie & Océanie	649,3	18,56%	704,2	19,0%	769,1	20,1%
Indonésie	120,0		130,0		180,0	
Malaisie	278,2		298,1		300,0	
Singapour	79,5		83,0		85,0	
Turquie	51,8		65,0		65,0	
Autres	119,0		128,1		139,1	
Totaux mondiaux	3497,3		3698,0		3827,9	

STRUCTURE CHIMIQUE

11. L'OTA (7-(L-b-phénylalanyle-carbonyle)-carboxyle-5-chloro-8-hydroxy-3,4-dihydro-3R-méthyl isocumarin) (Figure 1) est un métabolite secondaire produit par plusieurs espèces d'*Aspergillus* et de *Penicillium*, (Pittet et Royer, 2002) qui peut être présent dans une denrée alimentaire même lorsque la moisissure visible n'est pas apparente. L'OTA est un composé cristallin sans couleur qui est soluble dans les solvants organiques polaires et une solution de bicarbonate de sodium dilué et modérément soluble dans l'eau (Scout 1996).

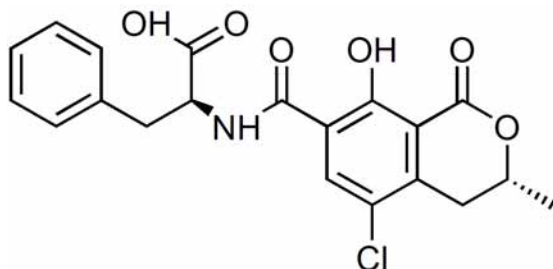


Figure 1. Structure chimique de l' OTA

12. L'enzyme de mammifère carboxypeptidase A a la capacité de cliver l'OTA en produits non toxiques (l'ochratoxine alpha et la phénylalanine). (Stander et al, 2001).
13. L'OTA conserve sa stabilité durant la plupart des étapes de la transformation des aliments telles que la cuisson, le lavage et la fermentation et peut être détecté dans les produits alimentaires manufacturés (Bakker et Pieters, 2002). Boudra et al (1995) a montré qu'un maximum de 20% d'OTA dans le blé est décomposé par la chaleur sèche à 100°C pendant 160 minutes ou à 150°C pendant 32 minutes. Durant la torréfaction du cacao, la température finale de la fève atteint 100 à 120°C pour une durée de 15 à 70 minutes (Minifie, 1982) Par conséquent, on ne s'attend pas à ce que la torréfaction réduise de façon importante les niveaux d'OTA.

EVALUATION TOXICOLOGIQUE

14. L'OTA est catégorisée comme cancérigène possible pour l'homme (groupe 2B) (CAC, 1998; IARC, 1993) et a été signalée comme étant néphrotoxique, immunosuppresseur, cancérigène et tératogène dans les études sur les animaux (JECFA, 1995; JECFA, 2001; O'Brien et Dietrich, 2005; Tsubouchi et al, 1995). L'OTA est considérée comme étant la cause de deux maladies chroniques, la néphropathie endémique balkanique et la néphropathie intestinale chronique (en Afrique du Nord), et des tumeurs urothéliales chez les humains. O'Brien et Dietrich, 2005) Un lien entre l'exposition à l'OTA à un stade précoce de la vie et le cancer des testicules a été posé (Schwartz, 2002). Des études préalables dans le cadre du programme de toxicologie nationale (NTP) aux États-Unis ont montré que l'OTA en doses élevées peut provoquer des tumeurs rénales chez les rongeurs. (Boorman, 1989).
15. L'OTA a été analysée dans les échantillons de sang humain en Côte d'Ivoire entre 1998 et 2004 (Sangare-Tigore et al, 2006). Les résultats ont révélé que 22 des 63 participants en bonne santé avaient des niveaux dans le sang d'OTA allant de 0,01 à 5,81 µg/L pour une teneur moyenne de 0,83 µg/L. Les niveaux trouvés dans 8 des 39 patients atteints de néphropathie traités par dialyse dont les niveaux étaient de 0,167 à 2,42 µg/L pour une moyenne de 1,05 µg/L.
16. Selon l'opinion du groupe scientifique sur les contaminants de la chaîne alimentaire de l'Autorité européenne de sécurité des aliments (AESA) (EFSA, 2006) la toxicité localisée rénale de l'OTA ainsi que la détérioration de l'ADN et les effets génotoxiques de l'OTA, mesurés au cours de diverses études in vivo et in vitro, sont très probablement imputables à la détérioration oxydative cellulaire sans preuve de l'existence de produits d'addition d'OTA-ADN. Sur la base des plus petites doses induisant un effet néfaste (LOAEL) de 8 µg/kg poids corporel/jour pour les marqueurs précoces de toxicité rénale chez les porcs, et en appliquant un facteur d'incertitude composite de 450 afin de tenir compte à la fois des incertitudes d'extrapolation des résultats expérimentaux de l'animal à l'homme et la variabilité inter espèces, on obtient une dose journalière tolérable de 120 ng/kg de poids corporel pour l'OTA. En 2010, l'EFSA a abordé la co-exposition possible à l'ochratoxine A et l'acide aristolochique de la population humaine dans des zones identifiées antérieurement comme ayant une prévalence élevée de néphropathie endémique mais n'a pas trouvé de raisons pour modifier les conclusions de son opinion précédente (EFSA, 2010).
17. À sa 68^{ème} réunion, le JECFA a examiné la dose hebdomadaire tolérable provisoire (DHTP) en vigueur de 100 ng/kg de poids corporel à la lumière des nouvelles données et a conclu qu'il n'y avait aucune raison de modifier le résultat précédent (JECFA, 2007).

ECHANTILLONNAGE

18. Spanjer al. (2006) a indiqué que le processus d'homogénéisation de l'échantillon est un facteur important dans les déterminations de l'OTA dans diverses matrices alimentaires. Selon le type de procédure de mouture qui détermine la distribution de la taille de la particule, la quantité d'OTA qui est mesurée pourrait varier. L'intérêt de cette trouvaille est que les plans d'échantillonnage qui ne sont pas convenablement conçus pourraient conduire au rejet ou à l'acceptation erronée des lots.
19. Les procédures d'échantillonnage et les critères de performance des méthodes d'analyse pour les mycotoxines ont été fournis par la Commission EU 401/2006 (EC 401/2006, 2006). Il n'existe pas de procédure d'échantillonnage spécifique pour l'analyse de l'OTA dans le cacao et les produits à base de cacao.

METHODES ANALYTIQUES

20. Un test rapide sur la base d'anticorps utilisant le nettoyage séquentiel et la détection visuelle de l'OTA dans la poudre de cacao a été présenté (Lobeau et al. 2007). Le dépistage correspond au niveau critique de 2,0 µg/kg et peut être pratiqué en plein champ.
21. La méthode validée de quantification de l'OTA emploie le protocole de chromatographie liquide à haute performance (CLHP/FLD) en phase inversée avec la détection de la fluorescence après nettoyage en colonne d'immunoaffinité (Brera et al. 2003). Une étude de laboratoire visant à évaluer la performance de 18 laboratoires en matière de détermination de l'OTA dans les échantillons de poudre de cacao utilisant cette méthode a été présentée (Brera et al. 2005). Les résultats ont été respectivement satisfaisants dans 10, 11 et 12 des 18 laboratoires participants à un niveau faible (0,19 µg/kg), du niveau moyen (0,45 µg/kg), et du niveau élevé de contamination (1,45 µg/kg) respectivement.
22. Copetti (2009) a validé une méthode analytique pour les fèves de cacao utilisant une colonne d'immunoaffinité pour le nettoyage et de HPLC/FLD à des niveaux de 0,49, 1,96 et 9,80 µg/kg. Les taux de récupération étaient de 97,5 à 80,0% et la limite de détection était de 0,01 µg/kg. Turcotte et Scott (2010) ont également validé une méthode similaire pour le cacao en poudre et le chocolat, avec un LOQ de 0,08 ng/g, découverte de 94-79% et un coefficient de variation de < 5%.
23. Afin de détecter la présence de l'OTA dans un grand nombre d'échantillons, des méthodes rapides, peu coûteuses et faciles à exécuter sont souhaitables, en particulier dans les pays à faible revenu dans lesquels la surveillance est moins accessible en raison des contraintes économiques et technologiques. (Murphy et al., 2006). Toutefois l'interprétation des données doit être faite avec soin et dans certains cas une analyse complémentaire devrait être exécutée

TRANSFORMATION PRIMAIRE DU CACAO

24. La transformation primaire des fèves de cacao consiste en deux étapes majeures, en particulier la fermentation et le séchage. Différentes méthodes de fermentation et de séchage sont suivies dans les pays dans lesquels le cacao croît. La fermentation du cacao commence immédiatement après que les fèves encastrées dans la pulpe mucilagineuse sont retirées des cosses. Les fèves ainsi que la pulpe associée sont soumises à la fermentation microbienne. La fermentation des fèves de cacao dépend des méthodes de production, des tailles de lots, de la maturité des cosses ainsi que des conditions d'entreposage et environnementales.
25. Après le retrait des fèves des cosses, la première étape dans la transformation du cacao est une fermentation spontanée de 4 à 7 jours des fèves avec pulpe dans les tas, les caisses, les corbeilles ou plateaux, et plus tard des sacs en propylène et bâche en plastique noire.
26. La teneur en humidité des fèves de cacao fermentées est entre 55 et 60% (Zahouli *et al.*, 2010). Durant la fermentation la température ambiante des fèves atteint environ 50-55°C à cause des réactions exothermiques par oxydation. Guehi *et al.* 2010, ont étudié l'effet des fèves volubiles et la méthode de la fermentation sur la qualité acide et physique des fèves de cacao brutes. Dans cette étude, des essais de fermentation ont été conduits dans les caisses en bois, les boîtes en plastique et dans les tas avec ou sans retournage. Le cacao fermenté dans les boîtes durant 4 jours sans mélange avait des valeurs de pH au-dessus de 5,0 tandis que le cacao fermenté dans les tas avait un pH de 4,92. Pour la fermentation avec des retournages, les fèves traitées dans les caisses en bois étaient moins acides que les fèves fermentées dans des boîtes en plastique qui enregistraient un pH de 4,75. Le cacao obtenu à partir de toutes les méthodes de fermentation et fermenté pendant 5 jours sans mixage a montré un pH au-dessus de 5. Le cacao fermenté dans les boîtes en plastique sans retournage est devenu acide avec un pH 4,73 tandis que les fèves fermentées dans les caisses n'étaient pas acides. L'ensemble des fèves ne montraient aucun signe de dommages d'insecte et des niveaux négligeables de moulage interne quel que soient le tournage et les méthodes de fermentation.

27. La fermentation du cacao apparaît largement sur la pulpe mucilagineuse sur la surface extérieure de la fève de cacao. Une succession microbienne des levures, des bactéries acides lactiques (LAB), et des bactéries acides acétiques (AAB) apparaît durant la fermentation de masse de la fève de cacao. Le pH de démarrage bas, ensemble avec des niveaux bas d'oxygène, favorise la colonisation par des levures qui assimile l'acide citrique, liquéfie la pulpe et convertit la sucrose, le glucose et le fructose présents dans la pulpe à l'éthanol. Les sucres fermentés LAB et l'acide citrique jusqu'à l'acide lactique, l'acide acétique et le mannitol causant une augmentation plus avancée dans le pH et favorisant la croissance de AAB; AAB, maintenant dans un environnement aérobique, augmente et convertit l'éthanol en acide acétique. L'acide acétique pénètre dans et dissout les membranes internes des graines de cacao conduisant au mélange des composants de cellule et déclenchant des réactions ultérieures au sein de la fève conduisant à la dégradation des polyphénols et la production des métabolites qui sert en tant que précurseurs d'aromatisant pour la production de chocolat (Camu et al. 2007)
28. Après la fermentation, les fèves sont séchées immédiatement afin d'éviter une sur fermentation, qui pourrait conduire à produire la détérioration. Le séchage est généralement effectué par le séchage au soleil et des techniques artificielles d'air chaud. Les petits exploitants préfèrent le séchage au soleil tandis que dans des plantations plus larges la méthode d'air chaud (artificielle) est préférée (Hii *et al.*, 2009). Le séchage est en général terminé lorsque la teneur en humidité des 'fèves sèches ' atteint 7,5% (à l'état humide).
29. Les conditions d'entreposage pour les fèves de cacao dans les tropiques ne sont généralement pas optimales principalement à cause d'une humidité élevée et par conséquent les périodes d'entreposage sont restreintes à presque trois mois à moins que des précautions spéciales soient prises. Les fèves de cacao peuvent absorber l'humidité si l'humidité est élevée. Si la teneur en humidité s'élève au-dessus de 8%, la moisissure peut se développer à l'intérieur de la fève. A 8% de teneur en humidité, les fèves de cacao sont en équilibre avec l'humidité relative ambiante (environ 70% et les températures normales dans les tropiques). Là où l'humidité relative excède ce niveau pour des périodes prolongées il existe un danger de développement interne de moisissure. Les fèves de cacao séchées sont généralement mises dans des sacs tissés propres en jute ou des sacs appropriés et entreposés. Le cacao en sac est entreposé dans des bâtiments spécialement construits avec l'objectif de conserver la teneur en humidité des fèves suffisamment basse et au sein d'une limite acceptable. Après le séchage, les fèves de cacao sont assorties et emballées dans des sacs appropriés et entreposés. Les sacs de cacao sont généralement fabriqués en matériaux non toxiques, de préférence des sacs de qualité alimentaire exempte d'hydrocarbure qui n'attirent pas les insectes et les rongeurs et sont suffisamment forts pour résister à l'entreposage pour de plus longues périodes. Les fèves de cacao entreposées sont placées dans des hangars d'entreposage qui sont étanches, bien aérés et exempts d'humidité et d'insectes et loin de la fumée et autres odeurs qui contamineraient le cacao. Le cacao emballé lorsqu'il est bien entreposé pour des périodes entre 9 et 12 mois.
30. Antérieurement à la cargaison, chaque expédition de cacao est fumée; et le conteneur vide ou bateaux détenus sont désinfectés avant la garniture ou le chargement. L'expédition est généralement accompagnée par la documentation appropriée.

OCCURRENCE DE L'OTA ET FONGIQUES PRODUISANT DE L'OTA DANS LES FEVES DE CACAO

31. De nombreux efforts ont été faits pour isoler et identifier l'OTA produisant des moisissures à partir des fèves de cacao. Dans une étude conduite au Ghana pour évaluer la moisissure dans le cacao pour une période d'un an, 58 espèces fongiques ont été isolées et identifiées. Celles-ci incluaient 26 espèces d'*Aspergillus*, certaines d'entre elles potentiellement toxigéniques (*A. niger*, *A. ochraceus* et *A. flavus*), 5 espèces de *Penicillium* et 8 espèces de *Fusarium* (Appiah, 2001). Le pourcentage des fongiques ochratoxigénique n'a pas été montré.
32. Dans une autre étude, aucune des 66 souches d'*Aspergillus* isolées pendant la fermentation et le séchage des fèves de cacao au Ghana, était capable de produire de l'OTA. On a procédé au dépistage de la production de l'OTA dans un total de 13 souches d'*Aspergillus* provenant de Côte d'Ivoire, 16 du Nigéria et 86 du Ghana et on a seulement trouvé deux *Aspergilli* ochratoxigéniques. (COCOQUAL, 2007).
33. Dans une étude effectuée au Ghana (Abrokwa et Sackey, 2010), trois types de fermentation du cacao ont été entrepris sur trois sites écologiques en utilisant les cosses catégorisées comme saines, malades, malades et endommagées et endommagées/cassées. Le séchage des fèves fermentées a été effectué sous différents régimes y compris de façon standard en plein air, et le séchage au jour court étendu afin de simuler le séchage impropre ou affecté par la pluie. Différentes espèces de fongiques ont été isolées durant la fermentation et les étapes du séchage avec certaines espèces apparaissant uniquement durant l'étape du séchage. Les résultats ont montré que tous les échantillons étaient positifs quant à la présence d'ochratoxigénique et d'altération fongique. Les fongiques suivants étaient isolés: *Aspergillus niger*, *A. flavus*, *A. sulphureus*, *A. ochraceus* *Trichoderma viride*, *Fusarium solani*, *Rhizopus stolonifer* et *Candida albicans*. Uniquement le *A. niger* et *A. ochraceus* ont le potentiel de former de l'OTA. Plusieurs des échantillons étaient positifs pour l'OTA dans les trois stations écologiques mais les niveaux étaient généralement d'une gamme très basse de 0,00 à 0,57 ppb (µg/kg).

34. Une étude sur l'incidence des fongiques ochratoxigéniques et l'OTA dans le cacao a été effectuée au Brésil durant la période de 2006 à 2008 (Copetti et al., 2010). Un total de 222 échantillons de cacao rassemblés à différentes étapes de la transformation comprenait: les échantillons avant la fermentation (25), la fermentation (51), le séchage (81) et l'entreposage (65). Dans cette étude, 271 fongiques appartenant aux espèces potentiellement ochratoxigéniques d'*Aspergillus* ont été isolées et identifiées en tant qu'un agrégat d'*A. carbonarius*, d'*A. niger*, d'*A. ochraceus*, d'*A. melleus* et d'*A. westerdijkiae*. Avant la fermentation, aucune espèce capable de produire de l'OTA n'a été trouvée dans les cosses de cacao, soit saines ou endommagées. Durant la fermentation, seuls quelques isolats appartenant à l'agrégat *Aspergillus niger* ont été trouvés et la plus grande diversité et nombre d'espèces capable de produire de l'OTA ont été trouvés durant le séchage au soleil. Durant l'entreposage, une augmentation dans l'occurrence de l'agrégat *Aspergillus niger* et *A. carbonarius* a été observé. L'agrégat *Aspergillus niger* constituait l'espèce la plus commune isolée avec le potentiel de produire de l'OTA. Toutefois, uniquement 10 (5,2%) des 191 isolats étaient capables de produire de l'OTA sur l'agar YES. D'autre part, les 92 isolats de l'*A. carbonarius* et les 10 isolats issus de l'*Aspergillus* section *Circumdati* (6 *A. melleus*, 2 *A. ochraceus* et 2 *A. westerdijkiae*) étaient capables de produire de l'OTA (Tableau 3). Cette étude a conclu que l'*A. carbonarius* est la source principale de l'OTA dans le cacao, bien que d'autres espèces ochratoxigéniques isolées puissent également y contribuer.

Tableau 3. Fréquence d'isolation des espèces ochratoxigéniques et incidence des fèves de cacao infectées à différentes étapes de la transformation (Copetti et al. 2010).

	Fermentation (51 échantillons)		Séchage (81 échantillons)		Entreposage (65 échantillons)	
	IF (%)	RI (%)	IF (%)	RI (%)	IF (%)	RI (%)
<i>Aspergillus carbonarius</i>	1,96	0-3	3,70	0-24	7,81	0-66
<i>A. niger</i> agrégat	3,92	0-9	14,8	0-48	26,15	0-51
<i>A. ochraceus</i>	0	0	2,47	0-3	0	0
<i>A. melleus</i>	0	0	2,47	0-6	3,13	0-3
<i>A. westerdijkiae</i>	0	0	2,47	0-6	0	0

^a IF = fréquence d'isolation % (nombre d'échantillons qui contenait une espèce fongique/total des échantillons évalués, %); RI = rang d'infection % (gamme des fèves infectées dans un échantillon %).

35. Aucun des 25 échantillons relevés avant le commencement de la fermentation ne contenaient de l'OTA. Quatorze (27%) échantillons issus de la fermentation contenaient de l'OTA, bien que la plupart des échantillons était proche de la limite de détection de la méthode (0,01 µg/kg). Uniquement trois échantillons avaient des niveaux plus élevés que 0,10 µg/kg, avec un maximal de 1,70 µg/kg. Après fermentation, à l'étape du séchage au soleil, l'OTA a été détecté dans 51% des échantillons et la plupart des (73%) échantillons avait des niveaux plus bas que 0,10 µg/kg. Seul un échantillon contenait 5,54 µg/kg. Dans l'entreposage, à la fois le nombre d'échantillons positifs d'OTA et le niveau de la contamination étaient similaires aux résultats trouvés durant le séchage (Tableau 4). Des 222 échantillons analysés, seuls deux avaient des valeurs d'OTA au-dessus de 2 µg/kg (Copetti et al. 2010).

Tableau 4. Contamination à l'OTA des fèves de cacao à différentes étapes de la transformation (Copetti et al., 2010).

Étape/nombre d'échantillons évalués		OTA>LD n(%)	OTA>2 µg/kg n(%)	OTA (µg/kg)		
				Maximum	Médiane	Moyenne
Avant la fermentation	25	0 (0%)	0 (0%)	<0,01	<0,01	<0,01
Fermentation	51	14 (27%)	0 (0%)	1,70	<0,01	0,05
Séchage au soleil	81	41 (51%)	1 (1%)	5,54	0,01	0,13
Entrepo- sage	65	33 (52%)	1 (2%)	4,64	0,02	0,10

^a Limite de détection (LD): 0,01 µg/kg; méthode de récupération moyenne: 90,8%.

36. Mounjouenpou et al. (2008) ont évalué à quel point les champignons filamenteux et la toxigénèse étaient affectés par les types de traitements du cacao postérieur à la récolte (boîtes ou tas). L'*Aspergillus carbonarius* était la principale souche isolée produisant de l'OTA, et de très bas niveaux d'OTA dans les fèves non fermentées et fermentées issues des cosses saines. Les champignons filamenteux étaient plus abondants à la fin de la saison de la récolte. Les facteurs affectant l'intégrité des fèves (traitement insuffisant, processus différé) ont résulté en une augmentation qualitative et quantitative dans la contamination, lorsque le nombre total de champignons filamenteux pouvait atteindre une valeur maximale de $5,5 \pm 1,4 \times 10^7$ CFU/g et l'*Aspergilli* noir une valeur maximale de $1,42 \pm 2,2 \times 10^7$ CFU/g. Le cacao sec fermenté issu de cosses de pauvre qualité était le plus contaminé par l'OTA: jusqu'à 48 ng/g.
37. Gilmour et Lindblom (2008) ont également trouvé des niveaux élevés d'OTA dans les fèves issues des cosses endommagées après cinq jours d'entreposage des cosses, la contamination qui a commencé le premier jour de la fermentation, avec des niveaux de contamination plus élevés au milieu du tas. Trois jours durant la fermentation, la tendance était inverse et la contamination était clairement plus grande aux bords. Ce renversement était accompagné d'une croissance considérable de moisissure sur la surface de l'empilement. Cinq jours après la fermentation, la teneur en OTA a augmenté plus avant. Seules des traces d'OTA ont été trouvées après la fermentation et le séchage des fèves issues des cosses saines entreposées pendant cinq jours. Après quatre semaines d'entreposage des cosses, les niveaux d'OTA étaient bas et il y avait seulement une petite différence entre les niveaux des fèves issues des cosses saines et endommagées. Les niveaux d'OTA dans les cosses moisies endommagées par des insectes (~ 7 ng/g), endommagées par des insectes (~ 4 ng/g) et momifiées (~ 3 ng/g) étaient substantiellement moindres que ceux trouvés dans les cosses physiquement endommagées (~ 20 ng/g), mais généralement plus élevés que ceux trouvés dans les cosses considérées comme intactes durant le contrôle (~ 2 ng/g).
38. Dans une étude conduite par Ratters et Matissek (2006), un total de 8 cosses visiblement saines issues des régions en croissance de la République Dominicaine (année de culture 1999) et Ghana (année de culture 2000) et 7 cosses de cacao endommagées ou moisies issues du Ghana cultivées en 2001 étaient séparées en pulpe et fèves. L'OTA n'a été détecté dans aucun échantillon de cosse de cacao, de fèves ou de pulpes analysés (LOD de 0,02 µg/kg). Les auteurs ont aussi montré que la phase de véraison des cosses de cacao issue de l'arbre jusqu'à la période de récolte ne constituait pas une étape critique pour la génération de l'OTA.
39. Amezcqueta et al. (2004) ont analysé l'OTA dans 46 échantillons de fèves de cacao de différentes origines et lots. Un total de 63% des échantillons était contaminé (LOD de 0,04 µg/kg), avec des niveaux de 0,04 à 14,8 µg/kg, moyenne et médiane de 1,71 et 1,12 µg/kg respectivement.
40. Dans une étude sur la Côte d'Ivoire, le cacao arrivant aux ports d'Abidjan et San Pedro était évalué afin de vérifier une éventuelle contamination à l'OTA. Les échantillons de fèves de cacao sèches ont été pris pour analyse conformément à la réglementation de la Commission (EC) No 401/2006. Parmi les 150 échantillons testés à Abidjan, 23 avaient des niveaux d'OTA >2,0 µg/kg, et 10 des 150 échantillons collectés à San Pedro avaient des niveaux >2,0 µg/kg (Dembele, 2009).
41. Un contrôle de fèves de cacao nigériennes prêtes à être vendues a indiqué que moins de 90% cent des 59 échantillons testés étaient positifs à l'OTA, avec des concentrations se situant dans une fourchette entre 1,0 et 277,5 µg/kg (Dongo et al., 2008). Un indirect compétitif ELISA (dosage immunoenzymatique sur support solide), beaucoup moins sensible que la méthode HPLC a été utilisée pour la détermination.
42. L'industrie européenne a analysé des échantillons des fèves de cacao importées de différentes origines depuis 1999 (Figure 2). Les résultats montrent que les fèves de cacao contaminées ont été trouvées dans toutes les régions produisant du cacao (Gilmour et Lindblom, 2008). Les données additionnelles sur l'incidence de l'OTA dans les fèves de cacao issues de différents pays producteurs sont indiquées dans le tableau 5.

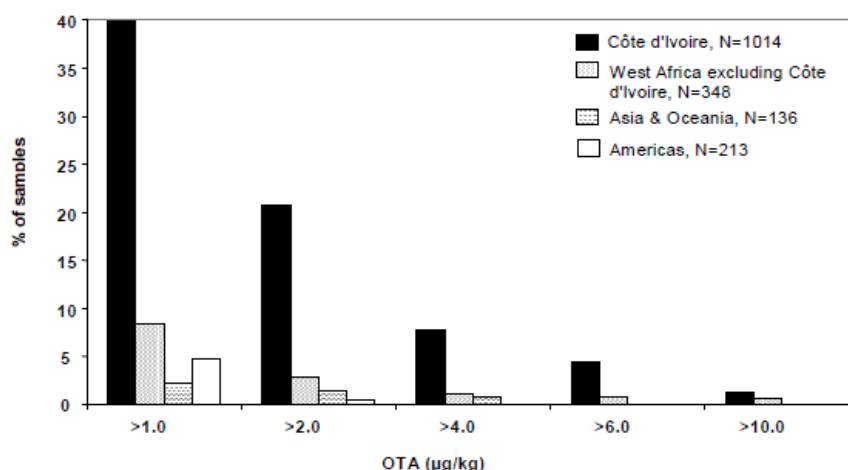


Figure 2 - Les niveaux d'OTA dans les fèves de cacao importées en Europe des différentes régions du monde 1999-2005 (Gilmour et Lindblom, 2008).

% of samples: % d'échantillons

Côte d'Ivoire, N=104: Côte d'Ivoire, N=104

Asia & Oceania= Asie &Océanie

Americas, N= 213: Amériques N= 213

Tableau 5.Données additionnelles sur l'occurrence de l'OTA dans les fèves de cacao des divers pays producteurs

Origine	Année	Nombre d'échantillons			%	Références
		Total	>LOQ	>2 µg/kg	>2 µg/kg	
Abidjan	2005	147		23	16	Dembele et al., 2009
San Pedro	2005	151		10	7	Dembele et al., 2009
Côte d'Ivoire		33	24	5	15	Amazqueta et al., 2004
Cameroun		7	3	1	14	Amazqueta et al., 2004
Guinée équatoriale		6	2	0	0	Amazqueta et al., 2004
Afrique		21	16	1	5	Bonvehi, 2004
Brésil	2006-2008	222	88	2	1	Copetti et al., 2010

EFFETS DE TRANSFORMATION SUR LES NIVEAUX D'OTA DANS LES PRODUITS

43. Les fèves de cacao doivent entreprendre une conversion industrielle avant la consommation. Durant cette transformation industrielle, l'aw est < 0,8, ce qui est trop bas pour la production d'OTA. Les premières étapes dans la transformation sont la torréfaction et le retrait de la coque (Gilmour et Lindblom, 2008).
44. L'OTA a été analysée dans 15 paires de d'échantillons de coques de cacao et de graines prélevées au même moment provenant des vanneurs industriels (Gilmour et Lindblom, 2008). Basé sur les résultats pour la coque et la fraction de la graine, la teneur en OTA dans les fèves utilisée pour la transformation a été calculée. La teneur calculée en OTA dans les fèves entières était entre 0,3 et 3,0 ng/g. Une moyenne de 48% (gamme 25-72%) de l'OTA dans les fèves a été retirée avec la fraction de la coque.
45. Dans une étude où les coques de cacao ont été retirées à la main, Amazqueta et al., (2005) ont observé une réduction de la teneur en OTA de >95% dans 14/22 échantillons, de 65-95% dans 6/22 échantillons et seulement un échantillon a montré une réduction de moins de 50%.
46. Dans une étude conduite par Bonvehi (2004), Les niveaux les plus élevés d'OTA ont été détectés dans des coques de cacao torréfiées (valeur moyenne 111 µg/kg) suivis de tourteau au cacao (valeur moyenne de 2,79 1 µg/kg). Uniquement des niveaux mineurs ont été trouvés dans les autres produits au cacao.
47. Les graines sont broyées afin de former une masse/liqueur de cacao, un liquide visqueux contenant ~ 50% de matières grasses. La masse/liqueur de cacao peut être mélangée avec d'autres ingrédients pour produire du chocolat ou elle peut être « pressée » pour produire du beurre de cacao et du cacao en poudre. Après avoir pressé toute l'OTA originellement présente dans les graines elle est retrouvée dans le cacao en poudre. Ce résultat est prévisible puisque le cacao en poudre est une fraction concentrée de solides de cacao. L'OTA n'a pas été trouvée dans la fraction de beurre de cacao (Gilmour et Lindblom, 2008).
48. Seize échantillons larges de fèves de cacao sèches spécialement entreposés dans des conditions qui ont favorisé la croissance de la moisissure pendant quatre mois ont été transformés en beurre de cacao et en chocolat afin de déterminer l'effet de la transformation sur la teneur en OTA des fèves contaminées. Les coques ont été retirées à la main. Parmi les 16 échantillons transformés, les niveaux d'OTA variaient entre 3,37 et 46,15 µg/kg, avec une moyenne de 24,0 µg/kg. Les coques des fèves vertes ont été contaminées le plus fortement avec une valeur moyenne de 91,0 µg/kg. Les chocolats contenaient 1,86 µg/kg en moyenne et le beurre était exempt d'OTA (voir Figure 3). En moyenne, environ 70% de l'OTA a été retirée avec la fraction de coque (Dembele et al. 2009).

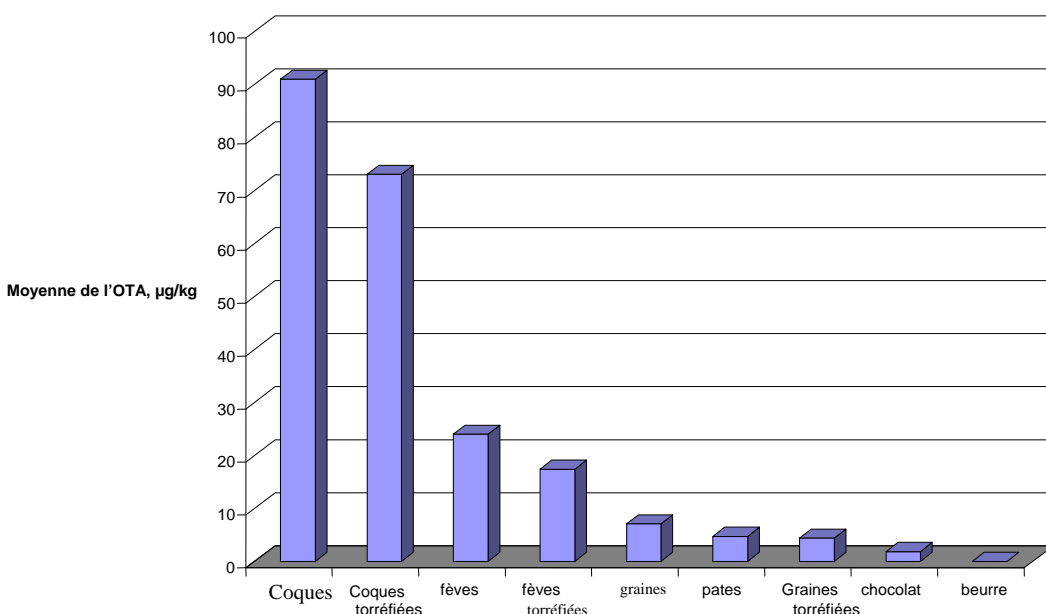


Figure 3. Niveau moyen de l'OTA dans différents produits de transformation de fèves de cacao contaminées.
Données de la Côte d'Ivoire (Dembele et al., 2009).

OCCURRENCE DE L'OTA DANS LES PRODUITS AU CACAO

49. Dix échantillons de cacao en poudre et 9 échantillons de chocolat pris sur le marché libre en Belgique ont été analysés en 2005 (Christine Vinkx, 2007). Cinq échantillons de cacao en poudre étaient inférieurs à la limite de quantification (LOQ) (0,3 µg/kg) et les 5 autres échantillons restants contenaient des teneurs en OTA variant de 0,60 à 0,81 µg/kg. L'ensemble des 9 échantillons de chocolat contenaient des teneurs en OTA inférieures à la LOQ.
50. Dans une étude menée au Japon en 2005, 14 des 41 échantillons de chocolat au détail analysés contenaient des niveaux d'OTA situés dans une fourchette de <0,10 (14 échantillons) à 0,94 µg/kg (MHLW, 2006).
51. Le rapport sur les travaux de la coopération scientifique 3.2.7⁴⁴ a montré que 81,3% des produits cacaotés analysés étaient contaminés par l'OTA. Cela revient à dire que parmi les 547 échantillons de produits cacaotés analysés, 445 étaient positifs. La teneur de la contamination variait dans une fourchette allant de 0,01 à 3,8 µg/kg, pour une moyenne de 0,23 µg/kg (Tableau 6) (Miraglia et Brera, 2002).
52. Vecchio et Finoli (2007) ont détecté des niveaux d'OTA de 0,1 à 3 µg/kg dans 82% de la poudre de cacao commercialisée en Italie; deux échantillons avaient des niveaux de > 2 µg/kg.
53. Burdaspal et Legarda (2003) ont évalué l'occurrence de l'OTA dans 296 échantillons de différents types de chocolat et du cacao en poudre acheté en Espagne et autres 15 pays. L'OTA a été détectée dans tous les échantillons à l'exception d'un échantillon (99,7% d'échantillons positifs). Les détails sont indiqués dans le tableau 6.
54. Turcotte et Scott (2011) ont détecté de l'OTA dans le cacao et les produits au cacao disponibles sur le marché de la vente au détail canadien à une incidence de 100%. Les concentrations d'OTA dans le cacao solubilisé (n=16) se situaient dans une fourchette de 0,57-7,8 µg/kg, tandis que les concentrations dans le cacao naturel (n=16) se situaient dans une fourchette de 0,25-2,6 µg/kg. Six échantillons de cacao (5 solubilisés et 1 naturel) avaient une teneur de d'OTA de > 2 µg/kg. les concentrations dans le chocolat de cuisson au four (n=7), Chocolat noir (n=14) et chocolat au lait (n=7) se situaient dans une fourchette de 0,12-1,4, 0,17-0,88 et 0,05-0,19 µg/kg, respectivement.
55. En Italie, 60% des 300 échantillons de cacao en poudre et des produits au chocolat achetés avaient des niveaux d'OTA au-dessus de LOQ (0,08 µg/kg). Tous les échantillons de cacao en poudre étaient contaminés et le niveau le plus élevé d'OTA a été trouvé dans un échantillon de barre au chocolat noir (Tableau 6). Les concentrations moyennes étaient en dessous de la limite légale antérieure (0,5 µg/kg pour les produits au chocolat et 2,0 µg/kg pour le cacao en poudre) (Brera et al. 2011).
56. Copetti (2011) enquêtant sur la co-occurrence d'aflatoxine et d'ochratoxine A dans les produits au chocolat, y compris le chocolat en poudre, amer, noir, au lait et blanc sur le marché brésilien (125 échantillons) a constaté que l'ochratoxine A était la mycotoxine la plus commune dans les échantillons évalués et 98% du chocolat acheté était contaminé. Les niveaux les plus élevés d'ochratoxine A ont été trouvés dans la poudre de cacao, le chocolat noir et amer respectivement: 0,39; 0,34 et 0,31 µg/Kg. La moyenne de l'aflatoxine dans le chocolat amer, en poudre et noir était de 0,66, 0,53 et 0,43 µg/Kg, respectivement. Il existait une corrélation faible entre la contamination par les aflatoxines et l'ochratoxine A dans les produits testés et il n'était pas possible de porter de conclusions à propos de la co-occurrence de ces contaminants.

Tableau 6. La teneur en ochratoxine A de différents produits au cacao

Produit	Origine	Total échantillons positifs*	LOQ ou LOD, µg/kg	Max, µg/kg	Médiane, µg/kg	Moyenne, µg/kg	Références
Chocolat		41/27		0,94			MHLD, 2006
Chocolat		40 ²					MAFF, 1999
Chocolat	Allemagne	352/297	0,01	3,6	0,06	0,1	Miraglia et Brera, 2002
Chocolat	RU	40/18	0,1	0,6	0,1	0,38	Miraglia et Brera, 2002
Chocolat	Espagne	35	0,01		0,12		Burdaspal &Legarda, 2003
Chocolat	Pas l'Espagne	52	0,01		0,268		Burdaspal &Legarda, 2003
Confiseries au chocolat	Italie	47/21		0,42		0,15	Brera, et al. 2011
Coque de cacao	Brésil	19/19	0,01	2,01		1,13	Copetti, 2009
Beurre de cacao	Brésil	25/5	0,01	0,06		0,03	Copetti, 2009
Beurre de cacao	divers	4/0	0,1				Bonvehi, 2004
Beurre de cacao	Pays-Bas	6/0	0,25				Miraglia et Brera, 2002
Cacao à tartiner	Pays-Bas	8/0	0,25				Miraglia et Brera, 2002
Tourteau au cacao	Brésil	26/19	0,01	3,18		0,97	Copetti, 2009
Tourteau au cacao	divers	80/74	0,1	9		2,79	Bonvehi, 2004
Poudre à boire au cacao		247/101	0,1-0,5 ³			0,2	Gilmour & Lindblom, 2008
Pâte de cacao	divers	8/4	0,1	3,5		1,07	Bonvehi, 2004
Pâte de cacao	Pays-Bas	1/0	0,25				Miraglia et Brera, 2002
Cacao en poudre	Brésil	44/44	0,01	5,13		1,09	Copetti, 2009
Cacao en poudre	divers	31/29	0,1	4,4		2,41	Bonvehi, 2004
Cacao en poudre	Pas l'Espagne	21			0,24		Burdaspal &Legarda, 2003
Cacao en poudre	Pas l'Espagne	5			0,17		Burdaspal &Legarda, 2003
Cacao en poudre		1189/1094	0,1-0,5 ³			1	Gilmour & Lindblom, 2008
Cacao en poudre	Italie	18/9	9	0,77		0,43	Tafari et al., 2004 ¹
Cacao en poudre		20/19		2,4		0,68	MAFF, 1999

Produit	Origine	Total échantillons positifs*	LOQ ou LOD, µg/kg	Max, µg/kg	Médiane, µg/kg	Moyenne, µg/kg	Références
Cacao en poudre		20/20				1,67	MAFF, 1999
Cacao en poudre	Allemagne	96/91	0,01	1,8	0,3	0,38	Miraglia et Brera, 2002
Cacao en poudre	RU	40/39	0,2	2,4		1,2	Miraglia et Brera, 2002
Cacao en poudre	Pays-Bas	6/0	0,25				Miraglia et Brera, 2002
Cacao en poudre	Italie	40/40		1,82		0,55	Brera, et al. 2011
Chocolat noir	Italie	120/92		0,74		0,20	Brera et al. 2011
Chocolat noir	Brésil	25/25	0,01	0,87		0,34	Copetti, 2009, 2011
Chocolat noir	Espagne	35			0,25		Burdaspal & Legarda, 2003
Chocolat noir	Pas l'Espagne	52			0,27		Burdaspal et Legarda, 2003
Chocolat noir		536/300	0,1-0,5 ³			0,26	Gilmour et Lindblom, 2008
Chocolat/ Crème au chocolat	-	11/8	0,1	1,59		0,63	Bonvehi, 2004
Oeufs de Paques	Italie	15/5		0,50		0,20	Brera, et al. 2011
Liqueur	Brésil	25/5	0,01	1,09		0,34	Copetti, 2009, 2011
Chocolat au lait	Brésil	25	25	0,45		0,15	Copetti, 2009, 2011
Chocolat au lait	Espagne	47			0,12		Burdaspal & Legarda, 2003
Chocolat au lait	Pas l'Espagne	122			0,1		Burdaspal & Legarda, 2003
Chocolat au lait	Italie	78/21		0,26		0,15	Brera et al. 2011
Chocolat au lait		228/52	0,1-0,5 ³			0,16	Gilmour & Lindblom, 2008
Chocolat en poudre	Brésil	25/25	0,01	0,92		0,39	Copetti, 2009, 2011
Chocolat blanc	Brésil	25/23	0,01	0,05		0,03	Copetti, 2009, 2011
Chocolat blanc	Espagne	5			0,03		Burdaspal & Legarda, 2003
Chocolat blanc	Pas l'Espagne	9			0,03		Burdaspal & Legarda, 2003

¹ Les résultats sont corrigés pour rétablissement; ²30 échantillons <0,6 µg/kg; échantillons ont été analysés par différents laboratoires avec des LODs de 0,1, 0,2, ou 0,5 µg/kg; * y compris des échantillons entre LOD-LOQ

FACTEURS AFFECTANT LA PRÉSENCE DE L'OTA DANS LE CACAO

57. Gilmour et Lindblom (2008) ont indiqué une étude conduite entre 1999 et 2004 en Afrique de l'Ouest (Figure 4). L'objectif de l'étude était d'identifier les points de contrôle critiques de la chaîne de production du cacao qui fourniront la base de la formulation des stratégies de prévention à instituer dans le cadre de l'analyse des dangers et contrôle des points critiques (HACCP) pour minimiser l'exposition des consommateurs.

Les conclusions étaient que:

- la contamination commence entre les étapes sur l'arbre/la récolte jusqu'à la pré fermentation, et que les cosses endommagées constituent une partie majeure du problème;
- une indication que l'inoculation initiale est apparue avant ou durant la fermentation;
- la procédure de séchage pour les fèves de cacao peut jouer un rôle dans le développement de l'OTA mais ne semble pas être la source principale de contamination;
- le séchage maigre pour autoriser une augmentation plus avant dans les niveaux de toxine dans les fèves déjà contaminées;
- Les niveaux OTA peuvent varier durant la saison de la cueillette;
- d'autres augmentations dans les niveaux d'OTA n'ont pas été trouvées dans les échantillons de fèves de cacao à des étapes ultérieures dans la chaîne logistique; et
- 50% de la toxine contaminée est retirée physiquement lorsque les coques sont retirées des fèves.

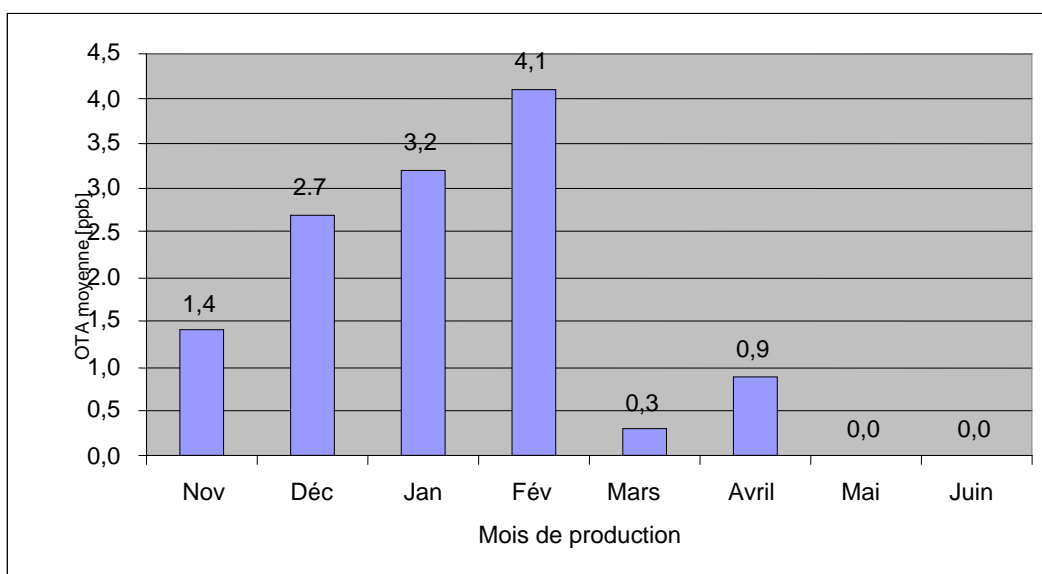


Figure 4. Variation des niveaux d'OTA comme une fonction du mois de production (Gilmour et Lindblom, 2008)

58. Des expériences menées dans les grandes exploitations agricoles de Côte d'Ivoire ont indiqué que des quantités très faibles d'OTA sont produites durant la fermentation. La fermentation a été conduite dans des sacs placés au milieu et sur le sommet des contenants de fermentation en bois. Les contenants ne présentaient pas de contamination à la moisissure visible lorsque la fermentation était complète, la teneur des contenants était sèche à deux différentes profondeurs (3 et 8 cm) dans des lits de séchage. Aucune OTA n'a été détectée dans aucun des échantillons (Gilmour et Lindblom, 2008).
59. A la différence des résultats issus des études sur la fermentation à l'échelle industrielle dans des larges contenants, les fèves produites dans les conditions propres à un petit exploitant (fermentation en tas, petites portions) contenaient de l'OTA dans beaucoup d'échantillons. Le niveau d'OTA était > 0,5 ng/g dans 24 des échantillons (39%) et > 2 ng/g dans 11 échantillons (18%). Les auteurs concluaient que les conditions de séchage seules ne sont pas responsables du niveau d'OTA qui dépend des interactions entre les conditions de la récolte, de la fermentation et du séchage et la saison sèche apparaît être la période la plus critique pour la contamination à l'OTA. Par conséquent, les conditions les plus difficiles de fermentation qui apparaissent à ce moment là à cause des conditions climatiques et la nature du mucilage, pourraient faciliter la croissance de moisissure et la production d'OTA (Gilmour et Lindblom, 2008)

60. les études conduites (Dembélé et al., 2009) en Côte d'Ivoire, pour déterminer les points critiques de contamination au niveau de la ferme. Les résultats ont montré que les fèves issues des cosques endommagées physiquement étaient les plus contaminées, avec des niveaux variant entre 2,49 à 2,8 µg/kg. Toutefois, les cosques partiellement pourries ont montré un niveau de contamination de 0,3 à 0,74 µg/kg bien que les fèves issues de cosques saines aient une teneur en OTA de 0,22 à 0,37 µg/kg (Figure 5). Les résultats montrent que le développement de l'OTA est nettement plus élevé dans les fèves provenant des cosques endommagées que dans les fèves issus de cosques saines et cela confirme les résultats reportés par la Bastide (Bastide et al 2006).

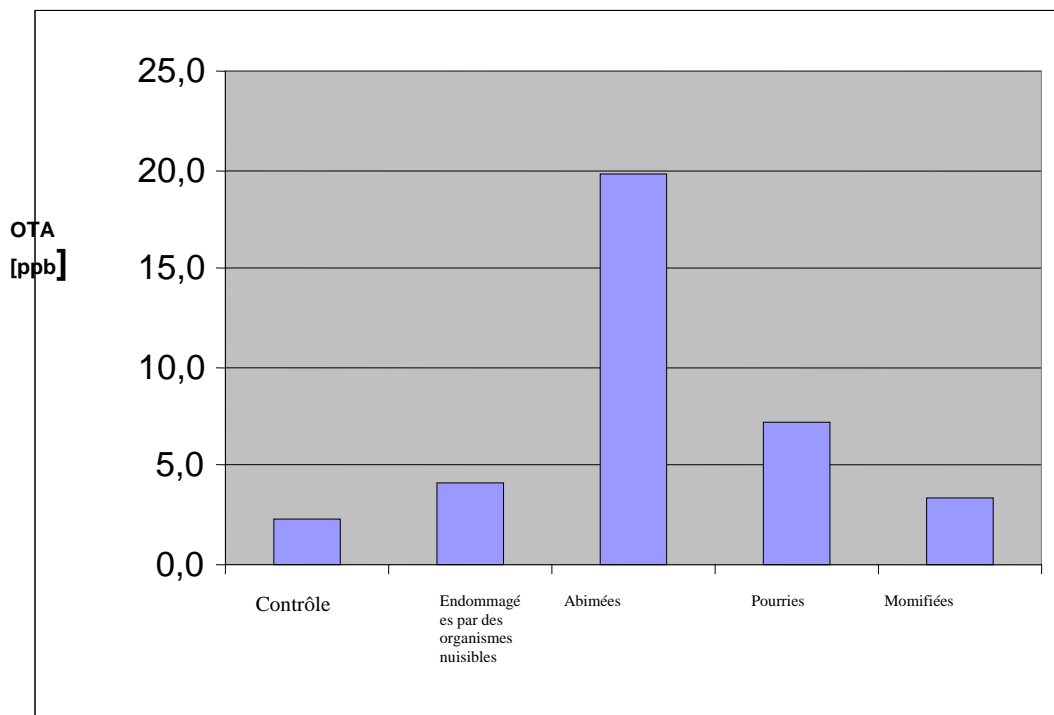


Figure 5. Effet de la condition phytosanitaire des cosques de cacao sur les niveaux d'OTA trouvés dans les fèves de cacao sèches (Bastide et al, 2006)

61. Sur les 37 échantillons prélevés dans les piles de fermentation, les fèves en cours de séchage, les tapis de séchage, les feuilles de plantain et l'air, une seule productrice d'OTA *A. niger* a été détectée. Par ailleurs, dans les échantillons de fèves de cacao testées positives à l'OTA prélevés pendant le séchage et l'entreposage, une seule productrice d'OTA, *A. carbonarius* a été détectée. Ces travaux sommaires sur la mycoflore des fèves de cacao et le milieu de l'exploitation a montré que les champignons capables de produire l'OTA étaient présents dans les échantillons de fèves et dans le milieu et le matériel agricole (COCOQUAL, 2007).
62. Les études basées sur les publications concernant le cacao ont montré que *A. ochraceus* et les autres moisissures pouvant être extraites du cacao, par ex., *A. carbonarius*, *A. niger*, *A. tubingensis*, ont le potentiel de développer et de produire l'OTA. La production d'OTA dépend fortement des facteurs environnementaux comme la température, le pH et l'activité de l'eau du substrat. Par exemple, pour une activité de l'eau à 0,97, la biosynthèse de l'OTA est optimale. Par exemple, les producteurs modèles d'OTA, *A. niger* BFE 632 enregistrent la production la plus élevée à 30°C sur du malt-agar gélosé alors que *A. carbonarius* BFE 640 produit davantage d'OTA sur le cacao gélosé à 25°C (COCOQUAL, 2007).

INGESTION ALIMENTAIRE

63. Le groupe scientifique sur les contaminants de la chaîne alimentaire de l'AESA a évalué les niveaux actuels de l'exposition à l'OTA dans les États membres de l'Union européenne se situant entre 15 à 60 ng/pc/semaine (5^{ème} RTD Structure du projet du programme d'évaluation des risques d'OTA– QLK1-2001-01614). Ce taux d'exposition est inférieur à la dose hebdomadaire tolérable de 120 ng/kg de poids corporel, calculée par le groupe scientifique. Cependant, comme les bases de données actuelles de l'AESA n'incluent pas les nourrissons ni les enfants, le groupe scientifique a conclu que davantage de données seraient nécessaires pour évaluer les taux d'exposition de ce segment de consommateurs, et de ceux qui consomment des quantités larges de certaines spécialités alimentaires régionales contenant de l'OTA (EFSA, 2006).
64. Le rapport de la coopération scientifique SCOOP Task 3.2.2 a présenté des données indiquant qu'une consommation quotidienne de cacao de 31 g/jour/personne correspond à une ingestion d'OTA de 21 ng/kg/semaine/personne. La consommation des céréales a contribué pour 55% à l'ingestion totale. Ce rapport a aussi signalé que cette quantité de cacao contribue à 5% de l'ingestion totale d'OTA en comparaison avec les céréales qui contribuent à un total de 55%. Dans l'étude complémentaire effectuée par SCOOP Task 3.2.7 (Miraglia et Brera, 2002) ont confirmé que les céréales sont toujours la source principale de la contribution de l'OTA à l'ingestion totale.

65. Pour estimer l'exposition alimentaire à l'OTA, le Département de l'alimentation et de l'hygiène environnementale (FEHD, 2006) de Hong Kong a effectué une étude en février 2006 qui couvrait 8 groupes alimentaires majeurs y compris le chocolat et les produits cacaotés. L'exposition alimentaire à l'OTA était respectivement de 4 et de 9 ng/kg de poids corporel/semaine pour le lycéen moyen et la personne dont la consommation est supérieure à la moyenne. La source alimentaire principale de l'OTA était les céréales et les produits céréaliers (61% de l'exposition totale), les chocolats contribuant pour 6% à l'exposition alimentaire totale.
66. Aux Pays-Bas, la moyenne d'ingestion d'OTA a été estimée être de 1,0 ng/kg pc/jour, dont 5% issu de la consommation des produits au cacao et de plus de 50% issu de la consommation de céréales. D'autres contributeurs comprennent le café, le vin rouge et la viande (Baker et Pieters, 2002).
67. Au Canada, l'exposition estimée à l'OTA se situait dans une fourchette de 1,15-1,76 ng/kg pc/jour pour les adultes et de 2,6-4,38 ng/kg pc/jour pour les enfants, avec des céréales et des aliments à base de céréales qui constituaient les contributeurs principaux à l'exposition. Les expositions à l'OTA résultant du cacao et du chocolat n'étaient pas incluses dans l'évaluation (Kuiper-Goodman et al., 2010).
68. En Italie, l'ingestion hebdomadaire la plus élevée d'OTA se référait à la consommation d'œufs de Pâques par les enfants (groupe âgé de 0-10 ans) (Brera et al., 2010). En partant du principe que les produits à base de cacao et de chocolat représentent 4% de la diète (Miraglia et Brera, 2002), l'ingestion estimée était de 4,8 ng/kg pc/jour, plus basse que la dose hebdomadaire tolérable provisoire (PTWI) établie par l'EFSA (120 ng/kg pc/semaine).
69. En Espagne, l'ingestion quotidienne estimée d'OTA à travers la consommation de chocolat et de produits au cacao (consommation moyenne de 8,6 g, 60 kg pc) était de 0,036 ng/kg pc/jour, qui représente 0,26% de la dose quotidienne tolérable provisoire (PTDI) établie par JECFA (Burdaspal et Legarda, 2003).

SITUATION RÉGLEMENTAIRE

70. Dans l'Union européenne, le règlement de la Commission CE No. 1881/2006 (Commission Régulation 401/2006, 2006), a établi des niveaux maximaux pour l'OTA dans les céréales brutes, tous les produits dérivés des céréales et des fruits de la vigne séchés (raisins secs et sultanas), le café torréfié, le café soluble, le vin, le jus de raisin, les aliments de l'enfance, les aliments transformés à base de céréales pour les nourrissons et les enfants en bas âge et les aliments diététiques ou à des fins médicales spéciales destinées spécifiquement aux nourrissons. Certains des niveaux maximaux sont déjà en vigueur depuis avril 2002 et d'autres depuis avril 2005.
71. La Communauté européenne (Règlement de la Commission 105/2010) a affirmé que « Sur la base des informations disponibles, il n'apparaît pas nécessaire pour la protection de la santé publique d'établir un niveau maximal d'OTA dans les fruits secs autres que les raisins secs, le cacao et les produits à base de cacao, les produits à base de viande y compris les abats comestibles et les produits sanguins et les vins de liqueur puisqu'ils ne constituent pas des contributeurs significatifs à l'exposition à l'OTA et des niveaux élevés d'OTA ont été rarement trouvés dans ces denrées alimentaires. Dans le cas du café vert et de la bière, la présence de l'OTA est déjà contrôlée à une autre étape plus appropriée de la chaîne de production (respectivement le café torréfié et malt) ».
72. En 2003 Le Ministère italien de la Santé, réclamant un principe de précaution, établit une limite légale pour le cacao en poudre et les produits au chocolat estimant qu'il n'y avait pas suffisamment de données d'exposition valables pour ne pas considérer l'OTA comme constituant un risque pour la population. Des limites légales pour l'OTA dans le cacao (2,0 µg/kg) et les produits au chocolat (0,5 µg/kg) ont été établies. Sur la base de l'évaluation des risques effectuée dans Brera et al. (2010), qui n'a pas montré d'inquiétudes relatives à la santé et pour s'aligner sur la réglementation EU, le Conseil supérieur italien de la santé a décidé de retirer la limite légale italienne pour l'OTA dans les produits à base de cacao et de chocolat.
73. Le Brésil a établi un niveau maximal de 5 µg/kg pour l'OTA dans les produits au cacao y compris le chocolat (ANVISA Resolução nº7/2011).
74. Health Canada est actuellement dans le processus de proposer des limites maximales pour l'OTA dans une variété de denrées alimentaires par suite de l'évaluation conduite sur les risques sanitaires (Turcotte et Scott, 2010). Actuellement, les limites maximales pour l'OTA dans le cacao ne sont pas examinées.
75. Le secrétariat américain aux produits alimentaires et pharmaceutiques (FDA) des États-Unis n'a pas fixé de limite consultative ni de seuil d'intervention concernant l'ochratoxine A dans aucune denrée.

PRÉVENTION ET RÉDUCTION DE L'OTA DANS LE CACAO

76. L'industrie européenne du chocolat et du cacao ainsi que les pays producteurs ont entrepris des études visant à cerner les sources de contamination de l'OTA et à adapter des mesures correctives.
77. Les études récentes menées par l'industrie européenne du chocolat et du cacao dans certains pays producteurs ont montré que l'OTA est présente dans les fèves de la plupart des pays producteurs et que les pratiques utilisées pendant les premières étapes de la transformation dans l'exploitation cacaoyère sont critiques. Par conséquent, cela signifie que les interventions devront agir au niveau de l'exploitation pour que la réduction de la contamination par l'OTA soit significative. (Gilmour et Lindblom, 2008). Les actions préventives pourraient inclure la ségrégation des cosses abimées, le contrôle de la fermentation et des processus du séchage.

78. Une étude conduite dans les petites exploitations en Côte d'Ivoire et au Togo laisse entendre que l'OTA est liée aux pratiques de transformation après récolte comme les cabosses défectueuses et aux conditions climatiques liées au mois de récolte. (Bastide et al., 2006).
79. Coppetti et al. (2010) ont évalué les niveaux d'OTA Durant la transformation du cacao dans la ferme et a conclu que l'étape du séchage est le point critique
80. Certain système de gestion de la qualité existe concernant la transformation primaire du cacao. Dahl (2006), dans le cadre du projet Cocoqual financé par l'Union européenne, a développé un système de gestion de la qualité basé sur ISO 22000 pour la transformation primaire du cacao dans le but d'assurer une bonne qualité du cacao y compris la prévention de la formation de l'OTA.
81. La découverte d'une bactérie de l'acide lactique qui inhibe la croissance des moisissures ochratoxigéniques a des conséquences profondes sur la sécurité sanitaire des aliments en permettant de prévenir l'OTA dans le cacao. Cette découverte peut éventuellement être exploitée dans le développement futur des cultures nécessaires à la fermentation du cacao (COCOQUAL, 2007).
82. La présence de l'acide lactique, acétique et citrique a été décrit durant la fermentation du cacao (Petithuguenin, 2002; Jinap and Dimick 1990). Il a été vérifié qu'ils avaient un effet d'inhibition sur la croissance des fongiques ochratoxigéniques et la production en ochratoxine A (Coppetti et al, 2011b). Ces auteurs ont évalué la croissance *A. carbonarius* and *A. niger* et la production d'ochratoxine A dans le milieu de culture par ces trois acides organiques dans sa formulation et a conclu que l'acide acétique était le plus inhibiteur contre les deux espèces, également sur la production d'OTA. Les auteurs ont recommandé également la pratique de la fermentation pour prévenir l'ochratoxine A suite à la présence d'acide acétique.
83. Des données indiquent que les composés phénoliques antioxydants, l'acide gallique, l'acide vanillique, l'acide 4-hydroxybenzoïque, la catéchine, l'acide caféique (certains d'entre eux étant présents dans les fèves de cacao), inhibent généralement la production et la prolifération de l'OTA chez plusieurs espèces *Aspergillus* ochratoxigéniques. L'effet de chacun de ces composés sur la production et la prolifération de l'OTA diffère selon les souches et est généralement variable, ce qui donne à penser que la production et la réponse aux composés phénoliques de l'OTA spécifique d'espèce subissent l'influence de différents facteurs écologiques et environnementaux. L'information concernant les réponses génétiques et physiologiques aux composés antioxydants pourrait permettre d'élaborer des stratégies d'intervention ciblée sur la réduction des pertes économiques due à la contamination par l'OTA (Palumbo et al, 2007).
84. Les huiles essentielles de l'*Aframomum danielli* ont montré qu'elles réduisaient les niveaux d'OTA dans la poudre au cacao enrichie avec une réduction de l'efficacité de 64 – 95% (Aroyeun et Adegoke, 2007). La pertinence de ce travail est d'examiner la probabilité de l'emploi de l'A. danielli comme une étape dans des procédures destinées à la réduction de l'OTA dans des échantillons contaminés grossièrement.
85. Soixante-cinq bactéries lactiques d'isolats d'origine de cacao étaient testées en utilisant une méthode d'observation à distance pour leur capacité à inhiber la croissance de 12 OTA produisant des moisissures. Les souches les plus testées de *L. fermentum* et *L. plantarium* ont inhibé la croissance de moisissure (COCOQUAL, 2007).
86. Une partie majeure de l'OTA originairement présent dans les fèves de cacao est trouvé dans la fraction de la coque qui est retirée durant la transformation. D'autres étapes de la transformation issue des fèves de cacao aux produits finis ne conduit pas au retrait ou à la destruction/dégradation de l'OTA. Par conséquent, un processus de décorticage bien contrôlé pourrait réaliser une réduction très importante des niveaux d'OTA dans les produits dérivés du cacao (Amézqueta et al., 2005). La description de la norme Codex pour la pâte de cacao ou la liqueur de cacao/chocolat est le produit obtenu de la graine de cacao qui est obtenue des fèves de cacao de qualité marchande qui ont été nettoyées et libérées de coques aussi minutieusement que cela est techniquement possible (Codex Stan, 2001).

CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS

87. Le présent document de travail sur l'OTA dans le cacao mène aux conclusions et recommandations larges suivantes pour examen lors de la sixième session du Comité du Codex sur les contaminants dans les aliments.
 - a) Le CCCF peut examiner le démarrage d'une nouvelle activité pour le développement d'un code d'usages pour la prévention et la réduction de l'OTA dans le cacao. Le CCCF peut examiner l'avant projet de document comme présenté dans l'Annexe I pour soumission à la 35^{ème} session de la Commission, à travers la révision critique par le Comité exécutif pour approbation d'une nouvelle activité.
 - b) Ce code, soumis à l'approbation d'une nouvelle activité par la Commission, devrait être développé le long de lignes similaires à celles du code d'usages pour la prévention et la réduction de l'Ochratoxine A contamination dans le café (CAC/RCP 69-2009). Les grandes lignes proposées du Code présenté dans l'Annexe II à ce document de discussion peut également être utilisé en tant que base.
 - c) La nécessité de l'établissement d'un niveau maximal pour l'OTA dans le cacao devrait être évaluée après le développement et l'implantation du code d'usages et devrait examiner:

- (i) Les différences importantes entre le niveau de l'OTA dans les coques, les fèves non torréfiées, les fèves torréfiées, le chocolat & amandes décortiquées torréfiées contenant des additifs issus du traitement industriel.
- (ii) L'implantation d'un code d'usages par tous les pays producteurs.
- (iii) La nécessité d'obtenir des données fiables sur l'exposition à un niveau mondial

REFERENCES

- Abrokwa F., and Sackey S. T., (2010). Studies on conditions that predispose cocoa to ochratoxin A contamination. MPhil Thesis, University of Ghana, Legon
- ADM Cocoa, (1999). The De Zaan Cocoa Products Manual: an ADM Publication on Cocoa Liquor, Cocoa Butter, Cocoa Powder, Koogan de Zaan, Netherlands: ADM Cocoa B.V.
- Amezqueta, S., Gonzalez-Penas, E., Murillo, M., & Lopez de Cerfin, A. (2005). Occurrence of ochratoxin A in cocoa beans: effect of shelling. *Food Additives and Contam.* 22: 590-595
- Amezqueta, S., Gonzalez-Penas, E., Murillo, M., & Lopez de Cerfin, A. (2004). Validation of a high performance liquid chromatography analytical method for ochratoxin A quantification in cocoa beans. *Food Additives and Contam.* 21:1096-1106
- ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 7, de 18 de fevereiro de 2011, de Dispõe sobre limites máximos tolerados (LMT) de micotoxinas em alimentos. D.O.U de 09/03/2011.
- Appiah V. (2001). The Use of ionizing radiation from ⁶⁰Co gamma source in controlling moldiness in dry cocoa. PhD Thesis, University of Ghana, Legon.
- Aroyeun, S. O. and Adegoke, G. O. (2007). Reduction of ochratoxin A in spiked cocoa powder and beverage using aqueous extracts and essential oils of *Aframomum daniellii*. *African J. Biotechnol.* 6: 612 – 616
- Bakker, M., Pieters, M. N. (2002). Risk assessment of ochratoxin A in the Netherlands. RIVM report 388802025/2002
- Bastide, P., Fourny, G., Durand, N., Petithuguenin, P., Guyot, B., Gilmour, M and Lindblom, M (2006). Identification of Ochratoxin A sources during cocoa post-harvest processing: influence of harvest quality and climatic factors. 15th Intl. Cocoa Res. Conf., San Jose, Costa Rica, 9-17 October 2006
- Bonvehí, S. J. (2004). Occurrence of ochratoxin A in cocoa products and chocolate. *J. Agric. Food Chem.* 52: 6347-6352
- Boorman, G. A. (1989). Toxicology and carcinogenesis studies of ochratoxin A in F344/N rats. NTP Technical Report NTP TR 358
- Boudra, H., Le Bars, P, and Le Bars, J. (1995). Thermostability of Ochratoxin A in wheat under two moisture conditions. *Appl. Environ. Microbiol.* 61:1156-1159
- Brera, C., Grossi, S., De Santis, B. and Miraglia, M (2003). High performance liquid chromatographic method for the determination of ochratoxin A in cocoa powder. *J. Liq. Chromatog. Related Technologies* 26: 585-598
- Brera, C., Grossi, S., Miraglia, M (2005). Interlaboratory study for ochratoxin A determination in cocoa powder samples. *J. Liq. Chromatog. Related Technologies* 28: 35 – 61
- Brera, C., Grossi, S., Debegnach, F., De Santis, B., Minardi, V., Miraglia, M (2006). Proficiency testing as a tool for implementing internal quality control: the case of ochratoxin A in cocoa powder. *Accred. Qual. Assur.* 11: 349-355
- Brera, C., Iafate, I., Debegnach, F., De Santis, B., Pannunzi, E., Berdini, C., Prantera, E., Gregori, E., Miraglia, M. (2011). Ochratoxin A in cocoa and chocolate products from the Italian market: occurrence and exposure assessment, 22, 1663-1667.
- Burdaspal, P. A., and Legarda, T. M. (2003). Ochratoxin A in samples of different types of chocolate and cacao powder, marketed in Spain and fifteen foreign countries. *Alimentaria* 347: 143-153
- CAOBISCO/ECA/FCC (2003). Joint CAOBISCO/ECA/FCC updated position on ochratoxin A in cocoa and chocolate products. CAOBISCO/ECA/FCC 725: 1-752: 1-6
- Camu, N., De Winter, T., Verbrugghe, K., Cleenwerck I., Vandamme, P., Takrama J.
- S., Vancanneyt, M., and De Vuyst L (2007). Dynamics and biodiversity of populations of lactic acid bacteria and acetic acid bacteria involved in spontaneous heap fermentation of cocoa beans in Ghana. *Appl. Environ. Microbiol.*, 73(6): 1809-1824.
- COCOQUAL(2007). Developing biochemical and molecular markers as indices for improving quality assurance in the primary processing of cocoa in West Africa. Final Report. Analysis of the mycological status of cocoa beans with emphasis on ochratoxigenic fungi. Project No.ICA4-CT-2002-10040 (EU 5th FP INCO-DEV Project) http://cordis.europa.eu/data/PROJ_FP5
- Codex Alimentarius Commission (1998). Position paper on ochratoxin A. FAO/WHO, Rome, Italy. http://www.who.int/fsf/chemicalcontaminants/ochratoxinpp99_14.pdf
- CODEX STAN 141-1983, Rev. 1-2001 Standard for Cocoa (Cocoa) Mass (Cocoa/Chocolate Liquor) and Cocoa Cake.
- Commission Regulation (EC) No. 401/2006 (23 February 2006). Laying down the methods of sampling and analysis for the official control of the levels of mycotoxins in foodstuffs. Official Journal of the European Union L70/12
- Commission Regulation No. 1881/2006 (19 December 2006). Setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. Official Journal of the European Union, L 364/4-364/24.
- Commission Regulation (EC) No. 105/2010 (5 February 2010). Amending Regulation (EC) No 1881/2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs as regards ochratoxin A. Official Journal of European Union, L 35/7.
- Copetti, M.V. (2009). Micobiota do cacau: Fungos e Micotoxinas do cacau ao chocolate. PhD. Thesis, Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP.
- Copetti, M.V; Pereira, J.L.; Iamanaka, B.T.; Pitt, J.I; Taniwaki, M.H. (2010). Ochratoxigenic fungi and ochratoxin A in cocoa during farm processing. *Intl. J. Food Microbiol.* 143: 67-70.

- Copetti, M. V.; Iamanaka, B. T.; Pereira, J. L. Lemes, D. P.; Nakano, F. N.; Taniwaki, M. H. Co-occurrence of ochratoxin A and aflatoxins in chocolate marketed in Brazil. Food Control. (submitted 2011)
- Copetti, M. V.; Iamanaka, B. T.; Frisvad, G. C.; Pereira, J. L.; Taniwaki, M. H. The effect of cocoa fermentation 1 and weak organic acids on ochratoxigenic fungal growth and ochratoxin A production, Intl. J. Food Microbiol. (submitted, 2011b)
- Dahl, M. W. (2006). Development of a management system for the primary processing of cocoa – based on quality and food safety. MSc. Thesis, The Royal Veterinary and Agricultural University, Dept of Diary and Food Science, Frederiksberg, Denmark.
- Dembele, A., Coulibaly, A.; Traoré, S.K.; Mamadou, K.; Silue, N.; Abba Touré, A. (2009). Détermination du niveau de contamination de l'ochratoxine A (OTA) dans les fèves de cacao à l'exportation. Tropicultura, 27: 1, 26-30.
- DNFCS database, Risk Assessment of Ochratoxin A in the Netherlands, M. Bakker, M.N. Pieters.
- Dongo, L., Bandyopadhyay, R., Kumar, M. and Ojiambo, P. S. (2008) Occurrence of ochratoxin A in Nigerian ready for sale cocoa beans. Agricultural J. 3: 4 – 9.
- European Food Safety Authority-EFSA (2006). Opinion of the Scientific Panel on contaminants in the Food Chain of the EFSA on a request from the Commission related to ochratoxin A in food.(4 April 2006).
http://www.efsa.europa.eu/etc/medialib/efsa/science/contam/contam_opinions/1521.Par.0001.File.dat/contam_op_ej365_ochratoxin_a_food_en1.pdf
- European Food Safety Authority-EFSA (2010). Statement on recent scientific information on the toxicity of Ochratoxin A. (4 June 2010).
<http://www.efsa.europa.eu/en/scdocs/doc/1626.pdf>
- FAO/WHO/UNEP (1999). Mycotoxin prevention and decontamination. Corn: a case study. Third Joint FAO/WHO/UNEP Intl. Conf. Mycotoxins 6b: 2-11
- FEHD Report (2006). LegCo Panel (9 May 2006). LegCo Panel on Food Safety and Environmental Hygiene (Hong Kong).
<http://www.legco.gov.hk/yr05-06/english/panels/fseh/paper/fe0509cb2-1905-04-e.pdf>
- Gilmour, M and Lindblom, M (2008). Management of Ochratoxin A in the Cocoa Supply Chain: A Summary of Work by the CAOBISCO/ECA/FCC Working Group: Mycotoxins: Detection methods, Management, Public Health and Agricultural Trade, CAB International.
- Guehi, S. T, Dabonne S., Ban-koffi L., Kedjebo D. K and Zahouli G. I. B. (2010). Effect of Turning Beans and Fermentation Method on the Acidity and Physical Quality of Raw Cocoa Beans Advance Journal of Food Science and Technology 293): 163-171.
- Hii, C. L., Law, C. L., and Cloke M. (2009). Modeling using a new thin layer drying model and product quality of cocoa. Journal of Food Engineering 90, 191–198
- ICCO (2007). Production of Cocoa Beans. Quarterly Bulletin of Cocoa Statistics. <http://www.icco.org/statistics/production.aspx> (posted 22 October 2007).
- International Agency for Research on Cancer (IARC) (1993). IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans; IARC Working Group, WHO: Lyon, France, vol. 56
- JECFA (1995). Evaluation of certain food additives and contaminants. Forty-fourth Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. WHO Technical Report Series No. 859, 1995
- JECFA (2001). Safety evaluation of certain mycotoxins in Food. Fifty-sixth Meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. WHO Food Additives Series 47 – FAO Food and Nutrition Paper –IPCS- International Programme on Chemical Safety, WHO, Geneva, 2001
- JECFA (2007). JECFA/68/SC. Summary and Conclusions. Geneva, 19-28 June 2007, 18p.
- JINAP, S., DIMICK, P. S. (1990). Acidic characteristic of fermented and dried cocoa beans
430 from different countries of origin. Journal of Food Science 55, 547-550
- Lobeau, M., De Saeger, S., Sibanda, L., Barna-Vetro, I. and Van Peterghem, C. (2007). Application and validation of a clean-up tandem assay column for screening ochratoxin A in cocoa powder. Food Additives and Contaminants 24: 398 – 405.
- MAFF (1999). Ministry of Agriculture and Fisheries and Food. Survey of Aflatoxins and ochratoxin A in cereals and retail product. Food Surveillance information Sheet No.130. <http://archive.food.gov.uk/maff/food/infsheet/1999/no185/185ochra.htm>
- MHLW (2006). Ministry of Health, Labour&Welfare, Japan.OTA contamination in retail chocolate in Japan in 2005
- Minifie, B. W. (1982). In B. W. Minifie (ed), Chocolate, cocoa an confectionery: Science and Technology, 2nd ed. AVI Publishing Company, Westport, Connecticut.
- Miraglia, M., Brera, C. (2002). Assessment of dietary intake of ochratoxin A by the population of EU member states, Reports on tasks for scientific cooperation, task 3.2.7., 69-86. Publisher: SCOOP Directorate-General Health and Consumer Protection.
http://ec.europa.eu/food/fs/scoop/3.2.7_en.pdf
- Mounjouenpou, P., Gueule, D., Fontana-Tachon, A., Guyot, B. Tondje, P. R. and Guiraud, J-P (2008). Filamentous fungi producing ochratoxin a during cocoa processing in Cameroon. International Journal of Food Microbiology 121: 234-241.
- Murphy P. A., Hendrich, S., Landgren, C., Bryant, C. M.(2006) Food Mycotoxins: An Update. J. Food Sci. 71: R51 – R65
- O'Brien, E., Dietrich, D. R. (2005). Ochratoxin A: The continuing enigma. Crit. Rev. Toxicol. 35: 33-60
- Palumbo, J. D., O'Keeffe and Mahoney, N. E. (2007) Inhibition of ochratoxin A production and growth of *Aspergillus* species by phenolic antioxidant compounds. Mycopathologia 164: 241 – 248

- Petithuguenin, P. (2002). Causes and development of ochratoxin A on cocoa beans: Results of a research project conducted in 2001-2002 in Côte d'Ivoire. International ZDS Symposium.
- Pittet, A., Royer, D. (2002). Rapid, low cost thin-layer chromatographic screening method for the detection of ochratoxin A in green coffee at a control level of 10 ug/kg. J. Agric. Food Chem. 50: 243-247
- Ratters M., and Matissek R., (2006). No OTA in fresh cocoa beans. Mycotoxin Research Vol. 23, No. 2
- Sangare-Tigori, B., Moukha, S., Kouadio, J. H., Dano, D. S., Betbeder, A. M., Achour, A. and Creppy, E. E. (2006). Ochratoxin A in human blood in Abidjan, Cote d'Ivoire. Toxicon. 47: 894 – 900.
- Schwartz, G. G. (2002). Hypothesis: Does ochratoxin A cause testicular cancer? Cancer Causes Control 13: 91-100
- Scott, P.M. (1996). Effects of processing and detoxification treatments on Ochratoxin A. In: C.P.Kurtzman and J.W. Fell: Food Additives and Contaminants. Fourth edition. Elsevier, Amsterdam. pp.214-220.
- Spanjer, M. C., Scholten, J. M., Kastrup, S., Jorissen, U., Schatzki, T. F. and Toyofuku, N. (2006). Sample comminution for mycotoxin analysis: Dry milling or slurry mixing? Food Additives and Contaminants 23: 73 – 83.
- Stander, M.A., Steyn, P.S., van der Westhuizen, F.H. and Payne, B.E. (2001). A kinetic study into the hydrolysis of the ochratoxins and analogues by carboxypeptidase A. Chemical research in Toxicology, 14: 302-304.
- Tafari, A., Ferracane, R. and Ritieni, A. (2004). Ochratoxin A in Italian marketed cocoa products. Food Chem. 88:487-494
- Tsubouchi, H., Terada, H., Yamamoto, K., Hisada, K. and Sakabe, Y. (1995). Caffeine degradation and increased ochratoxin production by toxigenic strains of *Aspergillus ochraceus* isolated from green coffee beans. Mycopathologia, 90: 181 – 186
- Turcotte, A.M. and Scott, P.M. (2011). Ochratoxin A in cocoa and chocolate sampled in Canada. Food Additives and Contaminants, 28(6), 762-766
- Vecchio, A. and Finoli, C. (2007). Ochratoxin A in cocoa products. Industrie Alimentari, 46:1015-1020.
- Vinkx C., 2007 (Personal communication)
- Zahouli G.I.B., Guehi S. T., Fae A. M., Ban-Koffi L., and Nemlin J. G. (2010). Effect of drying on the chemical quality traits of cocoa raw materials. Advance Journal of Food Science and Technology 2(4): 184-190.

DOCUMENT DE PROJET

PROPOSITION POUR UN « CODE D'USAGE POUR LA PREVENTION ET LA REDUCTION DE LA CONTAMINATION PAR L'OCRATOXINE A DU CACAO »

1. But et objectif de la nouvelle activité

Le but de la nouvelle activité proposée est de fournir aux pays-membres et à l'industrie du cacao une directive pour prévenir et réduire la contamination par l'ochratoxine A (OTA) du cacao. Le champ de la nouvelle activité comprend le développement d'un projet de code d'usages pour la prévention et la réduction de la contamination par l'OTA du cacao, qui couvrira toutes les étapes de la chaîne du cacao. Il a été anticipé que cette nouvelle activité serait entreprise en se basant sur les directives de la FAO pour la prévention de la formation de moisissure dans le café et en accord avec le code d'usage actuel élaboré pour le café.

2. Pertinence et opportunité

La toxicité de l'OTA a été révisée par l'Agence Internationale de recherche sur le cancer (IARC), qui a classifié l'OTA comme un cancérigène humain possible (groupe 2B), et par le Comité mixte d'experts FAO/OMS sur les additifs alimentaires (JECFA).

L'ochratoxine A est une mycotoxine qui apparaît naturellement à un niveau mondial dans les produits alimentaires y compris les fèves de cacao et les produits au cacao. Dans le cacao, l'OTA est souvent associé à des coques de fèves de cacao et les cacaos dégraissés solides (poudre de cacao). Les fèves de cacao ne sont pas mangées telles quelles; elles sont soumises à une conversion industrielle dans les produits au cacao avant consommation. Les produits au cacao constituent des ingrédients très importants dans les produits pharmaceutiques, les gâteaux, les biscuits et confiserie au chocolat. Environ 71% de l'approvisionnement mondial de fèves de cacao provient de l'Afrique de l'Ouest. Les fèves de cacao sont également produites en Asie et en Amérique latine. En étant une culture produite par les petits exploitants agricoles, le cacao est une culture de grande valeur contante pour des centaines de milliers de fermiers dans les pays producteurs de cacao et c'est également d'une grande importance pour les économies de ces pays.

La manière la plus efficace d'empêcher et de réduire l'OTA dans les fèves de cacao est l'emploi de bonnes pratiques agricoles (BPA) le long de la chaîne de valeur du cacao.

3. Aspects majeurs à couvrir

La nouvelle activité proposée se concentrera sur les bonnes pratiques qui contrôleront l'infection du cacao avec l'OTA produisant des fongiques, la croissance des fongiques et la production d'OTA. Le code couvrira toutes les étapes de la chaîne de valeur du cacao (pré-récolte, transformation primaire, entreposage et pratiques de transport) pour développer des stratégies afin de prévenir et de réduire la contamination par l'OTA du cacao.

4. Détermination contre les critères pour l'établissement des priorités du travail

- a) *Protection du consommateur d'un point de vue sanitaire, de la sécurité alimentaire assurant des pratiques équitables dans le commerce alimentaire et prenant en compte les besoins identifiés des pays en voie de développement.*

Le code fournira des directives additionnelles pour les pays afin d'améliorer la qualité du cacao, de prévenir et de réduire la contamination par l'OTA et conséquemment pour minimiser l'exposition diététique du consommateur à l'OTA issus des produits au cacao.

- b) *Diversification des législations nationales et résultat apparent ou empêchements potentiels au commerce international.*

Le code fournirait des directives internationalement reconnues afin d'améliorer la valorisation du commerce international.

- c) *Activité déjà entreprise par d'autres organisations dans ce domaine*

Il n'y a pas beaucoup de travail qui a été effectué par d'autres organisations internationales sur l'OTA dans le cacao; toutefois, le FAO a produit des directives sur la prévention de la formation de moisissure dans le café. Le Codex a également développé le code d'usages pour la prévention et la réduction de la contamination par l'Ochratoxine A dans le café (CAC/RCP 69-2009).

5. Pertinence par rapport aux objectifs stratégiques du Codex

Le travail proposé fait partie des cinq buts stratégiques du Codex:

Objectif 1: Promotion de cadres réglementaires solides

Le résultat de cette activité aidera à promouvoir le cadre réglementaire solide dans le commerce international en utilisant la connaissance scientifique et l'expérience pratique pour la prévention et la réduction de la contamination par l'OTA dans le cacao.

Cette activité harmonisera les procédures pour les pays en voie de développement et développés en vue de promouvoir l'application maximale des normes Codex pour un commerce équitable.

Objectif 2: Promotion la plus large et régulière possible de l'application des principes scientifique et analyse des risques.

Cette activité aidera à établir les options de gestion des risques et les stratégies pour contrôler l'OTA dans le cacao.

Objectif 3: Renforcement des capacités de gestion du Codex

En établissant un cadre général pour la gestion des risques de sécurité alimentaire associé à la prévention et la réduction de la contamination du cacao par l'OTA fournira un document général qui pourra être référencé par le CCCF et il peut être utilisé par de nombreux pays

Objectif 4: Promouvoir la coopération entre les liens sans heurts entre le Codex et les autres organismes multilatéraux.

The involvement of FAO in Codex activities has already formed a close link and the work developed by FAO on this issue will be the base of this new Codex work

Objectif 5: Promouvoir une application maximale des normes Codex

Suite à la nature internationale de ce problème, cette activité soutiendra et embrassera tous les aspects de cet objectif en requérant la participation à la fois des pays en voie de développement et développés pour conduire cette activité.

6. Information sur la relation entre la proposition et d'autres documents Codex existants.

Cette nouvelle activité est recommandée dans le document de discussion sur l'OTA dans le cacao présenté et débattu lors de la 6^{ème} session du Comité du Codex sur les contaminants dans les aliments.

7. Identification de quelque exigence que ce soit et disponibilité du conseil scientifique expert;

Un conseil scientifique additionnel n'est pas nécessaire actuellement, puisque la FAO a déjà publié des directives pour les directives pour la prévention de la formation de moisissure dans le café. La formation de moisissure dans le café et le cacao est causée par des mycoflores similaires.

8. Identification de tout besoin pour un apport technique à la norme des organismes externes

Actuellement, il n'existe pas le besoin d'apport technique additionnel issu d'organismes externes

9. La durée proposée pour l'achèvement de cette nouvelle tâche, y compris la date de départ, la date proposée pour adoption à l'étape 5, et la date proposée pour adoption par la commission; La période de temps pour le développement d'une norme ne devrait pas normalement excéder les cinq ans.

Si la commission l'approuve, le projet de code d'usages sera distribué pour observations à l'étape 3 et examen pour la 7^{ème} session du CCCF à l'étape 4 en 2013. L'adoption à l'étape 5 par la commission est planifiée pour 2013 et l'adoption à l'étape 8 par la Commission peut être prévue en 2014.

AVANT-PROJET DE CODE D'USAGES POUR LA PREVENTION ET LA REDUCTION DE LA CONTAMINATION PAR L' OCHRATOXIN A DANS LE CACAO OU CACAO

TABLE DES MATIERES

1. INTRODUCTION	23
2. DEFINITIONS	24
3. TRANSFORMATION DU CACAO	24
4. PRATIQUES RECOMMANDEES	25
4.1 Pré-récolte	25
4.2 Récolte	25
4.3 Entreposage et ouverture de la cosse	25
4.4 Fermentation des fèves de cacao	25
4.5 Procédé de séchage	26
4.6 Entreposage, transport et commerce des fèves de cacao sèches	26
4.7 Transport par bateau	27

1. INTRODUCTION

1. Ce document est destiné à fournir des directives à toutes les parties intéressées produisant et traitant des fèves de cacao pour la consommation humaine. Toutes les fèves de cacao devraient être préparées et traitées conformément au Code d'usages international recommandé – Principes généraux d'hygiène alimentaire⁶, qui sont pertinents pour tous les aliments préparés pour la consommation humaine. Ces codes d'usage indiquent les mesures qui devraient être implantées par toutes les personnes qui ont la responsabilité d'assurer que l'alimentation est fiable et appropriée à la consommation.
2. L'Ochratoxine A (OTA) est un métabolite fongique toxique classifié par l'agence internationale de la recherche sur le cancer en tant que cancérigène humain possible (groupe 2B). Le JECFA a établi une DHTP de 100 ng/kg poids corporel pour l'OTA. L'OTA est produit par quelques espèces dans l'*Aspergillus* et *Penicillium* général. Dans les fèves de cacao, les études ont montré que seules les espèces *Aspergillus* en particulier *A. carbonarius* et l'aggrégat *A. niger* avec des nombres de *A. westerdijkiae*, *A. ochraceus* et *A. melleus* sont impliquées. L'OTA est produit lorsque les conditions d'activité de l'eau, de la nutrition et de la température requises pour la croissance et la biosynthèse sont présentes.
3. Le fruit du cacao, dérivé de l'arbre cacao, *Theobroma cacao* L., est composé de péricarpe, tissu qui découle de la paroi ovaire à maturité d'un fruit. Lorsque le fruit est mûr, ce tissu externe, également connu comme la cosse, consistant en un matériel organique épais et dur, pourrait être utilisé en tant que composte, alimentation animale et source de potasse. L'ovaire contient de nombreuses graines encastrées dans une pulpe aqueuse, mucilagineuse et acide. Cette pulpe comestible de couleur blanc et blanc cassé est composée d'environ 12% de sucres et présente à PH bas de (3,3 – 4,0) suite à sa teneur élevée en acide citrique. La pulpe contient jusqu'à 10% de pectine. La pulpe peut être utilisée pour faire des confitures et des gelées ainsi que des boissons alcoolisées et du vinaigre.
4. L'emploi commercial principal réside dans les graines également connues comme des fèves de cacao. La fève de cacao est composée d'un épisperme ou d'un tégument, d'un germe du grain et de cotylédon. Le tégument, la couche protectrice de la graine est également appelée coquille lorsqu'elle est sèche. Durant la fermentation le germe du grain meurt et au-dessus du séchage, la teneur en graisse de la fève de cacao varie entre 34% et 56%.
5. Après une fermentation correcte et le processus de séchage, les fèves de cacao sont transformées de façon plus industrielle afin de produire divers produits au cacao commerciaux.
6. Étant donné que les fèves de cacao sont extraites d'un fruit, la contamination par des microorganismes peut apparaître et le développement de champignons produisant de l'OTA pourrait apparaître lorsque les conditions deviennent appropriées pour la croissance. En général, la fermentation et le processus de séchage pourraient créer cette condition favorable lorsque ces processus ne sont pas effectués correctement.
7. Il est important d'insister sur le fait que les prochaines étapes de fabrication comprennent le retrait des coques, torréfaction, graissage et raffinage. Toutefois, c'est uniquement le retrait de la coque qui peut diminuer de façon importante les niveaux d'OTA. Bien que ce code d'usages se concentre sur la réduction et la prévention de la contamination par l'OTA des fèves de cacao, il est recommandé que les exploitants fermiers et de l'industrie alimentaire établissent des programmes spécifiques relatés à la sécurité alimentaire rattachés à ces procédés afin de réduire le niveau d'OTA dans les produits au cacao transformés pour la consommation humaine.

⁶ Code d'usage international recommandé- Principes généraux d'hygiène alimentaire (CAC/RCP 1- 1969, Rev. 4-2003)

2. DEFINITIONS

Parties du fruit du cacao (figure 1)

Fève de cacao: la graine du fruit du cacao est composé d'un épisperme (tégument), germe de grain et cotylédon.

Cosse de cacao: le péricarpe de fruit de cacao qui découle de la paroi ovaire à maturité.

Episperme ou tégument: la couche protectrice de la graine également appelée coque lorsqu'elle est sèche.

Pulpe: substance aqueuse, mucilagineuse et acide dans laquelle les graines sont encastrées

Cacao sec: un terme commercial désignant les fèves de cacao qui ont été séchées uniformément partout et dont la teneur en humidité correspond aux exigences de cette norme.

Fève moisie: Un cacao sur les parties internes sur lesquelles de la moisissure est visible à l'œil nu.

Fève ardoisée: une fève de cacao qui montre une couleur ardoisée sur plus de la moitié de la surface exposée par la méthode décrite dans ISO/R 1114.

Fève endommagée par les insectes: une fève de cacao dont les parties internes contiennent des insectes à n'importe quelle étape du développement ou a été attaquée par les insectes qui ont causé des dommages visibles à l'œil nu.

Fève germée: une fève de cacao avec la coque percée, fendue ou cassée par la croissance du germe de la graine.

Fève plate: une fève de cacao dont les deux cotylédons sont si minces qu'il n'est pas possible d'obtenir une surface de cotylédon en coupant.

Fève à odeur de fumée: une fève de cacao qui a une odeur ou un goût fumé ou qui montre des signes de contamination par la fumée.

Fève cassée: une fève de cacao dont il manque un fragment, la partie manquante étant équivalente à moins de la moitié de la fève.

Fragment: une partie de la fève de cacao égal ou moins que la fève originale.

Partie de la coque: Partie de la coque sans cerneau de noix

Adulterations: Adulteration de la composition d'une parcelle des fèves de cacao par les moyens pas les moindres de sorte que le mélange en résultant ou la combinaison n'est pas conforme avec la description contractuelle.

Matière étrangère: toute substance autre que les fèves de cacao ou résidu.

Contamination: cacao qui a un goût ou une odeur fumée, de jambon ou autre arrière-goût ou qui contient une substance non naturelle au cacao.

Récolte et ouverture des fruits: les fruits sont récoltés manuellement et ouverts en utilisant la faucille, la machette ou le baton en bois.

Fermentation: Procédé destiné à dégrader la pulpe et à initier des modifications biochimiques dans le cotylédon par des enzymes inhérents et des micro-organismes issus de l'environnement de la ferme.

Procédé de séchage: séchage de fèves de cacao soit sous la lumière du soleil ou avec des séchoirs mécaniques ou solaires afin de réduire la teneur en humidité pour les rendre stables pour l'entreposage.

Triage: opération technique destinée à retirer la partie étrangère, les fragments de fèves de cacao sèches et de pulpe sèche; et les fèves mauvaises issues des fèves de cacao sèches.

Torréfaction: traitement thermique qui produit des modifications fondamentales chimique et physique dans la structure et la composition des fèves de cacao et apporte une certaine obscurité des fèves et le développement de l'arôme caractéristique du chocolat ou cacao torréfié.

3. TRANSFORMATION DU CACAO

8. La récolte implique le retrait des fruits matures des arbres. Les fruits sont récoltés manuellement en faisant une entaille propre à travers le pédoncule avec une feuille nettoyée et bien taillée.
9. Les coques sont ouvertes pour extraire les fèves de cacao avec la pulpe aussi vite que possible ou en quelques jours après la récolte.
10. Les fèves de cacao avec la pulpe extraite de la coque sont entassées ensemble ou mises dans des boîtes, des plateaux ou plateformes pour autoriser les micro-organismes à développer et initier le processus de fermentation.
11. Les fèves de cacao fermentées sont généralement séchées au soleil dans un parc ouvert sec ou sur des tables suspendues avec beaucoup de variations et d'innovations technologiques. Le séchage au soleil et mécanique peut être associé et utilisé ensemble.

12. Lorsque les fèves sont séchées de façon appropriée à des niveaux d'humidité cible, elles doivent être assorties pour retirer les fèves fades, les fèves asséchées, les fèves noires, les fèves moisies, les fèves petites et fondues, les fèves avec des dommages pour les insectes, et autres défauts.
13. Une fois que les processus de séchage et de triage sont achevés, le cacao sec doit être mis dans des sacs appropriés et entreposé. Un ensachage approprié et l'entreposage des fèves transformées est aussi importante qu'une fermentation propre et le séchage.
14. La transformation industrielle du retrait des coques de cacao (épisperme sec ou tégument de graine de cacao) avant la torréfaction peut réduire les niveaux d'OTA de façon significative.
15. L'industrie pour les produits au cacao devrait implanter un système de contrôle et de surveillance, désigné pour empêcher et réduire le niveau d'OTA dans des étapes de fabrication subséquentes.

4. PRATIQUES RECOMMANDEES

4.1 PRE-RECOLTE

16. La pulpe et les fèves de cacao sont microbiologiquement stériles en relation aux fongiques produisant de l'OTA bien qu'à l'intérieur la coque du cacao saine. La contamination par les spores des fongiques qui peuvent produire de l'OTA apparaît durant le processus d'ouverture de la coque de cacao et dans des procédés subséquents.
17. Par conséquent, la plantation du cacao devrait être entretenue correctement pour assurer un niveau bas d'infestation de moisissure aussi bas que possible, afin d'éviter l'inoculation par des spores fongiques produisant de l'OTA durant l'ouverture de la coque de cacao.
18. Les pratiques recommandées pour réduire le développement et la charge de spores des fongiques produisant de l'OTA sur les fèves de cacao sont:
 - a) Conserver les plantes de cacao saines, à travers l'emploi approprié des bonnes pratiques agricoles (BPA) comme le désherbage, l'amélioration de la texture du sol, l'émondage, la fertilisation, la peste et le contrôle de la maladie et l'irrigation.
 - b) N'utilisez pas l'irrigation aérienne durant la floraison et la période de développement du fruit. Ceci pourrait augmenter les taux de dispersion à la fréquence et augmenter la chance d'infection des fèves par les producteurs d'OTA.
 - c) Éviter l'élimination des déchets organiques non compostés issus du cacao ou toute autre source dans ou autour de la plantation. Les graines de cacao et les graines attachées au matériel telles que la poussière, la et autre graine peut autoriser la prolifération des fongiques produisant de l'OTA.

4.2 RECOLTE

19. Les fruits de cacao pourraient être récoltés dès qu'ils sont mûrs. La récolte devrait être effectuée toutes les deux semaines s'il n'y a pas beaucoup de coques matures et chaque semaine durant les périodes de pique. De même, c'est important de faire un tour séparé de la stéréalisation à la ferme chaque semaine pour extraire les fruits de cacao atteints de maladie avec un crochet pour cacao qui est utilisé uniquement à cette fin.
20. Enlevez les fruits mommifiés parcequ'ils sont probablement infectés.
21. Évitez la récolte des fruits verts. Les fèves à l'intérieur des coques immatures ne fermentent pas facilement. Les fèves de cacao vertes ont une pulpe solide, sans mucilage, donc elles sont difficiles à séparer de la coque et ne fermentent pas correctement.
22. La moissonneuse devrait éviter la coupe non nécessaire des cosses de cacao pour empêcher l'inoculation et le développement des fongiques produisant de l'OTA dans les entailles de la cosse.
23. La récolte doit être effectuée en utilisant des techniques et des outils spécifiques. Les outils et les corbeilles utilisés pour transporter les fruits devraient être propres et les outils taillés régulièrement.

4.3 ENTREPOSAGE ET OUVERTURE DE LA COSSE

24. Une fois qu'une quantité large suffisante de fruits a été récoltée, les cosses doivent être ouvertes, manuellement (en utilisant des batons en bois ou des machettes) ou mécaniquement (en utilisant des machines de cassage des coques de cacao) et les fèves extraites. Il est recommandé d'ouvrir les fruits aussi vite que possible ou en quelques jours après la récolte afin d'éviter la prolifération de fongiques.
25. Les fruits endommagés ou altérés ne devraient pas être entreposés plus d'une journée avant la fermentation.
26. Durant le procédé d'ouverture toute partie altérée de la cosse de cacao, les fèves moisies, les fèves atteintes de maladie et les fèves endommagées devraient être retirées et disposées de façon appropriée.

4.4 FERMENTATION DES FEVES DE CACAO

27. Les fèves de cacao avec de la pulpe devraient être placées dans des boîtes appropriées raisonnablement propres et sèches, des plateaux ou plateformes pour la fermentation.

28. La masse mucilagineuse devrait être retournée fréquemment afin d'assurer une chaleur uniforme dans les piles, afin d'autoriser l'entrée de l'aération, de rompre tout morceau pour prévenir la prolifération fongique. La fréquence dépend de la méthode de fermentation.
29. La durée de fermentation est généralement de 4 à 7 jours ce qui dépend aussi de la méthode de fermentation. Il est aussi recommandé que la fermentation au-delà de 7 jours soit évitée étant donné que cela pourrait conduire à une prolifération fongique.
30. La fermentation est recommandée afin d'éviter la croissance de fongique ochratoxigénique et la production d'ochratoxine A parce que l'acide acétique, lactique et citrique produit par les bactéries durant la fermentation peut concurrencer et limiter ces espèces fongiques indésirables. La recherche a montré que la fermentation effectuée durant le séchage sur un paillis de séchage; et le cacao partiellement dépulvé également fermenté directement sur le paillis de séchage peut augmenter la production d'OTA dans les fèves de cacao.

4.5 PROCESSUS DE SECHAGE

31. Après la fermentation, les fèves de cacao peuvent être retirées et immédiatement étalées sur des surfaces appropriées pour sécher, de préférence à la lumière du jour directement. Si le séchage n'a pas démarré immédiatement, les fèves de cacao garderont la fermentation et une surfermentation conduisant à la perte de l'arôme du cacao.
32. Le procédé de séchage pourrait être fait directement à la lumière du jour ou le séchage artificiel ou une combinaison des deux. Les niveaux de 6-8% de teneur en humidité des fèves de cacao est fiable pour éviter la croissance des microorganismes et marchandises pour l'entreposage.
33. L'ère de séchage devrait être localisée loin des sources de contaminant et devrait recevoir une exposition maximale au soleil. Et la circulation de l'air durant la plupart des plages horaires de la journée, pour accélérer le processus de séchage des fèves de cacao. Les zones ombragées devraient être évitées.
34. Dans les régions pluvieuses ou humides, les fèves de cacao doivent être couvertes et réétalées une fois que la surface a séché. Assurez-vous que la surface de séchage est propre et située loin des sources de contaminants.
35. La couche de séchage des fèves de cacao ne devrait pas excéder 6 cm d'épaisseur ce qui correspond à 40 kg de fèves de cacao humides par mètre carré de l'ère de séchage pour éviter un séchage lent ou inadéquat qui peut conduire à la croissance de la moisissure.
36. Le ratissage sur la couche de fèves de cacao fréquemment durant la journée afin d'autoriser un séchage plus rapide et de réduire le risque de croissance fongique (5-10 fois par jour).
37. Protégez les fèves de cacao durant le séchage de la pluie et rosée. Les fèves de cacao devraient être chargées et couvertes durant la nuit ou durant un temps pluvieux afin d'éviter la réhumidification.
38. Ne mélangez pas les fèves de cacao à différentes étapes du séchage. Employez l'identification spécifique pour chacune d'entre elles pour identifier chaque étape de séchage.
39. Le remouillage des fèves de cacao devrait être évité parce que les fèves de cacao avec un certain niveau d'humidité au-dessus de 8% peut autoriser la croissance du mycelium et la possibilité de la production d'OTA. La fève de cacao moisie devrait être abandonnée.
40. Protégez les fèves de cacao durant le séchage issu des animaux domestiques qui eut être une source de contamination biologique.

4.6 ENTREPOSAGE, TRANSPORT ET COMMERCE DES FEVES DE CACAO SECHES

41. Avant l'entreposage des fèves de cacao sèches, elles doivent être triées pour retirer les fèves plates, ratatinées, noires, moisies, petites et /ou fondues avec des dommages d'insecte, etc.
42. Assurez-vous que les commodités et l'équipement qui sont rattachés avec le processus de triage sont régulièrement inspectés, entretenus et nettoyés afin d'éviter les dommages physiques des fèves de cacao qui les rend plus susceptibles à la contamination et à la détérioration et pour prévenir l'introduction d'une nouvelle contamination et des matériaux non désirés.
43. Les fèves de cacao sèches qui devront être entreposées devraient être identifiées correctement par lots, au niveau de la ferme ou dans les entrepôts à l'extérieur de la ferme, en vrac ou dans des sacs propres dans des conditions d'entreposage appropriées.
44. Les fèves de cacao devraient être emballées dans des sacs propres qui sont suffisamment forts et correctement cousus ou clos. Les sacs devraient être fabriqués de matériaux non toxiques, de préférence de sacs de qualité alimentaire exempt d'hydrocarbure qui n'attirent pas les insectes et les rongeurs et sont suffisamment forts pour résister à l'entreposage pour de plus longues périodes.
45. Les fèves de cacao emballées doivent être placées dans des entrepôts ou des hangars d'entreposage qui sont imperméables, bien aérés, propres, exempt d'humidité et maladies avec des insectes et loin de la fumée et autres matériaux odoriférants qui pourraient contaminer le cacao.

- a) L'agencement et la structure des entrepôts ou des remises d'entreposage devraient être adéquats pour conserver la sécheresse et l'uniformité des fèves de cacao sèches entreposées.
 - b) Arrangez les sacs de cacao sur des palettes loin des murs pour autoriser une bonne circulation de l'air.
 - c) Ne pas exposer les fèves de cacao entreposées à la lumière du jour directe et ne pas les entreposer à proximité des sources de chaleur afin d'éviter la possibilité d'écarts de température et la migration de l'eau.
 - d) Implanter des programmes de nettoyage et d'entretien et assurez-vous que les équipements d'entreposage sont inspectés périodiquement, nettoyés et réparés.
46. Durant le processus entier, les fèves de cacao doivent également être protégées du remouillage, de la dégradation et de la contamination croisée. Dans des conditions d'entreposage à long terme, l'humidité devrait être conservée dans des conditions de contrôle strictes (moins de 70% RH). Des équipements d'entreposage appropriés, l'emploi de bonnes pratiques d'entreposage et le contrôle régulier peut prévenir ou réduire la croissance de la moisissure.
47. La teneur en humidité des fèves de cacao entreposées devraient être contrôlées périodiquement et conservées en dessous de 8%.
48. Toute infestation doit être traitée avec des méthodes correctes et approuvées de fumigation. La documentation accompagnant le cargo devrait affirmer en termes clairs et corrects les fumigants et les quantités qui ont été utilisées.
49. À partir des zones de production, le cacao peut être transporté par différents moyens aux points de commercialisation. L'aspect majeur d'inquiétude ici est d'éviter le remouillage des fèves de cacao à cause des changements climatiques possibles entre les différentes régions et en prenant les mesures de contrôle nécessaires.
50. Le transport des fèves de cacao requiert également l'adoption de pratiques pour éviter le remouillage afin de maintenir la température aussi uniforme que possible et afin de prévenir la contamination par d'autres matériaux. Les exigences principales ici sont:
- a) De couvrir les zones de chargement et de déchargement des fèves de cacao afin de les protéger contre la pluie.
 - b) Avant de recevoir une nouvelle cargaison, les véhicules doivent être nettoyés des résidus de la cargaison antérieure.
 - c) Les véhicules doivent avoir du plancher, des murs latéraux et des plafonds (dans des véhicules fermés) contrôlés pour la présence de points où les fumées de pot d'échappement ou l'eau de pluie peuvent être acheminées dans la cargaison du cacao. Les tarpaulins et le canevas plastique utilisés pour couvrir la cargaison devraient être contrôlés régulièrement pour assurer qu'ils sont propres et sans trous. Les véhicules devraient recevoir également l'entretien et devraient être gardés en bonne condition.
 - d) Les fournisseurs de service Internet qui adoptent les pratiques de transport de biens recommandés devraient être sélectionnés par les opérateurs.

4.7 TRANSPORT PAR BATEAU

51. Les fèves de cacao sont transportées des pays producteurs aux pays consommateurs dans des sacs ou en vrac, usuellement dans des conteneurs de 18 à 22 tonnes de capacité. Les fluctuations de température durant le temps de transport peuvent provoquer la condensation de l'eau restante (présentes aussi dans les fèves bien sèches) et le remouillage local. La redistribution de l'eau peut conduire à la croissance fongique avec la possibilité de production d'OTA. Les pratiques recommandées durant le transport dans le port sont:
- a) Couvrir le chargement de cacao et les zones de déchargement pour les protéger de la pluie.
 - b) Contrôler les lots de cacao pour s'assurer qu'ils sont uniformément secs et avec une teneur en humidité en dessous de 8%, exempte de matière étrangère et conformément aux niveaux établis définitifs.
 - c) Contrôler les conteneurs avant le chargement pour s'assurer qu'ils sont propres, secs et sans dommage structurel qui pourrait autoriser l'entrée de l'eau dans le conteneur.
 - d) Les sacs devraient être bien empilés et croisés pour un support mutuel afin d'éviter la formation de colonnes verticales vides (cheminées). La couche supérieure et les cotés des sacs devraient être couverts avec des matériaux qui peuvent absorber l'eau condensée comme le gel de silice ou de carton pour la protection contre la croissance de fongiques qui pourraient résulter dans la production d'OTA. Pour le cacao en vrac, un fond en plastique vendable (par ex. des grands sacs qui autorisent l'aération) est désirable et ceci devrait être conservé à l'écart du toit du conteneur.
 - e) Choisissez une place appropriée pas directement exposée aux intempéries, et à bord du bateau pour emmagasiner le cacao afin de réduire la possibilité de situations indésirables mentionnées qui peuvent conduire à la contamination par l'OTA.
 - f) Conservez les bouches d'aération dans les conteneurs ouvertes.
 - g) Évitez un arrimage non protégé sur le pont (couche de surface) et mettre en sécurité des chaudières et des citernes ou têtes de brûleur chauffées.
 - h) La teneur en humidité ne devrait pas excéder 8% nulle part, du point où les fèves de cacao quittent la zone de chargement jusqu'au point auquel le cacao est déchargé, entreposé et/ou soumis à d'autres procédures de transformation comme la torréfaction.

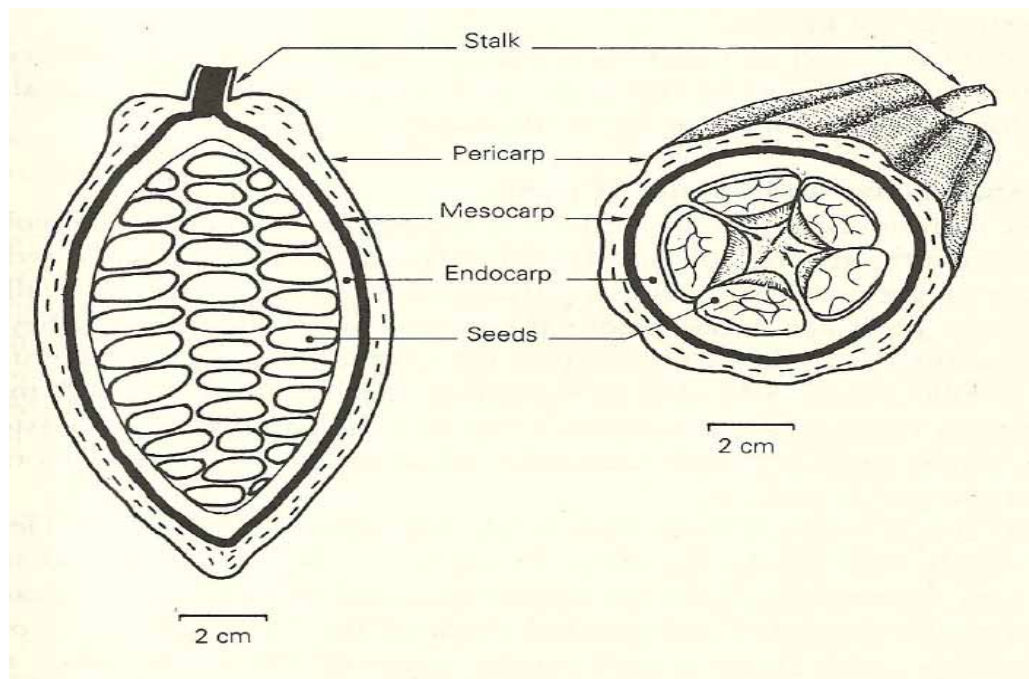


Figure 1a. Sections longitudinale et transversale d'une cosse de cacao (Mossu, 1992)

Stalk: Pédoncule

Pericarp: péricarpe

Endocarp: endocarpe

Seeds: graines

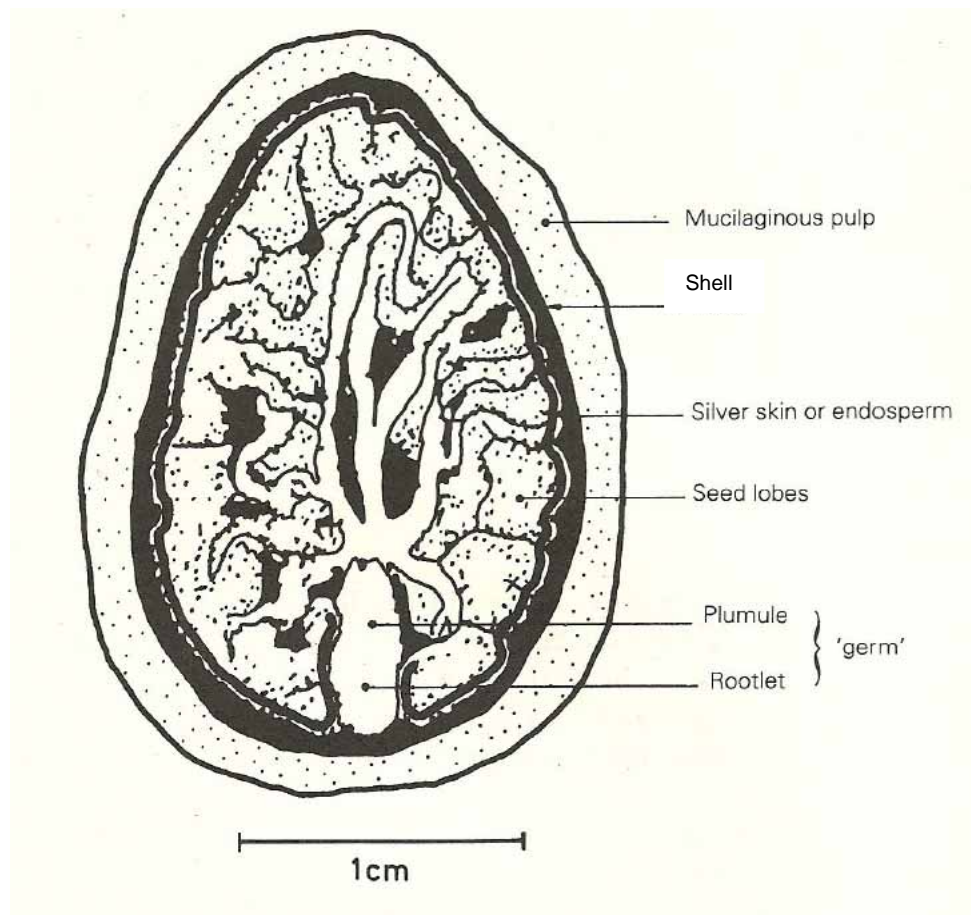


Figure 1b. Section longitudinale d'une graine de cacao (Mossu, 1992)

Miculaginous pulpe: pulpe miculagineuse

Shell: coque

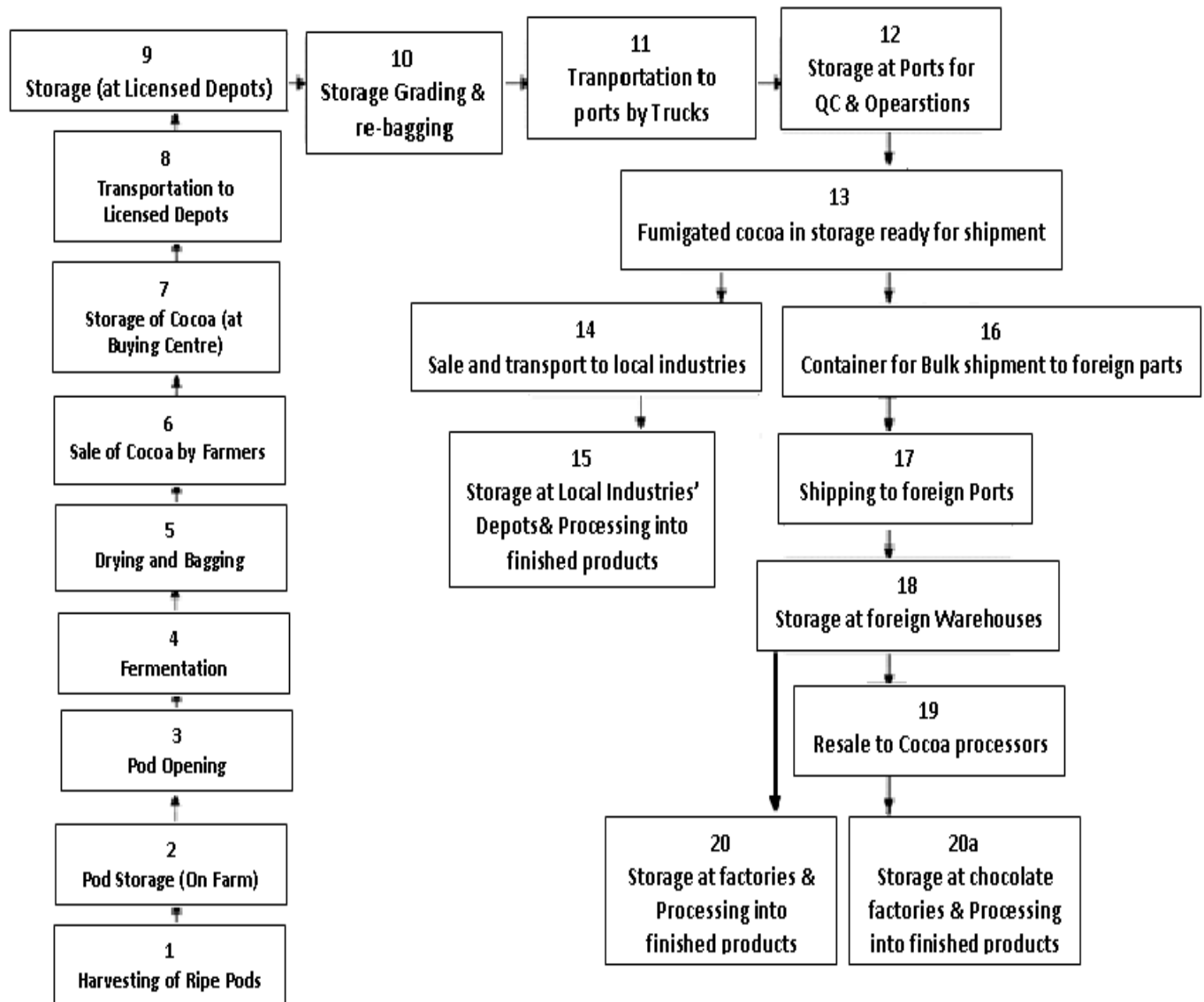
Silver skin or endosperm: peau argentée ou endosperme

Seed lobes: lobes de graine

Plumule: gemmule

Rootlet: radicelle

Germe: germe

FIG. 2 COCOA VALUE CHAIN

1. Récolte des coques mûres
2. Entreposage des cosses (à la ferme)
3. Ouverture des coques
4. Fermentation
5. Séchage et ensachement
6. Vente de cacao par les fermiers
7. Entreposage de cacao (au centre d'achat)
8. Transport aux dépôts autorisés
9. Entreposage (dans des dépôts autorisés)
10. Triage entreposage & remballage
11. Transport aux ports par camions
12. Entreposage aux ports pour QC & opérations

13. Cacao fumigé dans l'entreposage prêt pour cargaison
14. Vente et transport aux industries locales
15. Entreposage dans les dépôts des industries locales & transformation en produits finis
16. Conteneurs pour cargaison en vrac aux parties étrangères
17. Cargaison aux ports étrangers
18. Entreposage dans les entrepôts étrangers
19. Revente aux préparateurs de cacao
20. Entreposage dans les usines & transformation dans les produits finis
- 20a. Entreposage dans les usines de chocolat & transformation en produits finis

LISTE DES MEMBRES DU GROUPE DE TRAVAIL ELECTRONIQUE SUR L' OTA**ARGENTINE**

Codex Contact Point
Email: codex@minagri.gob.ar
codex@minagri.gob.ar

BRESIL

Dr. Lígia Lindner **SCHREINER**
Expert on Regulation
Brazilian Health Surveillance Agency
General Office of Foods
Tel.: +55 61 3462 5399
Email: ligia.schreiner@anvisa.gov.br

CAMEROUN

Mr. Jean Martin **ETOUNDI**
Ingénieur Général des Techniques Industrielles
(Spécialiste de Nutrition des Technologies Alimentaires)
Secrétaire Technique du CNCOSAC,
Sous Directeur de la Promotion à l'ANOR
Tel.: 00 237 77 74 22 41 / 00 237 97 14 36 33
Tel/Fax: 00 237 22 30 61 26
B.P.: 8186 Yaoundé
Email: etoundjme@yahoo.fr

COLOMBIE

Norma S. **PERILLA**
Email: nsperilla@micotox.com

COSTA RICA

María Elena **AGUILAR**
Technical Secretariat, Codex in Costa Rica
Tel.: (506) 2233-6922
Email: maguilars@ministeriodesalud.go.cr

Albino **RODRIGUEZ**
Technical Secretariat of the Codex in Costa Rica
Tel.: (506) 2233-6922
Email: arodriguez@icafe.cr

COTE D'IVOIRE

Prof. Ardjouma DEMBELE
Email: ardjouma@yahoo.fr

EU

Mr. Frans **VERSTRAETE**
European Commission
Health and Consumers Directorate-General
Tel.: ++32 - 2 - 295 63 59
Email: frans.verstraete@ec.europa.eu
codex@ec.europa.eu

GHANA

Dr. Jemmy **TAKRAMA**
Principal Research Officer
Cocoa Research Institute of Ghana
Physiology and Biochemistry, Postbox 8
Tafo-Akim
GHANA
Tel.: +233 2541395936
Email: takramax@yahoo.com

Dr. Kafui **KPODO**
Deputy Director
Food Research Institute
Council for Scientific & Industrial Research
P.O. Box M 20
Accra
GHANA
Tel.: +233 244 650 635
Email: kafui@kpodo.net

Mr. Ebenezer Kofi **ESSEL**
Head, Food Inspectorate Department
Food and Drugs Board
Food Division
P.O. Box CT 2783 Cantonments
Accra
GHANA
Tel.: +23324465594 3
Email: kooduntu@yahoo.co.uk

JAPON

Mr. Wataru IIZUKA
Section Chief
Standards and Evaluation Division
Department of Food Safety
Ministry of Health, Labour and Welfare
1-2-2 Kasumigaseki Chiyoda-ku, Tokyo 100-8916, JAPAN
Email: codexj@mhlw.go.jp

Dr. Yoshiko SUGITA-KONISHI
Director
Division of microbiology
National Institute of Health Sciences
1-18-1 Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, JAPAN
Email: ykonishi@nihs.go.jp

MALAISIE

Ms. Fauziah **ARSHAD**
Deputy Director
Standard and Codex Branch
Food Safety and Quality Division
Ministry of Health Malaysia
Tel.: +60388850794
Email: fauziaharshad@moh.gov.my

Ms. Raizawani Abdul **RAHMAN**
 Senior Assistant Director
 Contaminant Section
 Food Safety and Quality Division
 Ministry of Health Malaysia
 Tel: +60388850783
 E mail: raizawani@moh.gov.my
ccp_malaysia@moh.gov.my

NIGERIA

Standards Organisation of Nigeria
 No. 52 Lome Crescent,
 Wuse Zone 7, Wuse
 Abuja, Nigeria
 Tel.: +2348057346449, +2348097594024
 Email: sonnis_ng@yahoo.com

Dr. Nkechinyere Lelia **DONGO**
 Head, Crop Protection Division,
 Cocoa Research Institute of Nigeria,
 Ibadan, Nigeria.
 Tel.: – 23480345495
 Email – leliadongo@yahoo.co.uk

PHILIPPINES

Lydia **MARTINEZ**
 NCO Technical Committee
 NCO Sub-committee on Contaminants in Foods
 Food Consultant: foundation for Research linkage and
 Development
 Telefax: +6328993990
 Email: Lydia.martinez@gmail.com

THAILANDE

Mr. Pisan Pongsapitch
 Director, Office of Commodity and System Standard,
 National Bureau of Agricultural Commodity and Food
 Standards,
 50 Phaholyothin Road, Ladyao, Chatuchak,
 Bangkok 10900 Thailand
 Tel.: (+662) 561 2277
 Fax: (+662) 561 3357, (+662) 561 3373
 Email: codex@acfs.go.th

UK

Elli **AMANATIDOU**
 Higher Scientific Officer
 Chemical Safety Division (CSD), Mycotoxins
 Food Standards Agency
 Aviation House, 125 Kingsway, London, WC2B 6NH
 Tel.: 020 7276 8322
 Email: www.food.gov.uk
Mycotoxins@foodstandards.gsi.gov.uk

USA

Dr. Garnett E. **WOOD**
 Office of Food Safety, HFS-317
 Center for Food Safety and Applied Nutrition
 Food and Drug Administration
 5100 Paint Branch Parkway
 College Park, MD 20740
 Tel.: 240-402-1942
 Email: garnett.wood@fda.hhs.gov

ICA

Pénélope ALEXANDRE
 Regulatory & scientific Affairs director
 Association of the Chocolate, Biscuit & Confectionery
 Industries of Europe
 1 rue Defacqz
 1000 Brussels
 Tel.: +3225391800
 Fax: + 32 2 5391575
 E-mail: penelope.alexandre@caobisco.be