



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ  
INSTITUTO DE TECNOLOGIA  
MESTRADO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

**CAROLINE COSTA SANTOS**

Influência dos processos de fermentação e secagem no teor de compostos fenólicos e capacidade antioxidante de amêndoas de cacau amazônico (*Theobroma cacao* var. Forasteiro)

**BELÉM – PARÁ**

**2013**



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ  
INSTITUTO DE TECNOLOGIA  
MESTRADO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

**CAROLINE COSTA SANTOS**

Influência dos processos de fermentação e secagem no teor de compostos  
fenólicos e capacidade antioxidante de amêndoas de cacau amazônico  
(*Theobroma cacao* var. *Forasteiro*)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em  
Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal  
do Pará, como requisito à obtenção do grau de Mestre em  
Ciência e Tecnologia de Alimentos.

ORIENTADOR: Prof. Dr. Jesus Nazareno Silva de Souza

**BELÉM – PARÁ**

**2013**

**CAROLINE COSTA SANTOS**

“Influência dos processos de fermentação e secagem no teor de compostos fenólicos e capacidade antioxidante de amêndoas de cacau amazônico (*Theobroma cacao* var. *Forasteiro*).”

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Pará, como requisito à obtenção do grau de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Área de Concentração: Ciência e tecnologia de matérias-primas alimentícias vegetais.

DATA DE AVALIAÇÃO: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_.

CONCEITO: \_\_\_\_\_.

**BANCA EXAMINADORA**

---

**Prof. Dr. Jesus Nazareno Silva de Souza**  
(PPGCTA/ITEC/UFPA – Orientador)

---

**Prof Dr. Hervé Louis Ghislain Rogez**  
(PPGCTA/ITEC/UFPA – Membro)

---

**Dra. Alessandra Ferraiolo Nogueira Domingues**  
(EMBRAPA/ CPATU - membro externo)

*Dedico*

*à Deus,  
à minha família,  
aos meus amigos.*

*Construí amigos, enfrentei derrotas, venci obstáculos,  
bati na porta da vida e disse-lhe: Não tenho medo de vivê-la.”*

*Augusto Cury*

*“A vida é como uma caixa de chocolates, você nunca sabe o que vai encontrar.”*

*Winston Groom*

## **AGRADECIMENTOS**

*Louvo e agradeço a Deus Pai que sempre esteve iluminando minha vida e direcionando meus caminhos; por me fortalecer nos momentos de desânimo e abrir meus olhos com sabedoria para encontrar soluções; por me conceder a graça de poder estudar e está diante de um sonho realizado.*

*Agradeço ao prof<sup>o</sup> Jesus pelos conhecimentos compartilhados e pela confiança que teve em meu trabalho, me dando a oportunidade de o ter como orientador. Além disso, agradeço pelos bons momentos de aprendizagem, não só acadêmica, mas também pelos conselhos e conversas alegres e descontraídas. Saiba que o admiro.*

*Agradeço ao prof<sup>o</sup> Hervé Rogez pelas suas contribuições científicas e financeiras na realização deste trabalho.*

*Agradeço a pérola de minha vida, que é minha família. À meus pais, Nonato e Célia, que incansavelmente com muito esforço me proporcionaram a oportunidade de estudar e me concederam uma valiosa educação; À minhas maravilhosas irmãs, Jaqueline (a maninha) e a Marcellly ( Lilo), muito obrigada pela amizade, companheirismo, , principalmente, naqueles mais difíceis que estiveram ao meu lado me apoiando, consolando e me aconselhando .*

*Agradeço imensamente a Família Miyagawa que me auxiliou na realização deste trabalho.*

*Agradeço a Tati, Livia, Ana Caroline, Pri, Taiana, Lara, Bianca e Allena pela amizade que ultrapassou as barreiras do expediente de trabalho e veio devagarzinho ocupando espaço em minha vida e, através de certos momentos, fortificando a cada dia os laços que vão além da amizade ( a irmãdade).*

*Agradeço aos membros da Usina de Alimentos, pelo convívio e pela GRANDE AJUDA durante esse período de trabalho.*

*Agradeço à prof<sup>a</sup> Alessandra e aos membros do Laboratório LAFAMI pelo grande auxílio neste trabalho.*

*À CAPES pelo financiamento de bolsa.*

*Muito Obrigada!!!*

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 2.1. <i>THEOBROMA CACAO L.</i> VAR. FORASTEIRO (FOTO: AFOAKWA, 2010).	ERRO!	INDICADOR NÃO DEFINIDO.
FIGURA 2.2. PRINCIPAIS VARIEDADES DA ESPÉCIE <i>THEOBROMA CACAO</i> . (FOTO: EFRAIM, 2004).	ERRO!	INDICADOR NÃO DEFINIDO.
FIGURA 2.3. FLUXOGRAMA DA CADEIA PRODUTIVA DO CACAU. (ADAPTADO DE LEITE, 2012).	ERRO!	INDICADOR NÃO DEFINIDO.
FIGURA 2.4. SEMENTES DE CACAU (FOTO: AFOAKWA, 2010).	ERRO!	INDICADOR NÃO DEFINIDO.
FIGURA 2.5. METODOS DE FERMENTAÇÃO MAIS UTILIZADOS: MONTES (A), CESTAS (B) E CAIXAS (C). (FONTE: AFOAKWA, 2010)	27	
FIGURA 2.6. EVOLUÇÃO DA COLORAÇÃO DAS AMÊNDOAS DURANTE A FERMENTAÇÃO (OETTERER, 2006).	31	
FIGURA 2.7. ESTRUTURA BÁSICA DOS FLAVONOIDES	33	
FIGURA 2.8. ESTRUTURA QUÍMICA DE DIFERENTES CLASSES DE FLAVONÓIDES.	34	
FIGURA 2.9. MODELO ESTRUTURAL DE PROANTOCIANIDINAS DIMÉRICAS DO TIPO B (A) E TRIMÉRICAS DO TIPO C (B). (FONTE: ADAPTADO DE CARVALHO, 2007).	35	
FIGURA 2.10. PRINCIPAIS POLIFENÓIS ENCONTRADOS NAS AMÊNDOAS DE CACAU (ADAPTADO DE: ORTEGA ET AL., 2008; EFRAIM ET AL., 2011).	37	
FIGURA 3.1. FLUXOGRAMA DE PRÉ-PROCESSAMENTO DO CACAU.	39	
FIGURA 3.2. CAIXAS DE FERMENTAÇÃO. C1: ALTURA DE LEITO DE 60 CM; C2: ALTURA DE LEITO DE 50 CM; C3: ALTURA DE LEITO DE 40 CM; C4: ALTURA DE LEITO DE 30 CM; C5: ALTURA DE LEITO DE 20 CM.	40	
FIGURA 3.3. SECAGEM A SOMBRA (SSOM) E SECAGEM AO SOL (SSOL) DAS AMÊNDOAS DE CACAU	41	
FIGURA 3.4. AMÊNDOA COM CORTE LONGITUDINAL (FONTE: ADAPTADO DE ADMIN, 2011).	42	
FIGURA 4.1. VALORES MÉDIOS DA TEMPERATURA DA MASSA DAS SEMENTES DE CACAU DURANTE A FERMENTAÇÃO PARA OS DIFERENTES ENSAIOS, NO PERÍODO DA MANHÃ (TM) E DA TARDE, ANTES (TA) E DEPOIS DO REVOLVIMENTO (TD).	46	
FIGURA 4.2. TESTE DE CORTE DA FERMENTAÇÃO CONVENCIONAL C1 (60 CM DE ALTURA DE LEITO).	50	
FIGURA 4.3. UMIDADE DOS COTILÉDONES DE CACAU DURANTE A FERMENTAÇÃO E SECAGEM. C1: FERMENTAÇÃO COM ALTURA DE LEITO DE 60 CM; C2: FERMENTAÇÃO COM ALTURA DE LEITO DE 50 CM, C3: FERMENTAÇÃO COM ALTURA DE LEITO DE 40 CM; C4: FERMENTAÇÃO COM ALTURA DE LEITO DE 30 CM; C5: FERMENTAÇÃO COM ALTURA DE LEITO DE 20 CM.	51	
FIGURA 4.4. VALORES MÉDIOS DE LIPÍDIOS DOS COTILÉDONES DURANTE A FERMENTAÇÃO E SECAGEM (EM BASE SECA). C1: FERMENTAÇÃO COM ALTURA DE LEITO DE 60 CM; C2: FERMENTAÇÃO COM ALTURA DE LEITO DE 50 CM, C3: FERMENTAÇÃO COM ALTURA DE LEITO DE 40 CM; C4: FERMENTAÇÃO COM ALTURA DE LEITO DE 30 CM; C5: FERMENTAÇÃO COM ALTURA DE LEITO DE 20 CM.	53	
FIGURA 4.5. VALORES MÉDIOS DE pH DOS COTILÉDONES DURANTE A FERMENTAÇÃO E SECAGEM. C1: FERMENTAÇÃO COM ALTURA DE LEITO DE 60 CM; C2: FERMENTAÇÃO COM ALTURA DE LEITO DE 50 CM, C3:		

FERMENTAÇÃO COM ALTURA DE LEITO DE 40 CM; C4: FERMENTAÇÃO COM ALTURA DE LEITO DE 30 CM; C5: FERMENTAÇÃO COM ALTURA DE LEITO DE 20 CM.....	54
FIGURA 4.6. VALORES MÉDIOS DE ACIDEZ TOTAL DOS COTILÉDONES DURANTE A FERMENTAÇÃO E SECAGEM. C1: FERMENTAÇÃO COM ALTURA DE LEITO DE 60 CM; C2: FERMENTAÇÃO COM ALTURA DE LEITO DE 50 CM, C3: FERMENTAÇÃO COM ALTURA DE LEITO DE 40 CM; C4: FERMENTAÇÃO COM ALTURA DE LEITO DE 30 CM; C5: FERMENTAÇÃO COM ALTURA DE LEITO DE 20 CM.....	56



## LISTA DE TABELAS

TABELA 2.1. COMPOSIÇÃO QUÍMICA MÉDIA DAS SEMENTES DE CACAU.....	19
TABELA 2.2. PRODUÇÃO MUNDIAL DE CACAU ENTRE 2010 E 2011 .....	20
TABELA 2.3. QUANTIDADE PRODUZIDA DE CACAU (TON) DE 2010 À 2013).....	21
TABELA 2.4. CLASSIFICAÇÃO DE AMÊNDOAS DE CACAU CONFORME TOLERÂNCIA DE DEFEITOS (%)..	31
TABELA 2.5. CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DE ALGUNS ALIMENTOS E BEBIDAS.....	38
TABELA 4.1. TEMPERATURA E UMIDADE RELATIVA AMBIENTE EM CADA DIA DA FERMENTAÇÃO. ....	47
TABELA 4.2. TEMPERATURA E UMIDADE RELATIVA DO AMBIENTE EM CADA DIA DA SECAGEM À SOMBRA E AO SOL. .....	49
TABELA 4.3 VALORES MÉDIOS DA ATIVIDADE ENZIMÁTICA DA POLIFENOLOXIDASE (PFO) DOS COTILÉDONES DURANTE A FERMENTAÇÃO E SECAGEM.....	37
TABELA 4.4 VALORES MÉDIOS DE POLIFENÓIS TOTAIS DOS COTILÉDONES DURANTE A FERMENTAÇÃO E SECAGEM. .....	57
TABELA 4.5. VALORES DE FLAVANÓIS TOTAIS DOS COTILÉDONES ANTES E APÓS FERMENTAÇÃO E SECAGEM. ....	59
TABELA 4.6 VALORES DE FLAVONÓIS TOTAIS DURANTE A FERMENTAÇÃO E SECAGEM.....	60
TABELA 4.7. VALORES DE PROANTOCIANIDINAS DURANTE A FERMENTAÇÃO E SECAGEM. ....	61
TABELA 4.8 VALORES DPPH DURANTE A FERMENTAÇÃO E SECAGEM.....	62
TABELA 4.9 VALORES DE ADSTRINGÊNCIA DURANTE A FERMENTAÇÃO E SECAGEM. ....	63
TABELA I.0.1. VARIAÇÃO DE TEMPERATURA DA MASSA DE SEMENTES DE CACAU DURANTE A FERMENTAÇÃO PARA OS DIFERENTES ENSAIOS. ....	64

## RESUMO

O cacau (*Theobroma cacao*) é um fruto que tem grande expressão econômica no Brasil e no mundo. Estudos clínicos feitos em humanos têm revelado que as sementes de cacau atuam benéficamente à saúde, principalmente pelo alto teor de compostos fenólicos. Todavia a maior parte dos mesmos se perde nas primeiras etapas pós-colheita: a fermentação e a secagem. Este estudo tem como objetivo analisar as alterações na capacidade antioxidante e no teor de compostos fenólicos de amêndoas de cacau após processo de fermentação, em diferentes alturas de leito, e secagem. As fermentações foram realizadas variando a altura do leito (20, 30, 40, 50 e 60 cm) durante sete dias, seguida por secagem a sombra, durante quatro dias, ou a sol, durante 3 dias. As amêndoas secas foram trituradas e liofilizadas, seguido por extração tripla com acetona, água e ácido acético (70:28:2, v:v:v) durante uma hora cada. Os resultados indicaram que, de uma forma geral, os tratamentos propostos apresentaram menor teor de compostos fenólicos em relação à fermentação convencional (60 cm de leito), o qual apresentou conteúdo de compostos fenólicos de 277,8 mg equivalente catequina/g Nibs Seco (NS), após a fermentação, e 215,2 e 250,2 mg equivalente catequina/g após a secagem à sombra e ao sol, respectivamente. Quanto à atividade antioxidante, a fermentação com 60 cm de leito antes da secagem foi a que apresentou maior valor de DPPH atingindo 26,7  $\mu\text{mol}$  equivalente Trolox/g NS, porém a fermentação com 50 cm de leito apresentou maior valor DPPH após secagem sombra atingindo 20,1  $\mu\text{mol}$  equivalente Trolox/g.

**Palavras-chave:** *Theobroma cacao*; fermentação; polifenóis; secagem; capacidade antioxidante

## ABSTRACT

The Cacao (*Theobroma cacao*) is a fruit that has high economic impact in Brazil and in the world. Clinical studies in humans have shown that cocoa beans act beneficially to health, especially because the high content of phenolic compounds. However most of them are lost in the early stages post-harvest: fermentation and drying. This study aims to analyze the changes in the antioxidant capacity and phenolic content of cocoa beans due to different processes of fermentation and drying. The fermentations were carried out varying the height of the bed (20, 30, 40, 50 and 60 cm) for seven days, followed by drying in the shade, for four days, or sun for 3 days. The dry beans were ground and lyophilized, followed by triple extraction with acetone, water and acetic acid (70:28:2, v: v: v) for one hour each. The results indicated that, in general, all of the treatments showed a lower content of phenolic compounds in relation to conventional fermentation (60 cm bed), that showed phenolic compounds of 277.8 mg catechin equivalent / g Dry Nibs (NS), after fermentation, and 215,2 and 250,2 mg catechin equivalent / g after drying in the shade and the sun, respectively. For antioxidant activity, fermentation at 60 cm of bed before drying showed the highest value of DPPH reaching 26.7  $\mu\text{mol}$  Trolox equivalent / g Dry Nibs (NS), but fermentation with 50 cm of bed showed higher DPPH after drying in shade reaching 20,1  $\mu\text{mol}$  Trolox equivalent / g.

**Keywords:** *Theobroma cacao*; fermentation; polyphenols; drying; antioxidant capacity.

## SUMÁRIO

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>14</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b>	<b>16</b>
2.1	CACAU	16
2.1.1	<i>Variedades</i>	17
2.1.2	<i>Composição química</i>	19
2.1.3	<i>Produção mundial e nacional de cacau</i>	19
2.2	PRÉ-PROCESSAMENTO DO CACAU	22
2.2.1	<i>Colheita</i>	23
2.2.2	<i>Quebra dos frutos</i>	24
2.2.3	<i>Fermentação</i>	25
2.2.4	<i>Secagem</i>	28
2.2.5	<i>Armazenamento</i>	29
2.3	AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DAS AMÊNDOAS - PROVA DE CORTE	30
2.4	COMPOSTOS FENÓLICOS	32
2.4.1	<i>Considerações gerais</i>	32
2.4.2	<i>Polifenóis do cacau</i>	35
<b>3</b>	<b>METODOLOGIA</b>	<b>39</b>
3.1	MATÉRIA PRIMA	39
3.2	PREPARO DA MATÉRIA PRIMA	39
3.2	FERMENTAÇÃO	40
3.3	SECAGEM	40
3.4	CARACTERIZAÇÃO FÍSICA DAS AMÊNDOAS FERMENTADAS E SECAS	41
3.5	PREPARO E CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO NIBS	42
3.5.1	<i>Umidade</i>	42
3.5.2	<i>Lipídios totais</i>	42
3.5.3	<i>pH</i>	43
3.5.4	<i>Acidez total titulável</i>	43
3.6	DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ENZIMÁTICA	43
3.7	EXTRAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS DOS NIBS	43
3.8	QUANTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS	44
3.8.1	<i>Determinação de polifenóis totais</i>	44
3.8.2	<i>Determinação de flavanóis totais</i>	44
3.8.3	<i>Determinação de flavonóis totais</i>	44
3.8.4	<i>Determinação de proantocianidinas</i>	44

3.9	DETERMINAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDADE	45
3.10	DETERMINAÇÃO DA ADSTRINGÊNCIA	45
3.11	ANÁLISE ESTATÍSTICA	45
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÕES</b>	<b>46</b>
4.1	PERFIL DE TEMPERATURA DA MASSA DURANTE A FERMENTAÇÃO	46
4.2	CARACTERIZAÇÃO DAS AMENDOAS FERMENTADAS E SECAS	48
4.3	CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO NIBS	51
4.1	QUANTIFICAÇÃO DA ATIVIDADE ENZIMÁTICA	58
4.2	COMPOSTOS FENÓLICOS	59
4.2.1	<i>Polifenóis totais</i>	59
4.2.2	<i>Flavanóis totais</i>	60
4.2.3	<i>Flavonóis totais</i>	61
4.2.4	<i>Proantocianidinas</i>	622
4.3	QUANTIFICAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	63
4.4	QUANTIFICAÇÃO DA ADSTRINGÊNCIA	64
<b>5</b>	<b>CONCLUSÃO</b>	<b>65</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>66</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Os compostos fenólicos, também denominados de polifenóis, têm sido amplamente estudados devido seus efeitos biológicos benéficos à saúde relacionados com a alta capacidade antioxidante, conferindo às diversas fontes desses compostos propriedades anti-inflamatória, anticarcinogênica, antitrombótica, antimicrobiana, analgésica e vasodilatadora, comprovadas através de estudos científicos (WOLLGAST, ANKLAM, 2000).

A Região Amazônica, em função da sua enorme biodiversidade vegetal, tem se apresentado em muitos estudos como importante fonte de vegetais com elevada capacidade antioxidante devido principalmente suas elevadas concentrações em compostos fenólicos. Esses estudos têm contribuído não só para o desenvolvimento de possíveis aplicações desses compostos como alimentos funcionais, mas também para o desenvolvimento sustentável da região, ao estimular a sustentabilidade econômica e o desenvolvimento de comunidades locais (SILVA, 2006).

*Theobroma cacao* L., conhecida como cacauero, é uma dessas plantas da Região Amazônica ricas em compostos fenólicos (WATERHOUSE et al 1996; WOLLGAST; ANKLAM, 2000) que proporcionam efeitos positivos sobre a saúde humana, uma vez que o cacau tem um longo histórico de utilização como alimento e como medicamento (KWIK-URIBE, 2005). Lee et al. (2003) encontraram em bebida preparada com cacau em pó 44%, 73% e 80% mais compostos fenólicos por porção<sup>1</sup> que no vinho tinto, chá verde e chá preto, respectivamente.

Dos polifenóis encontrados no cacau 60%, em peso seco, são (+) catequinas, (-) epicatequinas e procianidinas. Os flavonóides majoritários são a (+)- catequina e a (-)-epicatequina (EFRAIM et al., 2010).

Apesar do elevado conteúdo de compostos fenólicos nas sementes de cacau, alguns estudos indicam que durante o pré-processamento do cacau (fermentação e secagem) há perda de compostos fenólicos, que sob o ponto de vista sensorial é desejável, mas não do ponto de vista funcional (BRITO, 2000; LOPES, 2000, MATTIETTO, 2001; EFRAIM et al., 2010).

---

<sup>1</sup> porção preparada de acordo com a prescrição comercial para consumo.

Estas perdas de compostos fenólicos têm sido atribuídas às condições de processamento além de outros fatores como à atuação da polifenoloxidase (PFO), que durante os processos de fermentação e secagem é responsável pela oxidação dos compostos fenólicos. Durante a secagem da amêndoa as condições de temperatura, pH e disponibilidade de O<sub>2</sub> tornam-se cada vez mais adequadas para atividade da PFO e, por consequência, para oxidação dos polifenóis (EFRAIM, 2004; BRITO; GARCÍA; AMÂNICO, 2002).

As sementes de cacau são submetidas aos processos de fermentação e secagem para originar amêndoas que são usadas na produção de cacau em pó e chocolate (WOLLGAST, 2004; ANDRES-LACUEVA et al., 2008). Os processos de fermentação e secagem para obtenção do cacau comercial são de grande importância para a diminuição do amargor e da adstringência das amêndoas de cacau que são atribuídos aos polifenóis, a cafeína, a teobromina e aminoácidos, entre outros componentes naturalmente presentes nessa matéria prima (LUNA et al., 2002; MISNAWI et al., 2005).

Neste contexto, este trabalho tem como objetivo geral, estudar a influência dos processos de fermentação e secagem das sementes de cacau (*Theobroma cacao* var. Forasteiro) sobre o teor de compostos fenólicos e a capacidade antioxidante.

Os objetivos específicos do estudo englobam:

- Avaliar as características físico-químicas dos cotilédones das amêndoas durante os processos de fermentação (diferentes alturas de leito) e secagem (sombra e sol);
- Quantificar as principais classes de compostos fenólicos presentes naturalmente em sementes de cacau;
- Avaliar a atividade enzimática da PFO nas sementes de cacau;
- Avaliar a influência da fermentação e secagem das sementes sobre a adstringência das amêndoas de cacau.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 CACAU

*Theobroma cacao* L. (Figura 2.1) é uma árvore com 4-8 m de altura, da família botânica *Sterculiaceae*. É originária do continente americano, provavelmente das bacias dos rios Amazonas e Orenoco, de onde se espalhou por toda região e onde ainda se encontram algumas espécies em estado nativo (SILVA, TASSARA, 2005; RUSCONI, CONTI, 2010; KIM, LEE, LEE, 2011). Atualmente o cacau é cultivado em países da América do Sul, Central e do Norte, além da África, Ásia e Oceania.



**Figura 2.1.** *Theobroma cacao* L. var. Forasteiro (Foto: AFOAKWA, 2010).

As condições ideais para o cultivo são temperaturas acima de 20 °C e precipitação anual de 1500 – 2500 mm (AFOAKWA, 2010; KIM; LEE; LEE, 2011). O cacauero começa a produzir aos 4 anos, atingindo plena produtividade aos 12 e produz, em média, até 35 anos. A época de colheita é variável nas zonas cacaueras. No Brasil a safra vai de maio a setembro. O fruto aparece na árvore de quatro a seis meses após a floração e é composto por casca, polpa e sementes. A relação peso/volume do fruto é 1:2, sendo que a casca representa 75% do total (OETTERER, 2006).

O comprimento das sementes de cacau varia entre 21 e 29 mm, a largura entre 10 a 17 mm e sua espessura entre 8 a 12 mm. As sementes são constituídas por um embrião e dois cotilédones recobertos por um envoltório denominado testa ou tegumento (LOPES et al., 2000). Os cotilédones constituem cerca de 82% e a testa e o embrião representam 17% e 1%, respectivamente (LOPES, 2000).



As sementes de cacau são envolvidas por uma polpa doce, mucilagínosa com 80% de umidade e 15% de monossacarídeos, sendo que cada fruto é composto por aproximadamente 25 a 75 sementes (14 a 30% da massa total). Normalmente, as sementes de cacau são brancas, mas tornam-se violeta ou marrom avermelhado durante o processo de fermentação e secagem (OETTERER, 2006; KIM, LEE, LEE, 2011).

### 2.1.1 Variedades

O gênero *Theobroma* contém cerca de 22 espécies. As espécies encontradas no Brasil e restritas à bacia Amazônica são: *T. grandiflorum*, *T. obovatum*, *T. subincanum*, *T. speciosum*, *T. sylvestre*, *T. microcarpum*, *T. glaucum*, *T. canumanense*, *T. bicolor* e *T. cacao* (CUATRECASAS, 1964).

Na Amazônia brasileira, até a década de 60, o cultivo do cacauzeiro foi estabelecido com sementes provenientes de populações naturais (tradicional) ou de plantações cultivadas à beira dos rios (ALMEIDA; NETO, 2000). A utilização de sementes de variedades melhoradas no Brasil ocorreu apenas a partir dos anos 60, com a criação do CEPEC (Centro de Pesquisas do Cacau) pela CEPLAC (Comissão do Plano da Lavoura Cacaueira).

As principais variedades da espécie *Theobroma cacao* destinadas ao processamento de chocolate e derivados de cacau são *Criollo*, *Forasteiro* e *Trinitário* (Figura 2.2), sendo este último um híbrido genético de *Criollo* e *Forasteiro*. Essas variedades são consideradas tradicionais e classificadas com base em características morfológicas e origens geográficas (RUSCONI; CONTI, 2010).



**Figura 2.1.** Principais variedades da espécie *Theobroma cacao*. (Foto: EFRAIM, 2004).

A variedade *Criollo* é cultivada principalmente no Equador. Devido a sua maior suscetibilidade a doença ‘Vassoura-de-bruxa’ é raramente utilizada pelas indústrias de chocolate, sendo apenas beneficiado 5-10%. Esta variedade possui sementes grandes, cotilédone branco ou violeta claro, com odor característico de cacau doce e delicado. Sementes dessa variedade, quando corretamente processados, originam chocolates e outros derivados com sabor mais frutado, suave, menos amargo e bastante aromático (RUSCONI, CONTI, 2010; EFRAIM, ALVES, JARDIM, 2011).

A variedade *Forasteiro* possui várias sub-variedades e é mais resistente à pragas do que a variedade *Criollo*, o que torna seus grãos mais baratos e competitivos na produção de chocolate (80% da produção). Os frutos apresentam forma mais arredondada e casca com superfície dura e quase lisa. As sementes são firmemente alojadas na polpa e têm formato achatado, de forma quase triangular; possuem cotilédones intensamente pigmentados de cor violeta e sabor mais ácido e adstringente do que as outras variedades (OLIVEIRA, 2005, AFOAKWA, 2010; RUSCONI, CONTI, 2010; EFRAIM, ALVES, JARDIM, 2011). Efraim, Alves, Jardim (2011) relataram que os atributos sensoriais de sabor amargor e adstringência foram mais pronunciados em produtos derivados de cacau *Forasteiro* do que produtos derivados de cacau *Criollo* devido as sementes de cacau da variedade *Forasteiro* terem apresentado de 30 a 60% mais compostos fenólicos que na variedade *Criollo*.

A variedade *Trinitario* é resultante da hibridização entre árvores da variedade *Criollo* e *Forasteiro*, porém, bioquimicamente, pesquisas mostram que o fruto possui característica mais semelhante ao cacau *Criollo*. Os cotilédones das sementes possuem coloração variando de branca à violeta pálido. Esta variedade é utilizada em cerca de 10-15% da produção de chocolate (AFOAKWA, 2010; RUSCONI, CONTI, 2010).

Vários estudos de melhoramento genético de cacauzeiros foram desenvolvidos e diante da dificuldade de classificação das variedades devido à ampla variedade genética, Motamayor et al. (2008) sugeriram uma classificação abrangendo dados da diversidade genética contrapondo a tradicional classificação em *Criollo*, *Forasteiro* e *Trinitário*, a qual é baseada apenas nas características morfológicas e origens geográficas. Nessa classificação os autores propuseram que os germoplasmas de *Theobroma cacao* fossem divididos em dez grupos genéticos distintos: *Amelonado*, *Contamana*, *Criollo*, *Curaray*, *Guiana*, *Iquitos*, *Marañon*, *Nacional*, *Nanay* e *Purús*.

### 2.1.2 Composição química

A polpa de cacau é rica em açúcar, com aproximadamente 15% de monossacarídeos e 84% de umidade, 0,20 % de lipídios e 0,8% de proteínas. O valor de pH é de 3,5 a 3,6 e o principal ácido presente é o ácido cítrico (OETTERER, 2006; PUGLIESE, 2010).

A composição química das sementes de cacau, assim como diversos vegetais, depende de diversos fatores como: variedade, origem, técnicas agrícolas, clima, solo, e o grau de maturação dos frutos (LOPES, 2000; MATTIETTO, 2001; EFRAIM et al., 2011), a Tabela 2.1 apresenta a composição química média para as sementes de cacau.

**Tabela 2.1.** Composição química média das sementes de cacau

<b>Constituintes</b>	<b>% p/p*</b>
Lipídios	56,0
Cinzas	2,8
Teobromina	1,4
Cafeína	0,2
Polifenóis	6,5
Proteína bruta	12,0
Açúcares	1,2
Amido	6,3
Pentosanas	1,6
Celulose	9,5
Ácidos carboxílicos	1,7
outros compostos	0,8

\* resultados expressos em base seca. (Fonte: Minifie, 1970).

As sementes de cacau sofrem profundas alterações na sua composição química durante os processos de fermentação, secagem e torração (perda de ácidos voláteis). Nessas etapas ocorre o desenvolvimento do aroma e do sabor de chocolate, com a diminuição dos teores de nitrogênio total, lipídios, carboidratos e fenóis (SPOLADORE, 1983).

### 2.1.3 Produção mundial e nacional de cacau

Desde o início do século XX até os dias atuais a produção mundial de amêndoas de cacau aumentou de 115.000 toneladas para 3.700.000 toneladas, sendo que o valor comercial corresponde a aproximadamente US\$ 7,5 bilhões (ICCO, 2011).

Os principais países produtores de cacau são Costa do Marfim, Gana, Indonésia, Nigéria, Camarões, Brasil e Equador. Nestes países existe uma série de pequenos produtores, principalmente do cacau 'fino', que apresenta características de sabor especiais (frutado, floral, caramelado, mel, etc.) e compreende menos de 5% do comércio mundial (AFOAKWA, 2010; ICCO, 2011). A produção brasileira de cacau entre 2010 e 2011 foi de 153 milhões de toneladas métricas (mtm) (Tabela 2.2).

**Tabela 2.1** Produção mundial de cacau entre 2010 e 2011.

	Área (ha)		Rendimento (Kg/ha)		Produção (mtm)		Variação Produção (mtm)
	2010/2011	2011/2012	2010/2011	2011/2012	2010/2011	2011/2012	
Costa do Marfim	2.210	2.210	543	520	1.300	1.150	-12
Gana	1.225	1.225	592	694	800	850	+6
Indonésia	510	510	980	1.176	500	600	+20
Nigéria	610	610	402	426	245	260	+6
Camarões	400	400	550	600	220	240	+9
Outros	210	210	752	752	158	158	0
Brasil	660	660	232	232	153	153	0
Equador	290	290	400	400	116	116	0
Toga	36	36	1.528	1.667	55	60	+9
Papua NG	118	118	407	407	48	48	0
Republica Dominicana	95	95	484	484	46	46	0
México	88	88	386	386	34	34	0
Malásia	68	68	412	412	28	28	0
Colômbia	98	98	286	286	28	28	0
<b>Produção mundial</b>	<b>6.618</b>	<b>6.618</b>	<b>537</b>	<b>570</b>	<b>3.731</b>	<b>3.771</b>	<b>+30</b>

Fonte: ICCO, 2011.

Segundo a Câmara Setorial Nacional do Cacau, o Brasil tende se tornar referência mundial em qualidade de cacau e chocolate, pela possibilidade de inovação na cadeia produtiva, por ser o quarto maior consumidor de chocolate do mundo e o sexto maior produtor de amêndoas – com a maior diversidade deste fruto em todo o planeta (SAGRI, 2011).

Segundo dados do IBGE (2013) (Tabela 2.3), as Regiões Norte e Nordeste são as principais produtoras de cacau, sendo responsáveis por mais de 96% da produção nacional. Da produção total, que em 2012 atingiu 256 mil toneladas, cerca 62% foi produzido no Estado

da Bahia, 26% no Pará, 6% em Rondônia, 3% no Espírito Santo, 1,8% no Amazonas e 0,2% em Mato Grosso.

Nos últimos anos o Pará se consagrou como o segundo maior produtor de cacau, atrás apenas da Bahia (Tabela 2.3). Estes números estão aquecendo a economia local, fomentando a competitividade da produção e atraindo novos investidores (SAGRI, 2013; IBGE, 2013).

**Tabela 2.3** Quantidade produzida de cacau (ton) de 2010 à 2013.

<b>Grandes Regiões e Unidades Federativas</b>	<b>2010</b>	<b>2011</b>	<b>2012</b>	<b>2013*</b>
<i>Região Norte</i>	76.248	77.329	88.323	103.125
Pará	57.893	59.054	67.299	80.596
Rondônia	17.486	17.434	16.418	17.923
Amazonas	869	841	4.606	4.606
<i>Região Nordeste</i>	142.892	139.448	159.432	146.175
Bahia	142.892	139.448	159.432	146.175
<i>Região Sudeste</i>	12.510	8.246	8.309	4.741
Espírito Santo	12.510	8.246	8.309	4.741
<i>Região Centro-oeste</i>	646	668	576	582
Mato Grosso	646	668	576	582

FONTE: IBGE, 2013. \*valores médios estimados em abril de 2013.

No Brasil, a Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira – CEPLAC é um órgão do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, responsável entre outras por realizar pesquisas sob o cacau e atua em seis estados do Brasil: Bahia, Espírito Santo, Pará, Amazonas, Rondônia e Mato Grosso. Entretanto, a prioridade atual consiste na recuperação da economia regional, no apoio à implantação de agroindústrias e o plantio e/ou expansão de novos cultivos para produção de cacau saudável; e, na implementação de ações voltadas para a conservação ambiental (SAGRI, 2011; CEPLAC, 2012). Desta forma, faz-se necessário o desenvolvimento de pesquisas relacionadas aos aspectos tecnológicos do pré-processamento do cacau, visto que o Brasil representa um importante mercado para a indústria de chocolates e produtos derivados.

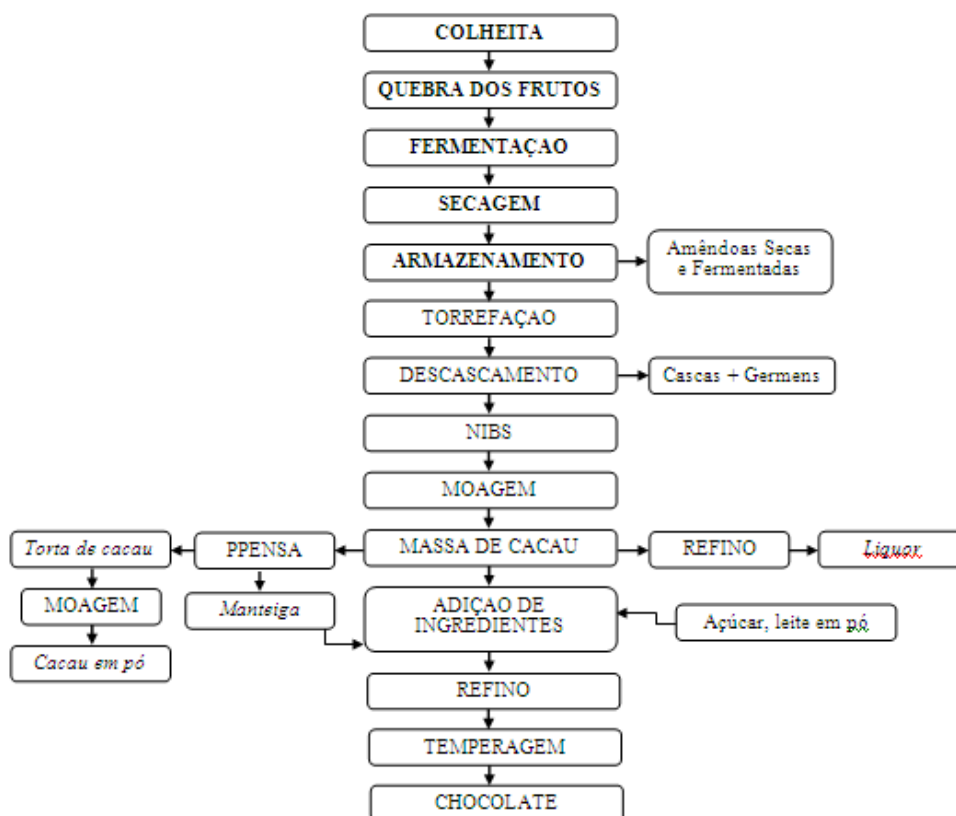
A CEPLAC possui uma proposta para a execução de um Programa de Desenvolvimento da Cadeia Produtiva da Cacaucultura no Estado do Pará, resultante de um desejo do governo paraense, através de sua secretaria de agricultura, de ver o Estado galgar a posição de destaque na produção brasileira do cacau, em um horizonte temporal de 8 anos

saindo dos atuais 110 mil hectares para 220 mil de cacauzeiros plantados, elevando a produção de 60 mil toneladas para 260 mil toneladas (CEPLAC, 2011).

Apesar do potencial que o setor de fruticultura representa para a Região Norte, este ainda é fracamente explorado. No Estado do Pará mais de 80% do beneficiamento de frutas é destinado à indústria de polpa e/ou suco, o que não constitui uma maior agregação de valor e não oferece uma maior diversidade de produtos, caracterizando a região apenas como fornecedora de matéria prima (SAGRI, 2011).

## 2.2 PRÉ-PROCESSAMENTO DO CACAU

A cadeia produtiva do cacau (Figura 2.3) apresenta diferentes etapas para obter seus produtos derivados, sendo que as etapas de pré-processamento são as comuns e fundamentais na produção e formação da qualidade sensorial e nutricional desses produtos.



**Figura 2.3.** Fluxograma da cadeia produtiva do cacau. (Adaptado de Leite, 2012).

O pré-processamento do cacau consiste nas seguintes etapas: colheita do fruto, operações de quebra ou abertura dos frutos, fermentação das sementes com a polpa aderida,

secagem e armazenamento (LEITE, 2012). Durante essas etapas o cacau tem seus precursores de sabor gerados e alguns de seus constituintes modificados.

Segundo Minifie (1989), as etapas de fermentação e a secagem das sementes de cacau são de vital importância para a qualidade dos produtos derivados de cacau, sendo que nenhum outro processamento posterior é capaz de corrigir falhas nesta etapa. Conforme relatos de alguns autores, são nas etapas de fermentação e secagem que ocorrem as maiores transformações bioquímicas dos componentes da semente de cacau, dentre esses estão os compostos fenólicos (BRITO 2000; LOPES, 2000; MATTIETTO, 2001, EFRAIM, 2004; EFRAIM et al., 2010).

As sementes de cacau não têm valor comercial, mesmo estando secas, apenas depois da fermentação e secagem é que o cacau poderá ser um produto de qualidade comercial para indústria e exportável (OETTERER, 2006). A qualidade das amêndoas de cacau depende de muitos fatores como a variedade do cacaueiro, manejo agrônômico, fatores do solo, condições climáticas, e a tecnologia pós-colheita. Portanto, é necessária a avaliação dos parâmetros físicos, químicos e organolépticos para determinar essa qualidade (BRUNETTO et al., 2007)

### **2.2.1 Colheita**

O desenvolvimento do fruto do cacaueiro, desde a fecundação até a maturação, demanda o tempo de cerca de seis meses. Na prática, a maturidade do fruto é reconhecida geralmente pela mudança da cor do mesmo. Por ocasião da colheita, é essencial colher apenas frutos maduros, pois somente estes possuem açúcar e outros substratos em quantidade adequada para uma boa fermentação (LOPES, 2000).

A época de colheita depende das condições climáticas de cada região. No Brasil o cacau é colhido praticamente durante o ano inteiro, distinguindo-se dois períodos de safra: o principal de outubro a janeiro e o secundário de maio a agosto. O cacau colhido no segundo período da safra é conhecido como cacau temporão (CRUZ, 2002).

Os frutos colhidos podem ficar no campo por um período de três a quatro dias (CEPLAC, 1980). Este intervalo de tempo é aconselhável para que a separação das sementes da casca seja facilitada e que o fruto passe pelo período pós-colheita, que tem por finalidade

liberar os açúcares contidos na polpa que envolve as sementes, os quais são indispensáveis na fermentação (ARAGÃO, 1992; CRUZ, 2012).

### 2.2.2 Quebra dos frutos

A quebra dos frutos é normalmente realizada no campo. Os frutos são abertos e do seu interior são retirados as sementes envolvidas numa polpa doce e branca. As sementes são reunidas em recipientes, de preferência tanques, para que as perdas de polpa se reduzam ao mínimo. A massa constituída pelas sementes de cacau e polpa que as envolve é conhecida como ‘cacau em goma’ (Figura 2.4.). Esta massa deve ser conduzida o mais rapidamente possível para os locais onde são realizadas as fermentações. Separam-se as sementes com defeitos visíveis, como as sementes germinadas (quando entre a colheita e a quebra se passa muito tempo), as sementes pedradas, as sementes atacadas por fungos, entre outras que devem ser tratadas à parte para produzirem um cacau de ‘segunda qualidade’ (FERRÃO, 2007).



**Figura 2.24.** Sementes de cacau (Fonte: Afoakwa, 2010).

O período entre a quebra e o início da fermentação não deve ser superior a 24 horas para que não ocorram reações químicas indesejáveis. Sementes provenientes de quebras em dias diferentes não devem ser fermentadas juntas, pois isso conduz a uma fermentação desigual. Quando o prazo de 24 horas é excedido, os dias entre a quebra dos frutos e o início da fermentação devem ser contados como dias de fermentação (CEPLAC, 1980; BECKETT, 1994; EFRAIM, 2004).



### 2.2.3 Fermentação

A fermentação é o segundo método mais antigo de preservação de alimentos, perdendo apenas para o processo de secagem. Originário do Oriente (China e Japão), o processo de fermentação foi introduzido na Europa e Estados Unidos, onde sofreu inúmeras adaptações (GOLDONI; GOLDONI, 2008). Tornou-se popular com o desenvolvimento da civilização, pois não apenas conserva os alimentos, mas também lhes atribui variedade de gostos, formas e outras características sensoriais. Aos poucos, as pessoas perceberam o valor nutritivo e terapêutico dos alimentos fermentados, e isso os fez ainda mais populares (PRAJAPATI; NAIR, 2008).

A fermentação do cacau é um processo microbiológico espontâneo. Após a abertura do fruto as sementes de cacau são contaminadas com uma variedade de micro-organismos (leveduras, bactérias acéticas e lácticas) provenientes das mãos dos agricultores, da superfície dos frutos, dos facões, transporte e entre outros (SCHWAN, WHEALS, 2004; FERRÃO, 2007; NIELSEN et al., 2007). Segundo Forsyth e Quesnel (1958), esse processo apresenta duas fases que frequentemente se sobrepõem e que são bastante definidas e distintas em relação as reações que ocorrem no interior do cotilédone:

- A primeira fase do processo inicia-se muito rapidamente e tem o crescimento das leveduras favorecido, devido ao teor de açúcar da polpa (15% de monossacarídeos), pH em torno de 3,5, e condição anaeróbica. As leveduras produzem etanol usando todo o açúcar da polpa, chegando a um determinado ponto da fermentação onde o próprio álcool inibe o crescimento desse micro-organismo. Esta fase da fermentação é moderadamente exotérmica (93,3 kJ por mole de glicose consumida), levando a um relativo aumento na temperatura da massa que varia de 35 a 40°C, e é imprescindível no desenvolvimento da fase de fermentação posterior (JESPERSEN et al., 2005; FERRÃO, 2007).

As leveduras rapidamente consomem o oxigênio presente na massa que está fermentando e no máximo após 24 horas criam condições favoráveis para o desenvolvimento de bactérias (THOMPSON, MILLER, LOPEZ, 2001). Normalmente, a partir do segundo dia até o final do processo se realiza o revolvimento da massa que está fermentando para controlar o nível de acidez, para que a temperatura não ultrapasse 45°C, e não inative as

enzimas endógenas (necessárias no desenvolvimento do aroma e sabor dos produtos derivados de cacau (SCHWAN et al, 1990; OETTERER, 2006).

- As bactérias acéticas se tornam predominantes, produzindo ácido acético a partir da oxidação do etanol, gerando calor e dióxido de carbono. O calor e a concentração de ácido acético causam a morte do embrião da semente com consequente perda da permeabilidade seletiva das membranas. É a partir deste momento que as sementes podem ser chamadas de amêndoas de cacau. Depois da morte do embrião, enzimas da semente (proteases, polifenoloxidasas) e substratos (proteínas, antocianinas, flavanóis), previamente separados em células especializadas, interagem e reagem de modo específico em resposta ao calor e decréscimo do pH (THOMPSON, MILLER, LOPEZ, 2001; SCHWAN, WHEALS, 2004; FERRÃO, 2007).

Na segunda fase da fermentação ocorre uma condensação oxidativa. Ressalta-se a oxidação dos polifenóis que formam ou não complexos com as proteínas e peptídeos levando a redução da adstringência e do amargor e, também, a transformação da cor púrpura a marrom. A oxidação observada nesta fase continua na etapa de secagem até que a umidade atinja um ponto mínimo no qual cessa a atividade da polifenoloxidase (EFRAIM, 2004; LEITE, 2012).

As bactérias lácticas também apresentam atividade metabólica durante a fermentação do cacau. De acordo com Schwan e Wheals (2004), as bactérias lácticas estão presentes desde o início da fermentação, mas só se tornam dominante entre 48 e 96 horas de processo, convertendo açúcares e alguns ácidos em ácido lático.

Os sistemas fermentação de fermentação mais comumente utilizados são: montes, cestos, caixas de madeira cobertas com folhas de bananeira (Figura 2.5), sacos de lona, gavetas de madeira, sendo a maioria do cacau processada conforme os três primeiros sistemas (FORSYTH; QUESNEL, 1957; AFOAKWA, 2010). A fermentação em montes e cestas é realizada em propriedades que possuem pequena produção de cacau, porém a maior parte dos produtores rurais utiliza caixas de madeira (CEPLAC, 1980).

No processo de fermentação, o sistema, a temperatura do ambiente e da massa, o pH e a acidez da polpa e do cotilédone, o tempo de processo, o revolvimento da massa bem como

a microflora presente são fatores de grande importância (ROHAN; CONNEL, 1964; LOPEZ; QUESNEL, 1973; AFOAKWA, 2010).



**Figura 2.25.** Métodos de fermentação mais utilizados: montes (a), cestas (b) e caixas (c). (Fonte: Afoakwa, 2010)

A temperatura alcançada na massa é um bom indicador de acompanhamento da fermentação. Se o aumento for muito lento ou não for alcançada uma temperatura suficientemente alta, o produto obtido será constituído de sementes germinadas e mal fermentadas. A temperatura se eleva mais rapidamente na parte superior da massa do que no centro, essa diferença é proporcional ao volume da massa (ZAMALLOA, 1994).

Segundo Soares (2001), a quantidade de massa de sementes de cacau é um dos fatores que afetam a fermentação e deve haver uma quantidade mínima de sementes que para ter um processo de fermentação satisfatório. Conforme Oetterer (2006), a altura máxima de leito (massa de semente de cacau no sistema) é de 90 a 110 cm, uma vez que não há aeração homogênea durante a fermentação.

O tempo requerido para a fermentação das sementes varia de acordo com material genético. No caso da variedade *Forasteiro*, as sementes devem ser, geralmente, fermentadas por períodos superiores a cinco dias para a ocorrência das principais reações que levam à formação dos principais precursores de sabor do chocolate (EFRAIM, ALVES, JARDIM, 2011).

#### 2.2.4 Secagem

O processo de secagem deve ser iniciado imediatamente após a fermentação. Muitas das reações bioquímicas iniciadas na fermentação continuam durante a secagem, permitindo a redução do amargor, da adstringência e da acidez das amêndoas, além do escurecimento dos cotilédones (BECKETT, 2009).

A temperatura e o tempo de secagem são fatores importantes na qualidade final das amêndoas. O ideal está na faixa de 35°C a 40°C, pois é a faixa de temperatura considerada ótima para ação da enzima. O uso de temperaturas mais baixas ou mais elevadas conduz à perda da qualidade, visto que a enzima age lentamente ou é destruída. O tempo ótimo desta etapa é de 4 a 5 dias, sendo que a inicial é de 50% a 55%. Após a secagem, as amêndoas de cacau devem ter teor de umidade máxima de 8% (BRASIL, 2008) para um correto armazenamento e transporte e evitar o desenvolvimento de fungos acima de 8%, e a quebra da amêndoa (OETTERER, 2006; ANKLAM e WOLLGAST, 2000).

Para a secagem do cacau utilizam-se duas técnicas: a secagem natural e a secagem artificial, sendo a quantidade de amêndoas de cacau e as condições climáticas determinantes na escolha da técnica a ser aplicada. A natural ou secagem ao sol é uma operação simples e muito utilizada, sendo realizada em barcaças (espécies de bandeja de madeira fixas com teto móvel) ou bações (bandejas móveis com teto fixo). Quando a colheita coincide com um período chuvoso, ou quando o espaço disponível nas barcaças não é suficiente para comportar o volume da produção, a secagem é realizada em secadores especiais, através do calor da queima de madeira ou outro combustível, ou ainda através de secadores solares (CRUZ, 2002).

Normalmente, no processo de secagem as amêndoas também são revolvidas, devido a necessidade de fornecimento de oxigênio para as enzimas e remoção uniforme da umidade. A secagem deve demorar certo tempo para a ação enzimática ocorrer (OETTERER, 2006).

A secagem ao sol permite a obtenção de produtos com melhor qualidade sensorial em relação à secagem realizada de forma artificial em estufa (FABORODE, FAVIER, AJAYI, 1995). Estudo de Efraim et al. (2010) demonstrou haver maior retenção de polifenóis na

secagem natural, possivelmente por ser realizada em temperaturas mais brandas que na secagem artificial.

Kyi et al. (2005) estudaram a influência de diferentes temperaturas de secagem (40-60°C) e percentual de umidade (50-80%) na reação de oxidação de polifenóis. Eles observaram que quanto maior a temperatura e a umidade, maior é a oxidação dos polifenóis presentes no cacau. Na literatura científica são escassos estudos sobre a influência dos tipos de secagem na redução de compostos fenólicos.

Durante o processo de secagem a redução do teor de compostos fenólicos é atribuída às reações de escurecimento enzimático e não enzimático. O escurecimento enzimático é provocado pela ação da polifenoloxidase que encontra condições ideais nessa etapa para sua atividade. O escurecimento não enzimático é decorrente da polimerização das quinonas resultantes e da acumulação de compostos insolúveis (BRITO 2000; EFRAIM, ALVES, JARDIM, 2011).

### **2.2.5 Armazenamento**

Esta etapa assume importância devido ao longo tempo em que o cacau pode permanecer armazenado. Começa na fazenda produtora em sacos de aniagem de 60 kg por cerca de 30 dias, depois nas cooperativas vários meses e nos armazéns dos portos por cerca de 15 dias (OETTERER, 2006).

As instalações destinadas ao armazenamento de cacau devem possuir luminosidade e aeração adequadas. Em locais onde a umidade relativa do ar é muito alta, como é o caso da região cacauzeira da Bahia no inverno, ainda que o cacau esteja bem seco (6% umidade), este rapidamente absorve umidade do ar até alcançar o ponto de equilíbrio com o ambiente. Nessas condições, a umidade das amêndoas ultrapassa o limite de 8%, ponto crítico onde o mofo começa a se desenvolver. Recomenda-se o armazenamento do cacau acondicionado em sacos de polietileno ou cobrindo totalmente as pilhas de saco de juta com lonas plásticas (SERRA, 2004).

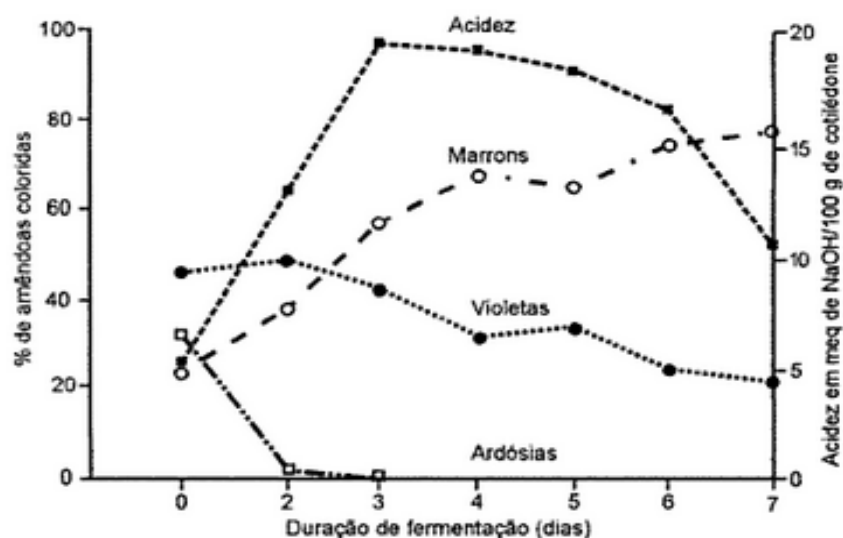
### 2.3 AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DAS AMÊNDOAS - PROVA DE CORTE

A prova de corte é a principal forma de avaliar a qualidade das amêndoas fermentadas e secas, esse teste é utilizado mundialmente como forma de classificar e caracterizar lotes quanto à sua qualidade (ICCO, 2011; BRASIL, 2008).

A avaliação das amêndoas através da prova de corte nos dá um indicativo da presença de compostos fenólicos nos ensaios (EFRAIM, 2004; EFRAIM et al. 2010), visto que os cotilédones de sementes de cacau *Forasteiro* possuem coloração violácea intensa (presença de compostos fenólicos) e durante a fermentação há uma difusão dos conteúdos celulares que permite diversas reações bioquímicas, enzimáticas e de oxidação dos compostos fenólicos, as quais propiciam um escurecimento dos cotilédones para coloração marrom e a formação de sulcos (depressão linear encontrada no interior dos cotilédones) (BRITO 2000; EFRAIM et al, 2011).

A prova de corte é realizada após o corte longitudinal da amêndoa de cacau, para a avaliação de uma metade. Trezentas amêndoas são retiradas de uma amostra de 500g do lote. Esta prova geralmente mensura o grau de fermentação das amêndoas pela coloração (marrom, parcialmente marrom, violeta, ardósia) e compartimentação dos cotilédones (bem, parcialmente ou pouco compartimentada), assim como avalia a presença de fungos, infestações por pragas durante a estocagem, amêndoas germinadas (provenientes de frutos sobre-maduros) e achatadas, além do aroma externo e após o corte, entre outros parâmetros. Também são realizadas medidas da umidade e da massa de 100 amêndoas (EFRAIM et al., 2010).

A coloração e a compartimentação das amêndoas de cacau são indicadores da ocorrência de importantes reações bioquímicas durante a fermentação e secagem, como a ruptura das membranas celulares e o contato de substâncias que antes encontravam-se separadas, como das enzimas com os compostos fenólicos (EFRAIM et al., 2010). A mudança de cor da amêndoa de roxo para marrom (Figura 2.6) indica uma amêndoa bem fermentada, que apresenta normalmente aroma agradável de vinagre (OETTERER, 2006).



**Figura 2.36.** Evolução da coloração das amêndoas durante a fermentação (Oetterer, 2006).

A classificação dos lotes é dada de acordo com as características mensuradas e varia de acordo com normas estabelecidas em cada país produtor ou comprador de cacau (SHAUGHNESSY, 1992 apud EFRAIM et al., 2010). De acordo com Brasil (2008), as amêndoas de cacau podem ser classificadas em Tipos de acordo com os percentuais de tolerância de defeitos previstos (Tabela 2.3).

**Tabela 2.4** Classificação de amêndoas de cacau conforme tolerância de defeitos (%).

Enquadramento do Produto	Defeitos					
	Aroma de Fumaça	Mofadas	Danificadas por insetos	Ardósia	Germinadas	Achatadas
Tipo 1	0 à 1%	0 à 4%	0 à 4%	0 à 5%	0 à 5%	0 à 5%
Tipo 2	1 à 4%	4 à 6%	4 à 6%	5 à 10%	5 à 6%	5 à 6%
Tipo 3	4 à 6%	6 à 12%	6 à 8%	10 à 15%	6 à 7%	6 à 7%
Fora de Tipo	6% <	12 à 25%	8% <	15% <	7% <	7% <

Na classificação de amêndoas de cacau são avaliados seis tipos de defeitos. A presença de aroma de fumaça, característico de defumados. Amêndoas que apresentam desenvolvimento interno de fungos, visíveis ao olho (mofadas) e danificadas por insetos. Amêndoas não fermentadas, de coloração cinzento-escuro (cor de ardósia) ou roxa, com embrião branco ou marfim e que podem se apresentar compactas. Amêndoas que possuem a testa rompida pelo desenvolvimento do embrião (germinadas) e apresentam ausência de cotilédono ou que são tão finas que não permitam o corte (achatadas).

O artigo 10 do Regulamento Técnico da Amêndoa de Cacau estabelece que a amêndoa de cacau deve apresentar-se fisiologicamente desenvolvida, sã, limpa e seca, observadas as tolerâncias previstas. A umidade deverá ser obrigatoriamente determinada, mas não será considerada para efeito de classificação, sendo recomendado para fins de comercialização da amêndoa o percentual máximo de 8% para os Tipos 1 e 2 e 9% para o Tipo 3 e Fora de Tipo (BRASIL, 2008).

## 2.4 COMPOSTOS FENÓLICOS

### 2.4.1 Considerações gerais

Os compostos fenólicos constituem o maior e mais distribuído grupo de moléculas do reino vegetal, apresentando mais de 10.000 compostos atualmente identificados, que incluem desde estruturas moleculares simples até moléculas altamente polimerizadas. São produtos do metabolismo secundário de vegetais, possuem em sua estrutura molecular pelo menos um anel aromático ligado a um ou mais grupamentos hidroxilas (TAIZ; ZEIGER, 2004; EFRAIM, ALVES, JARDIM, 2011).

Os polifenóis podem ser agrupados de acordo com a massa molecular, sendo que a classe de baixa massa molecular compreende os ácidos hidroxibenzóicos e hidroxicinâmicos; a classe de massa molecular intermediária, os flavonóides, considerada a maior e mais importante; e, entre os de alta massa molecular, estão os taninos condensados e os taninos hidrolisáveis (MANACH et al., 2004; RUSCONI; CONTI, 2010; EFRAIM, ALVES, JARDIM, 2011).

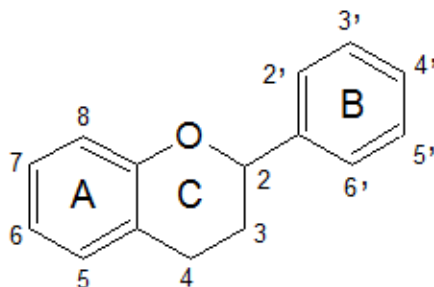
Por se tratar de um amplo grupo, os compostos fenólicos podem ser classificados, dependendo da sua estrutura básica, em classes como fenóis simples, ácidos fenólicos, acetofenonas, ácidos fenilacéticos, ácidos hidroxicinâmicos, fenilpropenos, cumarinas, xantonas, antraquinonas, flavonóides, lignanas e ligninas, entre outras (WOLLGAST e ANKLAM, 2000).

Nesta revisão serão enfatizados os principais polifenóis encontrados nas sementes de cacau, como flavonóides, ácidos fenólicos e dos taninos, sendo este último à classe de

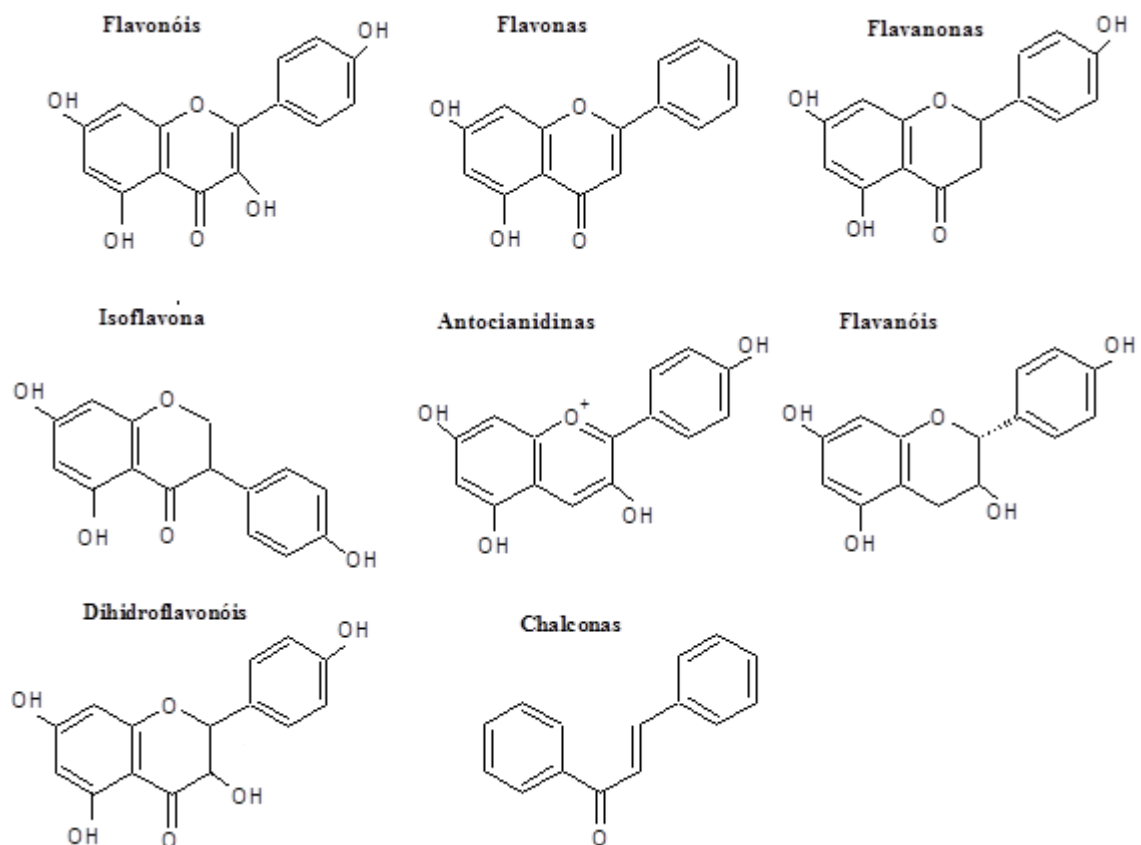


compostos fenólicos mais abundantes em plantas, e o quarto maior constituinte abundante nos vegetais, perdendo apenas para a celulose, hemicelulose e lignina (SCALBERT, 1992).

Os flavonóides estão amplamente distribuídos nos vegetais, onde estão presentes no interior das células ou nas superfícies dos diferentes órgãos vegetais (folhas, sementes, flores, cascas e raízes) (MANACH et al., 2004). Os compostos deste grupo seguem uma estrutura básica C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> (Figura 2.7), sendo dois anéis aromáticos (A e B). Os flavonóides diferem na saturação do anel heteroatômico C, na localização do segundo anel aromático nas posições C-2 ou C-3 do anel C, e em todos os padrões de hidroxilação. De acordo com a estrutura molecular podem ser divididos em 8 classes (Figura 2.8). (KUMAR et al., 2011).



**Figura 2.47.** Estrutura básica dos flavonóides



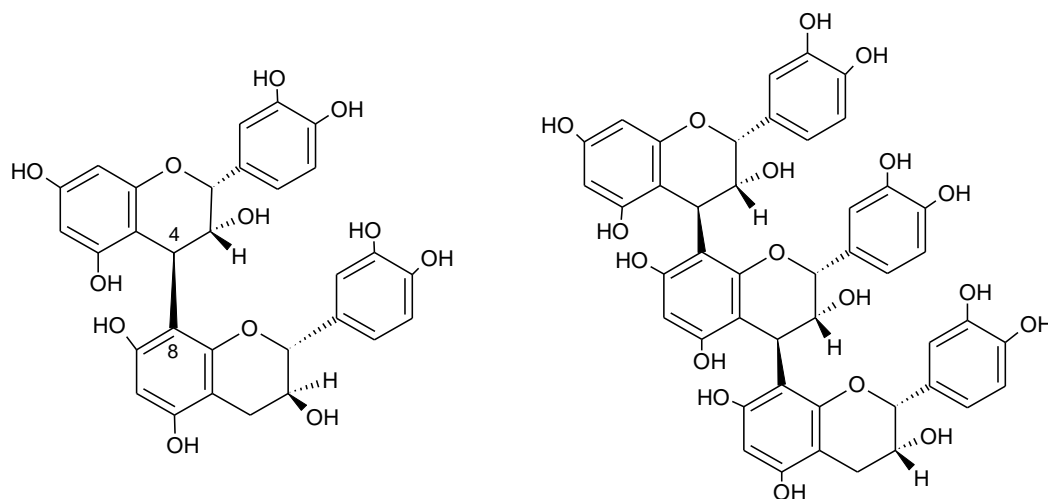
**Figura 2.4.** Estrutura química de diferentes classes de flavonóides.

Os taninos constituem uma família de polifenóis, que compreende compostos de elevado peso molecular, oligômeros (até 10 unidades de base) e polímeros (acima de 10 unidades de base) de flavonóides que alcançam um grau de polimerização que varia de dois a cinquenta (SCHOFIELD; MBUGUA; PELL, 2001) e conferem sabor amargo e adstringente aos vegetais.

Baseado em suas estruturas químicas, os taninos são classificados em taninos condensados (proantocianidinas), taninos hidrolisáveis (galotaninos e elagitaninos) e taninos complexos. Os taninos complexos possuem estruturas tanto de procianidinas como de taninos hidrolisáveis (HAGERMAN, 2002).

As unidades monoméricas das proantocianidinas são ligadas entre si por ligações carbono-carbono (C-C) entre a posição C4 de uma unidade e a posição C8 ou C6 da unidade subsequente (proantocianidinas dos tipos B e C) (Figura 2.9) e ainda há aqueles com uma

ligação suplementar do tipo éter ( $C_2-O-C_7$  ou  $C_2-O-C_5$ ) (proantocianidinas do tipo A) (HAGERMAN, 2002).



(a) B1: (-)-epicatequina-(4β->8)-(+)-catequina      (b) C1: (-)-epicatequina-(4β->8)-(-)-catequina(4β->8)-(-)-epicatequina

**Figura 2.4.** Modelo estrutural de proantocianidinas diméricas do tipo B (a) e triméricas do tipo C (b). (Fonte: adaptado de Carvalho, 2007).

Os compostos fenólicos geralmente possuem elevada capacidade antioxidante por possuir capacidade de capturar radicais livres e também apresentam atividade antimicrobiana (ANKLAM; WOLLGAST, 2000).

## 2.4.2 Polifenóis do cacau

Os flavanóis são a classe de flavonóides mais abundante na semente de cacau, sendo a (+)-catequina e a (-)-epicatequina os principais representantes. A (-)-epicatequina tem sido reportada como o principal flavanol monomérico do cacau, representando aproximadamente 35% do total de compostos fenólicos (WOLLGAST; ANKLAM, 2000). Cada semente de cacau possui aproximadamente 10% de polifenóis na fração seca e desengordurada (ORTEGA et al., 2008; RUSCONI; CONTI, 2010).

As sementes de cacau também contêm uma série complexa de proantocianidinas e são encontradas em altas concentrações no cacau em pó, chocolate, uvas, vinho, maçã e amendoim. Por serem moléculas altamente hidroxiladas, podem formar compostos insolúveis ao se complexarem com carboidratos e proteínas. Durante a degustação de alimentos com alto

teor destes compostos, pode ocorrer a complexação das procianidinas com proteínas da saliva, o que confere a sensação de adstringência (ANKLAN; WOLLGAST, 2000).

Variações nos teores de polifenóis encontrados em cacau e derivados podem ter sua origem nas metodologias analíticas empregadas para sua extração e quantificação, assim como na genética da planta, no clima, nas práticas de cultivo e pós-colheita, e nos processos tecnológicos utilizados para a obtenção dos produtos, entre outros (ANKLAN; WOLLGAST, 2000).

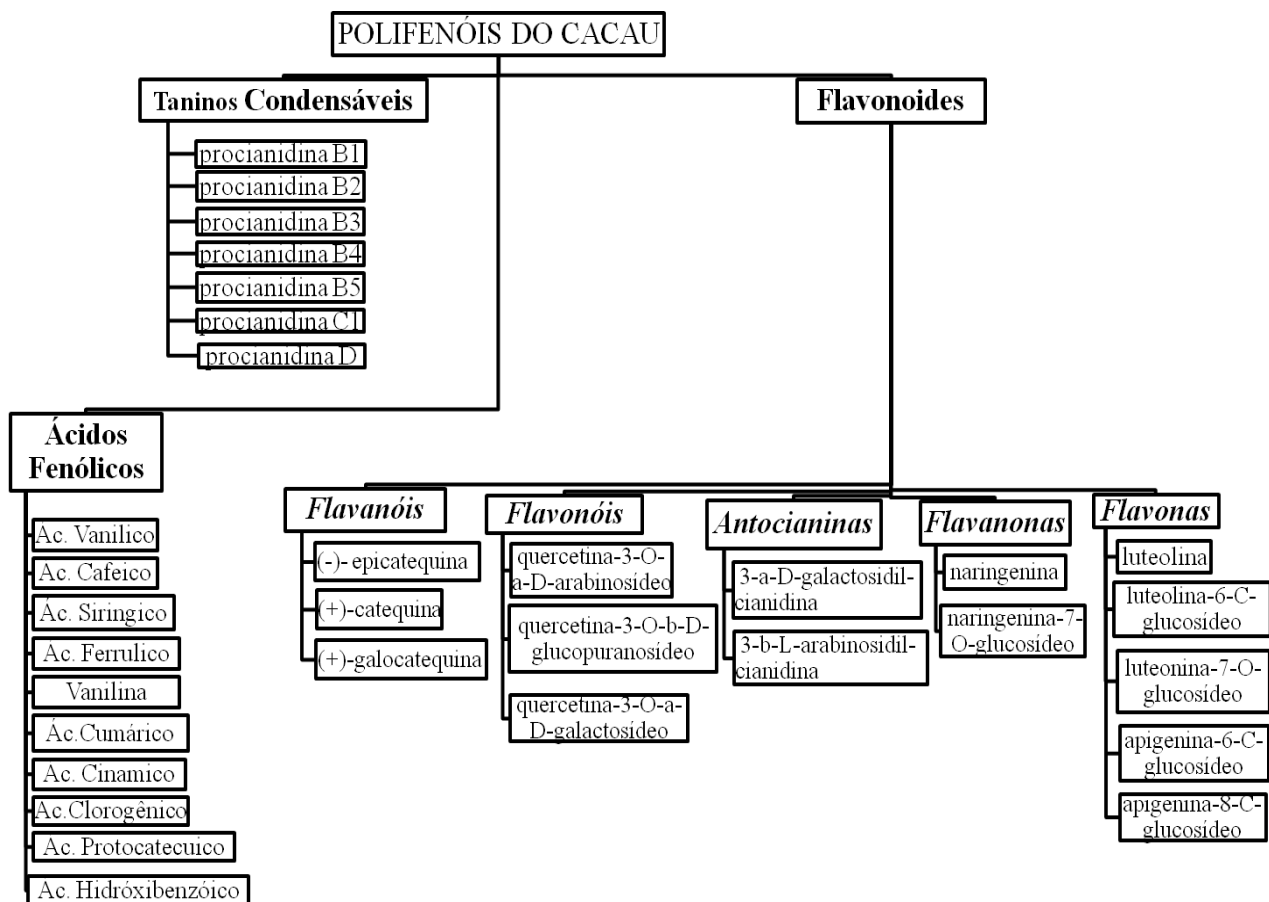
A concentração de polifenóis pode diminuir em até 90% durante os processos de fermentação, secagem e torrefação. As perdas estão relacionadas à difusão fora dos cotilédones e podem ser estimadas em 24% após 60 horas de fermentação, atingindo 58% de redução após o 8º dia (RUSCONI; CONTI, 2010).

Durante a fermentação, com a morte do embrião, os polifenóis entram em contato com as polifenoloxidase e glicosidase (responsáveis pela hidrólise das proantocianidinas) presentes nas sementes, sofrendo oxidação (e formação de quinonas), complexação com proteínas e condensação covalente com grupos reativos de aminoácidos, peptídeos, proteínas e fibras. O teor de antocianinas decresce, chegando a 7% do valor inicial, e grande parte dessa perda ocorre entre o primeiro e o terceiro dia. Ainda durante a fermentação, o teor de polifenóis totais diminui cerca de 70%, sendo que a (-)-epicatequina, principal substrato da enzima polifenoloxidase, sofre redução de 90% de sua concentração inicial (BRITO, 2000; EFRAIM, ALVES; JARDIM, 2011).

No entanto, alguns estudos como de Biehl, Passern e Wewetzer (1982), Reeves et al. (1988) e Hansen, Del Olmo e Burri (1998) constataram que a redução dos compostos fenólicos não deve ser interpretada apenas devido à oxidação enzimática, pois no quinto dia de fermentação, a atividade residual da polifenoloxidase é de 5-13% da inicial e, também, as reações entre compostos de diferentes compartimentos solúveis em água podem ser impedidas pela fusão de vacúolos de lipídeo, que dessa forma, impedem o contato entre tais compostos.

Durante a secagem, as cianidinas, provenientes da hidrólise enzimática das proantocianidinas no período de fermentação, são oxidadas sob ação da polifenoloxidase, desenvolvendo coloração marrom típica de cacau (OETTERER, 2006).

Os principais compostos fenólicos presentes nas sementes de cacau são indicados na Figura 2.10.



**Figura 2.4.** Principais polifenóis encontrados nas amêndoas de cacau (Adaptado de: Ortega et al., 2008; Efraim et al., 2011).

Efraim, Alves e Jardim (2011) relataram diversos estudos sobre a capacidade antioxidante do cacau, dentre eles segue os seguintes:

- Sanbongi et al. (1998), avaliaram o efeito *in vitro* de um extrato rico em flavonóides obtido a partir de liquor de cacau em solução alcoólica 80%. Os resultados indicaram que não apenas catequinas e epicatequinas apresentaram efeito antioxidante, como também quercetina, quercetina-3-glicosídeo, quercetina- 3-arabinosídeo e dideoxiclovamida.

- Mao et al. (2000) demonstraram a elevada capacidade antioxidante *in vitro* das procianidinas do cacau, tanto na fase de indução, como na fase da peroxidação de lipídios. Os mesmos compostos mostraram-se capazes, ainda, de retardar o ataque de lipídios durante a fase de quebra das reações de pró-oxidação, inibindo totalmente a formação de produtos de

degradação. Esses efeitos foram observados mesmo em concentrações submicromoleculares, indicando que as procianidinas do cacau podem atuar como inibidoras de inflamações agudas.

- Dados apresentados por Steinberg et al. (2003) coletados a partir de outros estudos demonstraram que a capacidade antioxidante das procianidinas de cacau e derivados (por porção ingerida), pelo método ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity), foi maior em comparação com outros alimentos (Tabela 2.5.).

**Tabela 2.5.** Capacidade antioxidante de alguns alimentos e bebidas.

<b>Alimento ou bebida</b>	<b>ORAC (mmol de equivalente Trolox.100mg<sup>-1</sup>)</b>
<i>Liquor</i> de cacau	40
Chocolate amargo	13
Chocolate ao leite	6,7
Maçã	0,2
Vinho tinto	0,7
Infusão de chá*	1,6

\*2g de chá.200mL<sup>-1</sup>. Fonte: Efraim, Alves e Jardim (2011).

De acordo com a revisão de literatura, nota-se que a fermentação e secagem das sementes de cacau são etapas cruciais para obtenção de amêndoas de boa qualidade e o desenvolvimento de precursores para o sabor chocolate, devido a complexas reações bioquímicas que provocam a morte do embrião, hidrólise de açúcares e proteínas, liberação de enzimas e substratos, difusão de compostos fenólicos que entram em contato com as enzimas, entre outras (FORSYTH; QUESNEL, 1957; BECKETT, 1994; BRITO, 2000; EFRAIM, 2004; RUSCONI; CONTI, 2010). Portanto, é de suma importância a compreensão dos fatores que podem influenciar estes processos.

### 3 METODOLOGIA

#### 3.1 MATÉRIA PRIMA

Foram utilizados frutos de cacau da variedade *Forasteiro*, fornecidas por produtor pertencente à Cooperativa Agrícola Mista de Tomé-Açu (CAMTA), localizada no município de Tomé -Açu, Pará. Os frutos foram colhidos maduros.

#### 3.2 PREPARO DA MATÉRIA PRIMA

As etapas de pré-processamento do cacau (Figura 3.1) foram realizadas na fazenda do produtor de cacau localizada no município de Tomé-Açu – PA.



**Figura 3.2.1.** Fluxograma de pré-processamento do cacau.

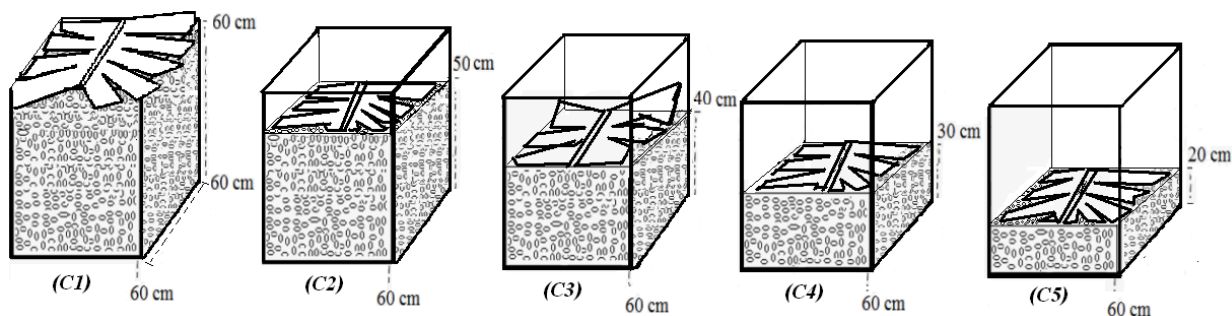
Os frutos foram colhidos maduros em julho de 2012, quebrados 48 horas após a colheita e encaminhados diretamente às caixas de fermentação de madeira (60x60x60cm). As sementes de cacau não foram despoldadas para continuidade do pré-processamento.

O lote de sementes frescas de cacau foi dividido em três partes. A primeira representa o controle (BR-sementes *in natura*), a segunda foi submetida aos processos de fermentação e secagem (C1, C2, C3, C4, C5) e a terceira parte foi submetida diretamente a secagem, sem fermentação (BRs).

### 3.2 FERMENTAÇÃO

As fermentações foram realizadas nas condições similares às dos demais fornecedores de amêndoas de cacau da Cooperativa CAMTA.

Foram realizados cinco ensaios de fermentação com diferentes alturas (20-60cm) (Figura 3.2) de leito e tempo de revolvimento 48,72, 96,120, 144 e 168 horas após início do processo fermentativo, que ocorreu no período da tarde e perdurou 7 dias:



**Figura 3.2.** Caixas de fermentação. C1: altura do leito de 60 cm; C2: altura do leito de 50 cm; C3: altura do leito de 40 cm; C4: altura do leito de 30 cm; C5: altura do leito de 20 cm.

Durante o processo de fermentação a temperatura da massa foi mensurada diariamente em diferentes níveis do leito (superfície, meio e fundo), sendo calculada a média dessas medidas para obter o resultado. Estas medidas foram realizadas no período da manhã ( $T_m$ - às 7h) e no período da tarde (às 15h), antes ( $T_a$ ) e após o revolvimento ( $T_d$ ). Vale ressaltar que a  $T_d$  foi mensurada apenas a partir do segundo dia de fermentação, visto que o revolvimento iniciou 48 horas após o começo do processo.

Foram coletadas amostras antes da fermentação (dia 0), durante o processo, nos dias 2, 4, e 7. As amostras foram imediatamente congeladas em freezer a  $-20^{\circ}\text{C}$ .

### 3.3 SECAGEM

Foram submetidas ao processo de secagem sementes de cacau *in natura* (BRs) e amêndoas fermentadas (C1, C2, C3, C4, C5).

As sementes e as amêndoas foram submetidas a dois tipos de secagem: ao sol (SSOL) e a sombra (SSOM) (Figura 3.3). Uma parte de cada ensaio BRs, C1, C2, C3, C4, C5 foi seca a sombra durante 4 dias sobre proteção de uma cobertura de compensado, impedindo assim o contato direto com o sol, e parte dos ensaios BRs, C1 e C3 foram secos através da exposição direta ao sol durante 3 dias. Nos dois processos foram realizados revolvimentos diários.





**Figura 3.3.** Secagem a sombra (SSOM) e secagem ao sol (SSOL) das amêndoas de cacau.

Foram coletadas amostras de cada ensaio nos dias 1, 2, 3 e 4 de secagem a sombra e foram coletadas amostras de sementes BRs e amêndoas secas a sol dos ensaios de altura de leito 60 e 40 cm, nos dias 1, 2 e 3 de secagem. As amostras foram imediatamente congeladas em freezer a  $-20^{\circ}\text{C}$ .

### 3.4 CARACTERIZAÇÃO FÍSICA DAS AMÊNDOAS

Após os processos de fermentação e secagem, 100 de amêndoas foram coletadas aleatoriamente do lote de cada ensaio e submetidas à prova de corte. Essa prova foi realizada, através de um corte longitudinal (Figura 3.4), para avaliar a qualidade das amêndoas em função da coloração dos cotilédones e do grau de fermentação. Foram verificadas as incidências de cotilédones marrons, violetas com partes marrons e violetas e de cotilédones com compartimentação de sulcos bem, parcialmente ou mal definidos.

Os resultados da prova de corte foram expressos em porcentagem de acordo com coloração (marrons, violetas com partes marrons e violetas) e grau de compartimentação/fermentação (bem, parcialmente e mal fermentadas) dos cotilédones (BRASIL, 2008; ICCO, 2011).



**Figura 3.4.** Amêndoa com corte longitudinal (Fonte: adaptado de Admin, 2011).

Foram determinadas também as seguintes características (Brasil, 2008).

- Massa das 100 amêndoas (g);
- Número de amêndoas equivalente a 100g;
- Fração da composição das amêndoas, mensurada a partir do descascamento manual das 100 amêndoas e pesagem de suas partes – cotilédones (nibs), gérmen e testa. As frações de cada componente foram expressas em porcentagem;
- Classificação quanto aos percentuais de defeitos.

Dados da prova de corte foram levantados para todos os ensaios, no entanto os lotes de sementes de cacau *in natura* (BR), de sementes submetidas apenas à secagem (BR<sub>s</sub>) e o de amêndoas fermentadas e secas (C1, C2, C3, C4 e C5) foram avaliados estatisticamente quanto a qualidade da fermentação, uma vez que a qualidade do produto (amêndoas fermentadas e secas) são as que interessam para o comercialização.

### 3.5 PREPARO E CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO NIBS

Após o fracionamento das amêndoas, de todo lote, em cotilédone, gérmen e testa, os nibs foram liofilizados, triturados em moinho analítico e armazenados sob atmosfera de nitrogênio.

As análises físico-químicas dos nibs coletados foram realizadas em triplicata.

#### 3.5.1 Umidade

O teor de umidade foi determinado em estufa com circulação de ar a 100 °C, de acordo com o método 931.04 (AOAC, 1997).

#### 3.5.2 Lipídios totais

O conteúdo de lipídios foi determinado conforme o método descrito por Bligh e Dyer (1959).

### 3.5.3 pH

O pH foi determinado a partir do filtrado da mistura de 10g de amostra com 90 mL de água fervente. A leitura foi feita após o filtrado atingir temperatura de 20-25°C, conforme método 970.21 (AOAC, 1997).

### 3.5.4 Acidez total titulável

A acidez total titulável foi determinada a partir da neutralização do filtrado da determinação de pH, utilizando solução de hidróxido de sódio a 0,01N. A neutralização foi considerada encerrada quando a solução do filtrado atingiu pH 7,0, segundo método 11.14.3 (AOAC 1997).

## 3.6 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ENZIMÁTICA

Foi preparado um extrato enzimático de polifenoloxidase (PFO) de cada ensaio, misturando 10g de nibs triturado em 20mL de tampão fosfato pH 7,0. A mistura foi deixada durante 3 minutos sob refrigeração (4°C). A solução resultante foi imediatamente filtrada em papel filtro Whatman nº 1. A atividade da PPO foi determinada no filtrado.

A atividade da PPO foi avaliada de acordo com a metodologia descrita por Okey et al. (1995), através da mistura de 1 mL do extrato enzimático, 1 mL de substrato catecol 0,02 M em 1,5 mL de tampão fosfato de potássio 0,05 M (pH 6,0). A leitura das amostras foi realizada em espectrofotômetro UV/Visível (Pharmacia Biotech 2000, modelo 08-2106) à 425 nm no tempo zero e após 10 minutos de reação. Para o branco, foi utilizada a mistura de solução tampão e extrato enzimático. A atividade da enzima foi calculada da inclinação linear da curva. Uma unidade de atividade de PPO foi definida como a quantidade de enzima que ocasiona um aumento da absorbância de 0,001/min/mL.

## 3.7 EXTRAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS DOS NIBS

Os compostos fenólicos em 10 g nibs liofilizados foram extraídos três vezes com 50 mL de solução extratora (3x 1h, 25°C) de acordo com a metodologia descrita por Counet et al. (2004). A solução extratora foi preparada com acetona, água e ácido acético (70:28:2, v/v). Após cada extração, a mistura foi filtrada em papel filtro com auxílio de uma bomba de vácuo (à 600mm/Hg; Primatec, modelo 131) e o sobrenadante recolhido. Os filtrados foram misturados ao final do processo para compor o extrato.

## 3.8 QUANTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS

### 3.8.1 Determinação de polifenóis totais

A dosagem de polifenóis foi realizada pelo método de Folin-Ciocalteu (SINGLETON; ROSSI, 1965), o qual é baseado na reatividade comum dos polifenóis quando colocados em contato com os ácidos fosfomolibdico e fosfotúngstico durante 30 minutos. Como o mecanismo de reação engajado é baseado em uma transferência de elétrons (mecanismo redox), este método também é utilizado como método de determinação da atividade antioxidante. A leitura das amostras foi realizada em espectrofotômetro UV/Visível (Pharmacia Biotech 2000, modelo 08-2106) à 735 nm. O resultado foi expresso em miligramas de equivalentes em Catequina por grama de nibs seco (mgEC/gNS).

### 3.8.2 Determinação de flavanóis totais

O teor de flavanóis totais foi determinado pelo método *p*-dimetilaminocinamaldeído (DMACA), o qual se baseia na condensação da molécula de flavanol com o DMACA, conforme o descrito por McMurrugh, Baert (1994) e Delcour, Varebeke e Janssens (1985). As leituras de absorvância foram realizadas em espectrofotômetro UV/Visível (Pharmacia Biotech 2000, modelo 08-2106) à 640 nm. Os valores foram expressos em (mgEC/gNS).

### 3.8.3 Determinação de flavonóis totais

O método para a determinação de flavonóis é baseado na reação destes compostos com cloreto de alumínio, o qual é utilizado para quantificar a família dos flavonóis e flavonas, conforme descrito por Chang et al. (2002). As leituras foram realizadas em espectrofotômetro UV/Visível (Pharmacia Biotech 2000, modelo 08-2106) em comprimento de onda de 640nm. Os resultados foram expressos miligramas de equivalentes em Quercetina por grama de nibs seco (mgEQ/gNS).

### 3.8.4 Determinação de proantocianidinas

A determinação de proantocianidinas foi realizada pelo método do butanol-HCl proposto por Julkunen-Tiitto (1985). Esse método é baseado na hidrólise com butanol em meio ácido com as unidades das proantocianidinas sob aquecimento ( °90°C), as quais são convertidas nas antocianinas referentes. Os resultados foram expressos em miligramas de equivalentes em Cianidina por grama de nibs seco (mgECi/gNS).

### 3.9 DETERMINAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE

A dosagem da capacidade antioxidante foi realizada pelo método do 2,2-difenil-1-picrilidrazila (DPPH), descrito por Fernández-Pachón et al. (2006), sendo feitas algumas modificações. A atividades de sequestro do radical de cada amostra foi calculada de acordo com a porcentagem de inibição do radical DPPH. O valor DPPH foi calculado de acordo com a Equação 3.1 e expresso em  $\mu\text{mol}$  de equivalente trolox por grama de nibs seco ( $\mu\text{molET/gNS}$ ).

$$DPPH(\mu\text{molET}) = \frac{\% \text{ Inibição}}{\text{coeficiente de regressão}} \times \text{diluição} \quad (\text{Eq. 3.1})$$

### 3.10 DETERMINAÇÃO DA ADSTRINGÊNCIA

A determinação da adstringência, realizada através do método proposto por Horne, Hayes e Lawless (2002), fornece um indicativo sensorial da modificação dos compostos fenólicos durante a fermentação em virtude da ocorrência efetiva da clivagem das proantocianidinas. Este método baseia-se na medida da turbidez ocasionada pela formação de complexos entre proantocianidinas e proteínas ricas em prolina, presentes na saliva humana.

Saliva humana foi coletada e centrifugada a 10.000 g durante 10 min. O sobrenadante foi coletado e armazenado a  $-18^{\circ}\text{C}$ . As amostras de extrato (item 3.7) foram previamente submetidas à neutralização com solução de NaOH e em seguida, diluídas com tampão acetato ( $\text{CH}_3\text{COONa}$  0,2M em 12% EtOH) pH 4,5. Após a homogeneização de 4500  $\mu\text{L}$  de amostra com 4500  $\mu\text{L}$  saliva determinou-se a turbidez em turbidímetro TB1000 (Tecnoyon – São Paulo, BRA). A calibração do equipamento foi realizada com padrões de formazina (Tecnoyon – São Paulo, BRA) em diferentes concentrações. Os resultados foram expressos em Unidades Nefelométrica de Turbidez (NTU) por grama de nibs seco (NTU/gNS).

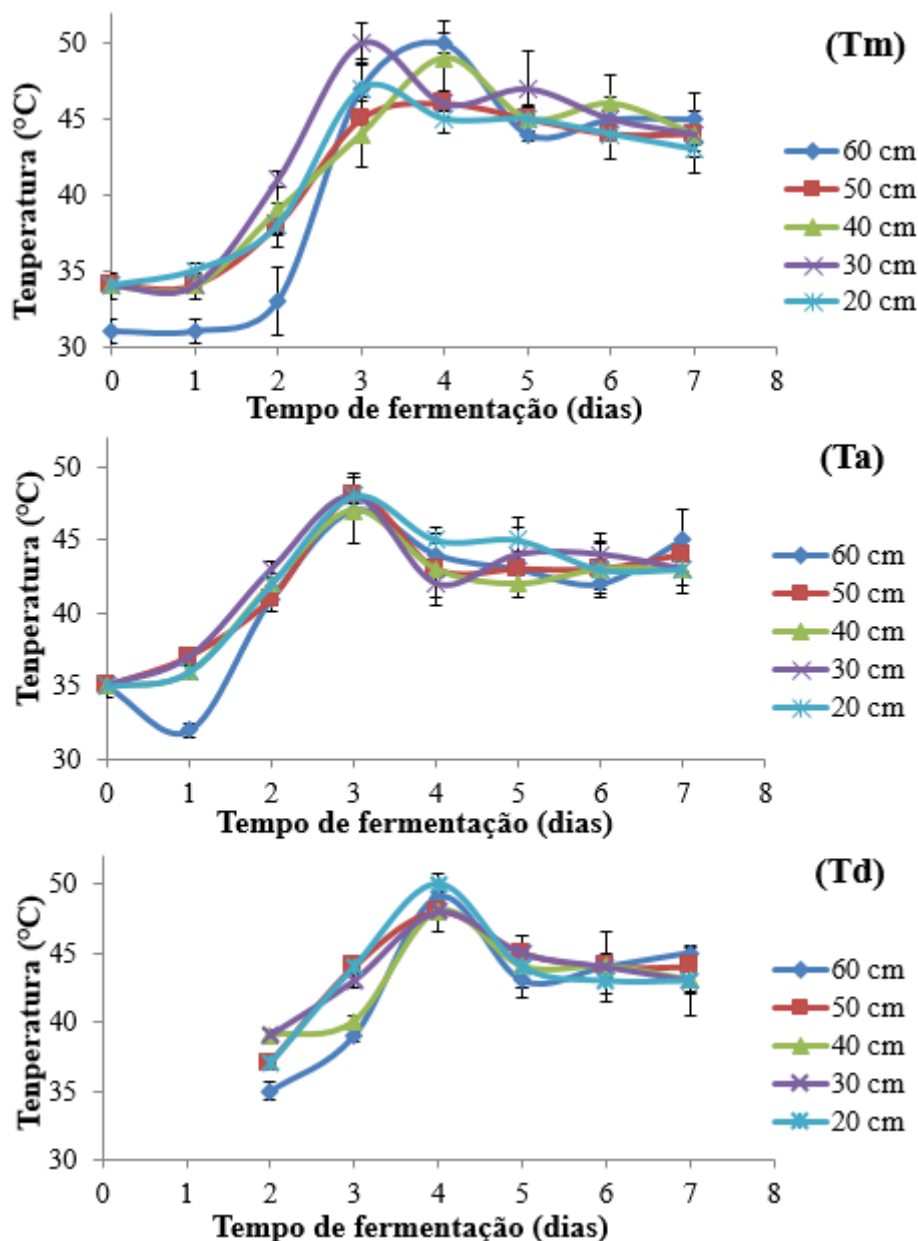
### 3.11 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos foram analisados através da Análise de Variância (ANOVA) e do teste de Tukey para determinação da diferença entre as médias, a nível de significância de 95%, utilizando-se o software STATISTIC 7.0.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 4.1 PERFIL DE TEMPERATURA DA MASSA DURANTE A FERMENTAÇÃO

A temperatura da massa de sementes de cacau em cada caixa de fermentação é apresentada na Tabela A.1 (Anexo I) e Figura 4.1. A temperatura ambiente, umidade relativa e precipitações nos dias da fermentação e secagem são mostradas na Tabela 4.2.



**Figura 4.1.** Valores médios da Temperatura da massa das sementes de cacau durante a fermentação para os diferentes ensaios, no período da manhã (Tm) e da tarde, antes (Ta) e depois do revolvimento (Td).

**Tabela 4.1.1.** Temperatura e umidade relativa ambiente em cada dia da fermentação.

<b>Tempo de fermentação</b>	<b>Temperatura Ambiente (°C)</b>	<b>Umidade Relativa do ar (%)*</b>	<b>Precipitação de chuva (mm)</b>
<b>0</b>	35	83	0
<b>1</b>	35	88	1
<b>2</b>	36	88	0
<b>3</b>	37	88	0
<b>4</b>	38	88	0
<b>5</b>	37	88	0
<b>6</b>	35	90	8
<b>7</b>	36	88	0

\*Fonte: INMET (2012).

Os valores médios de temperatura da tarde depois do revolvimento (Td) no tempo de fermentação 0 e 1 não foram obtidos, pois o primeiro revolvimento foi realizado somente 48 horas após o início do processo.

Verifica-se que os perfis de temperatura das sementes dos diferentes ensaios obtidos no período da manhã (Tm) e no período da tarde (Ta e Td) apresentaram comportamento semelhante durante o processo de fermentação, sendo que o perfil que mais se aproximou daqueles obtidos por Zamalloa (1994), Dias (1998), Lopes (2000), Mattietto (2001), Efraim (2004) e Cruz (2012) foi a temperatura da tarde mensurada antes do revolvimento (Ta), a qual há um aumento da temperatura até o 3º dia, período onde há morte do embrião, decaindo posteriormente e estabilizando até o término do processo de fermentação. Nesses estudos não são citados em que período do dia da fermentação são mensurados a temperatura, se são próximos ou não do tempo de revolvimento.

Conforme Zamalloa (1994), Dias (1998), Lopes (2000), Mattietto (2001), Efraim (2004), Cruz (2012) boas fermentações comerciais de cacau devem atingir 45 a 50°C em aproximadamente 72 horas após o início do processo fermentativo, mantendo-se estáveis até o final do processo e que oscilações de temperatura ocorrem devido às variações metabólicas dos micro-organismos.

No primeiro dia, predominam a ação das leveduras que exigem pouco oxigênio, tornando a temperatura não tão elevada. A partir do segundo dia até o final da fermentação o revolvimento da massa foi realizado, fazendo com que a temperatura ficasse próxima de 45°C.

Considerando a temperatura obtida no período da tarde (Ta), verifica-se que todas as fermentações realizadas apresentaram temperatura máxima no 3º dia de processo e após esse

máximo a temperatura das sementes na massa sofrem uma queda e tendência de estabilização da temperatura.

Todas as fermentações começaram a sofrer alterações da temperatura após 24 horas do início da fermentação e apresentaram temperatura acima de 45°C, seja no período matutino (T<sub>m</sub>) ou vespertino (T<sub>a</sub>).

No 3º dia pela manhã (≈ 12 horas após 1º revolvimento) os ensaios C4 (30 cm) e C5 (20 cm) atingiram temperaturas máximas, respectivamente, de 50 e 47°C e apenas no 4º dia pela manhã (≈ 12 horas após 2º revolvimento) que os ensaios C1 (60 cm), C2 (50 cm) e C3 (40 cm) atingiram temperaturas máximas de 50, 46 e 49°C, respectivamente. Diante disto, podemos inferir que a temperatura de fermentação é influenciada pela quantidade de massa e aeração aplicadas no processo fermentativo do cacau, visto que mais espaço entre as sementes facilita a incorporação de ar após o revolvimento, diminuindo a fase anaeróbica da fermentação e causando maior velocidade na elevação da temperatura (CHATT, 1953; MEYER et al, 1989 citado por ARAGÃO, 1992), valendo ressaltar que em termos de perfil de temperatura os leitos com 60 e 40 cm apresentaram aproximadamente a mesma temperatura máxima.

Os valores de temperatura ambiente obtidos durante o processo fermentativo foi semelhante aos valores encontrados por Efraim (2004). No entanto, a umidade relativa foi aproximadamente 15% maior que a relatada pela autora.

#### 4.2 CARACTERIZAÇÃO DAS AMENDOAS FERMENTADAS E SECAS

A Tabela 4.2 apresenta os resultados da prova de corte das sementes de cacau *in natura* (BR), das submetidas a secagem (BRs), e das amêndoas fermentadas e secas dos ensaios C1(60 cm), C2 (50 cm), C3(40 cm), C4 (30 cm), C5(20 cm).



**Tabela 4.2.** Prova de corte das amêndoas de cacau.

		SOMBRA*					SOL**				
		BR	BRs	C1	C2	C3	C4	C5	BRs	C1	C3
Coloração	Marrom	0 <sup>g</sup>	23 <sup>f</sup>	43 <sup>d</sup>	33 <sup>e</sup>	40 <sup>d</sup>	92 <sup>a</sup>	91 <sup>a</sup>	24 <sup>f</sup>	82 <sup>b</sup>	50 <sup>c</sup>
	Marrom e Violeta	0 <sup>c</sup>	36 <sup>a</sup>	33 <sup>a</sup>	31 <sup>a</sup>	35 <sup>a</sup>	7 <sup>bc</sup>	6 <sup>bc</sup>	10 <sup>b</sup>	13 <sup>b</sup>	33 <sup>a</sup>
	Violeta	100 <sup>a</sup>	41 <sup>c</sup>	24 <sup>ef</sup>	36 <sup>cd</sup>	25 <sup>de</sup>	1 <sup>g</sup>	3 <sup>g</sup>	66 <sup>b</sup>	5 <sup>g</sup>	17 <sup>f</sup>
Fermentação	Bem	0 <sup>f</sup>	8 <sup>f</sup>	41 <sup>cd</sup>	41 <sup>cd</sup>	37 <sup>d</sup>	62 <sup>b</sup>	63 <sup>b</sup>	22 <sup>e</sup>	83 <sup>a</sup>	48 <sup>c</sup>
	Parcialmente	0 <sup>d</sup>	13 <sup>c</sup>	25 <sup>ab</sup>	32 <sup>a</sup>	25 <sup>ab</sup>	24 <sup>ab</sup>	27 <sup>ab</sup>	21 <sup>bc</sup>	15 <sup>c</sup>	24 <sup>b</sup>
	Mal	100 <sup>a</sup>	79 <sup>b</sup>	34 <sup>de</sup>	27 <sup>e</sup>	38 <sup>de</sup>	14 <sup>f</sup>	10 <sup>fg</sup>	57 <sup>c</sup>	2 <sup>g</sup>	28 <sup>d</sup>
Defeitos	Danificadas/Mofadas	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	1/3	2/3	0/0	1/0	0/0
	Ardósia/Germinadas	0/0	1/0	0/0	0/0	0/0	0/0	2/0	2/0	1/0	0/0
Nº de amêndoas em 100g		45 <sup>g</sup>	73 <sup>e</sup>	72 <sup>e</sup>	66 <sup>f</sup>	68 <sup>f</sup>	77 <sup>d</sup>	88 <sup>b</sup>	97 <sup>a</sup>	82 <sup>c</sup>	89 <sup>b</sup>
Peso total de 100 amêndoas (g)		209 <sup>a</sup>	145 <sup>bc</sup>	138 <sup>c</sup>	151 <sup>b</sup>	150 <sup>b</sup>	133 <sup>cd</sup>	112 <sup>e</sup>	150 <sup>b</sup>	123 <sup>de</sup>	112 <sup>e</sup>
Rendimento germen (%)		1 <sup>a</sup>	1 <sup>a</sup>	1 <sup>a</sup>	1 <sup>a</sup>	1 <sup>a</sup>	1 <sup>a</sup>	1 <sup>a</sup>	1 <sup>a</sup>	1 <sup>a</sup>	1 <sup>a</sup>
Rendimento casca (%)		39 <sup>a</sup>	14 <sup>e</sup>	21 <sup>bc</sup>	23 <sup>b</sup>	21 <sup>bc</sup>	19 <sup>bcd</sup>	17 <sup>de</sup>	22 <sup>bc</sup>	18 <sup>cd</sup>	19 <sup>cd</sup>
Rendimento cotilédone (%)		60 <sup>e</sup>	85 <sup>a</sup>	78 <sup>cd</sup>	76 <sup>d</sup>	78 <sup>cd</sup>	80 <sup>bcd</sup>	82 <sup>ab</sup>	77 <sup>cd</sup>	81 <sup>bc</sup>	80 <sup>bc</sup>

\* amêndoas referente ao 4º dia de secagem a sombra; \*\* amêndoas referentes ao 3º dia de secagem a sol. Valores de uma mesma linha com a mesma letra não diferem significativamente entre si (Teste de Tukey a 5% de significância). C1: Fermentação convencional com altura de leito de 60 cm; C2: Fermentação com altura de leito de 50 cm, C3: Fermentação com altura de leito de 40 cm; C4: Fermentação com altura de leito de 30 cm; C5: Fermentação com altura de leito de 20 cm

Os ensaios BRs secados a sombra e ao sol, conforme esperado, foram os que mais apresentaram amêndoas de coloração violetas e mal fermentadas, devido esses não terem sido submetidos a fermentação e sim apenas a secagem, exibindo pouca formação de sulcos nos cotilédones característico do processo fermentativo.

As fermentações C1 (60 cm) e C3 (40 cm) submetidas à secagem a sombra apresentaram proporções estatisticamente iguais de amêndoas bem compartimentadas e de coloração marrom ( $\approx 40\%$ ), correspondendo a metade amêndoas bem compartimentadas e de coloração marrons obtida pela fermentação C1 submetida à secagem a sol. Assim, verifica-se que os ensaios submetidos à secagem à sombra podem ter passado por reações bioquímicas menos intensas que os ensaios submetidos à secagem à sol, admitida como convencional, podendo a partir de amêndoas secas a sombra obter produtos derivados mais adstringentes.

A fermentação de C4 (30 cm) e C5 (20 cm) apresentaram maior proporção de amêndoas marrons e bem fermentadas em relação as demais fermentações secas à sombra e à sol, pois tais fermentações por apresentarem menor altura de leito tiveram maior

disponibilidade de oxigênio para o desenvolvimento das reações bioquímicas no interior dos cotilédones (SOARES, 2001).

A fermentação C1 (60 cm) submetida à secagem a sol, convencional entre os produtores de amêndoas de cacau, foi o terceiro ensaio que apresentou maior proporção de amêndoas marrons (Figura 4.2).

Diante disso, pode-se verificar que este tipo de fermentação passou por diversas reações bioquímicas que possivelmente pode ter proporcionado a redução de compostos fenólicos e assim a redução de amargor, podendo proporcionar um chocolate menos adstringente.



**Figura 4.2.** Teste de corte da fermentação convencional C1 (60 cm de altura de leito).

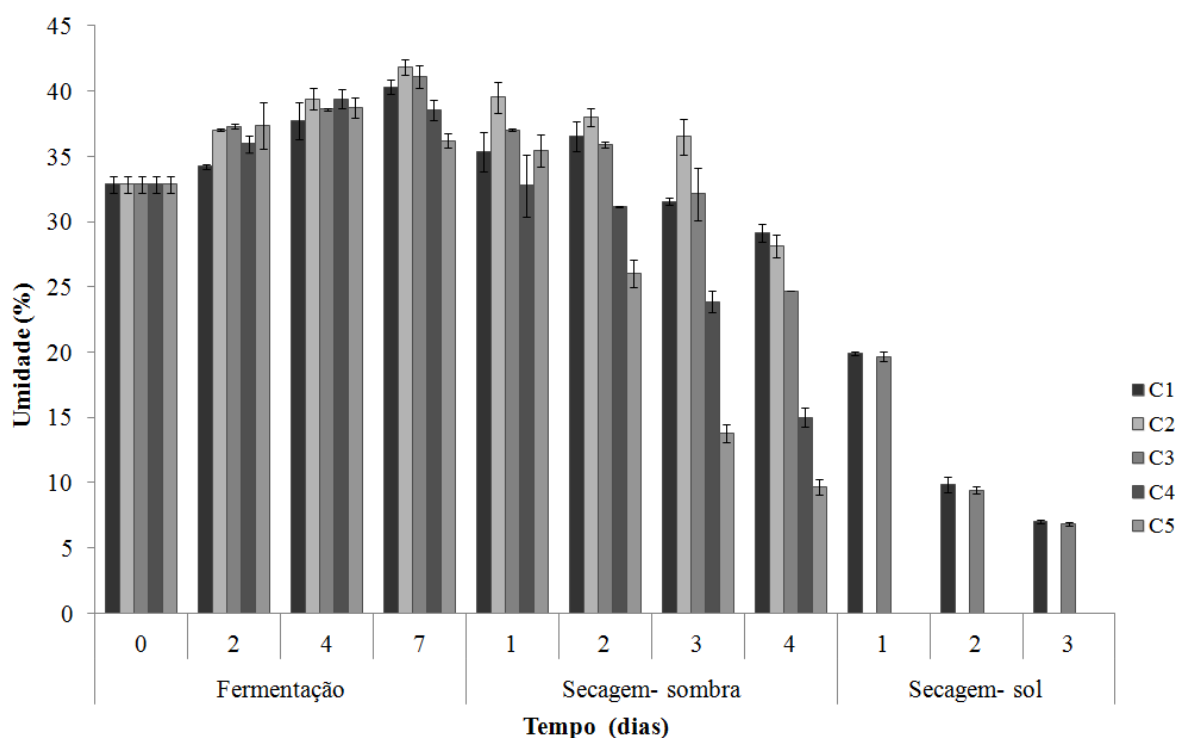
A avaliação do aroma das amêndoas revelou a ausência de odores estranhos para todos os ensaios. Conforme Brasil (2008), todos os ensaios foram classificados como Tipo I, pois apresentaram porções de amêndoas danificadas e mofadas até 4% e de ardósia e germinadas de até 5%.

A composição das frações de gérmen, casca e cotilédones são obtidas de cada ensaio é considerada característica, conforme Zamalloa (1994), Lopes (2000), Mattiello (2001) e Efraim (2004) que realizaram fermentação convencional de 60 cm de altura de leito. Diante disso e do que Efraim et al (2010) obteve para N° de amêndoas em 100 gramas, é observado

que, apesar de algumas diferenças significativas entre os valores médios, tanto o tipo de fermentação como o tipo de secagem não provocam alterações no rendimento de cotilédone no pré-processamento de cacau.

#### 4.3 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO NIBS

Na Figura 4.3 são apresentados os valores médios de umidade (%) dos cotilédones das sementes e amêndoas de cacau antes (dia 0) e durante os processos de fermentação e secagem (ao sol e à sombra).



**Figura 4.3.** Umidade dos cotilédones de cacau durante a fermentação e secagem. C1: Fermentação com altura de leito de 60 cm; C2: Fermentação com altura de leito de 50 cm, C3: Fermentação com altura de leito de 40 cm; C4: Fermentação com altura de leito de 30 cm; C5: Fermentação com altura de leito de 20 cm.

A umidade (%) inicial dos cotilédones de cacau foi de 33,88% e ao longo de cada fermentação verifica-se um aumento, atingindo no 4º dia de processo 37,70%, 39,39%, 38,60%, 39,41% e 38,73% para os ensaios C1, C2, C3, C4 e C5, respectivamente; depois, mantem teores de umidade estáveis até o final da fermentação. Como a polpa está em fermentação alcoólica nos primeiros dias, parte da água de mucilagem penetra facilmente

dentro dos cotilédones pois o álcool facilita a transferência desta água e a umidade tende a se igualar fora e dentro desses cotilédones. Comportamento semelhante foi encontrado por Mattietto (2001) que realizou fermentação com altura de leito de 60 cm.

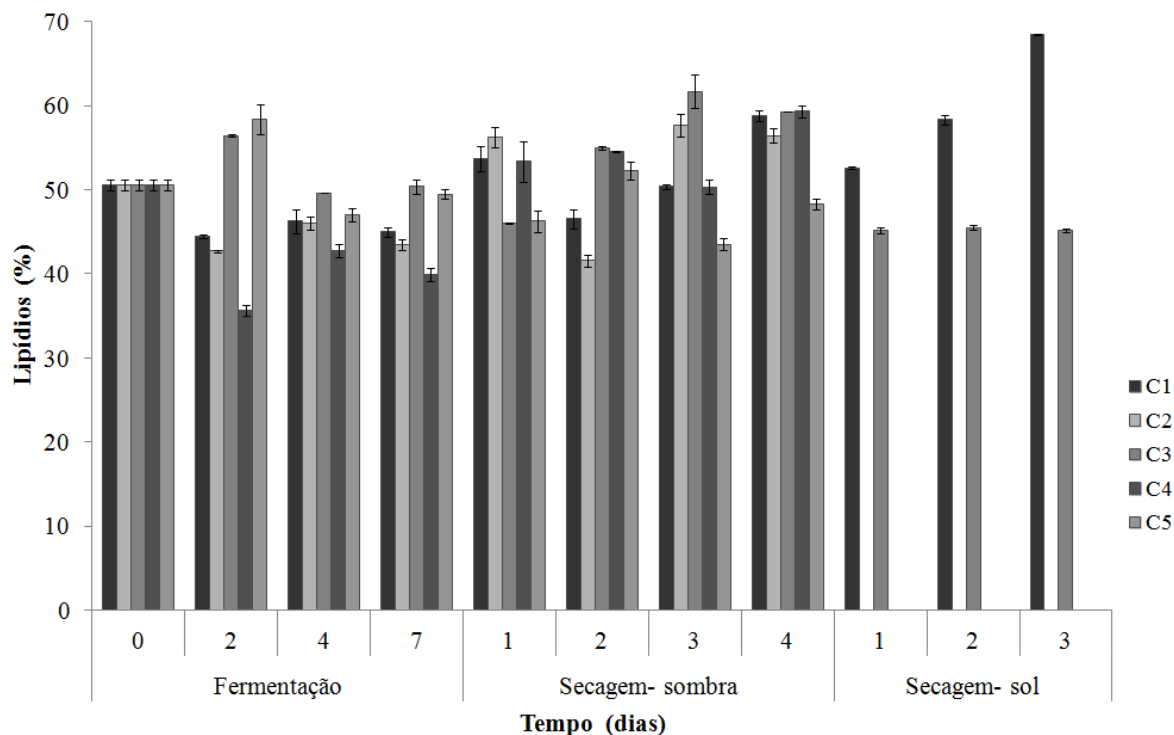
Biehl et al. (1982) verificaram que a absorção de água é relativamente alta nos primeiros dias da fermentação, antes de ocorrer a morte da semente que se dá por volta do 3º a 4º dia de processo (FERRÃO, 2007). As amêndoas podem apresentar teor de umidade até 60% ao término do processo de fermentação (OETTER; REGITANO-D'ARCE; SPOTO, 2006).

Pode-se verificar no último dia de secagem a sombra e sol que quanto maior a altura do leito menor foi a porcentagem de perda de água durante o processo de secagem, tal comportamento pode ter ocorrido devido no 7º dia de fermentação (tempo 0 da secagem) a porcentagem de umidade atingida pelos ensaios ter sido relativamente proporcional aos seus respectivos volumes (leitos) (FERRÃO, 2007).

As amêndoas submetidas à secagem a sombra não atingiram umidade abaixo de 8% após os 4 dias, tornando-as inadequadas para armazenamento e comercialização (Brasil, 2008). Neste caso, existem duas alternativas para reduzir o teor de umidade e aproveitar tais amêndoas, caso elas forneçam maior retenção de polifenóis que as amêndoas secas à sol. A primeira é submeter em breve às amêndoas a etapa seguinte do processamento de chocolate denominada torrefação. A segunda alternativa é deixar as amêndoas secarem por mais dias à sombra, até alcançar 8%.

As amêndoas dos ensaios C1, C2, C3, C4 e C5 secas à sombra apresentaram perda de água de 11,17%, 13,77%, 16,39%, 23,53% e 26,50%, respectivamente. Já as amêndoas dos ensaios C1 e C3, secas à sol perderam cerca de 33,31% e 34,25% de umidade, respectivamente. Isso sugere claramente que o processo de fermentação influencia diretamente na cinética de secagem das amêndoas, sendo que as amêndoas melhor fermentadas são também mais difíceis de secar que as demais.

O conteúdo de lipídios totais dos cotilédones das amêndoas durante a fermentação e secagem, em base seca, é apresentado na Figura 4.4.



**Figura 4.3.** Valores médios de lipídios dos cotilédones durante a fermentação e secagem (em base seca). C1: Fermentação com altura de leito de 60 cm; C2: Fermentação com altura de leito de 50 cm, C3: Fermentação com altura de leito de 40 cm; C4: Fermentação com altura de leito de 30 cm; C5: Fermentação com altura de leito de 20 cm.

O conteúdo de lipídios variou significativamente durante a fermentação, exceto nos ensaios de altura de leito de 60 (C1) e 50 cm (C2) que a partir do 2º dia de fermentação até o último permaneceram com seus teores estáveis. Mattietto (2001) obteve o mesmo comportamento utilizando altura de leito de 60 cm.

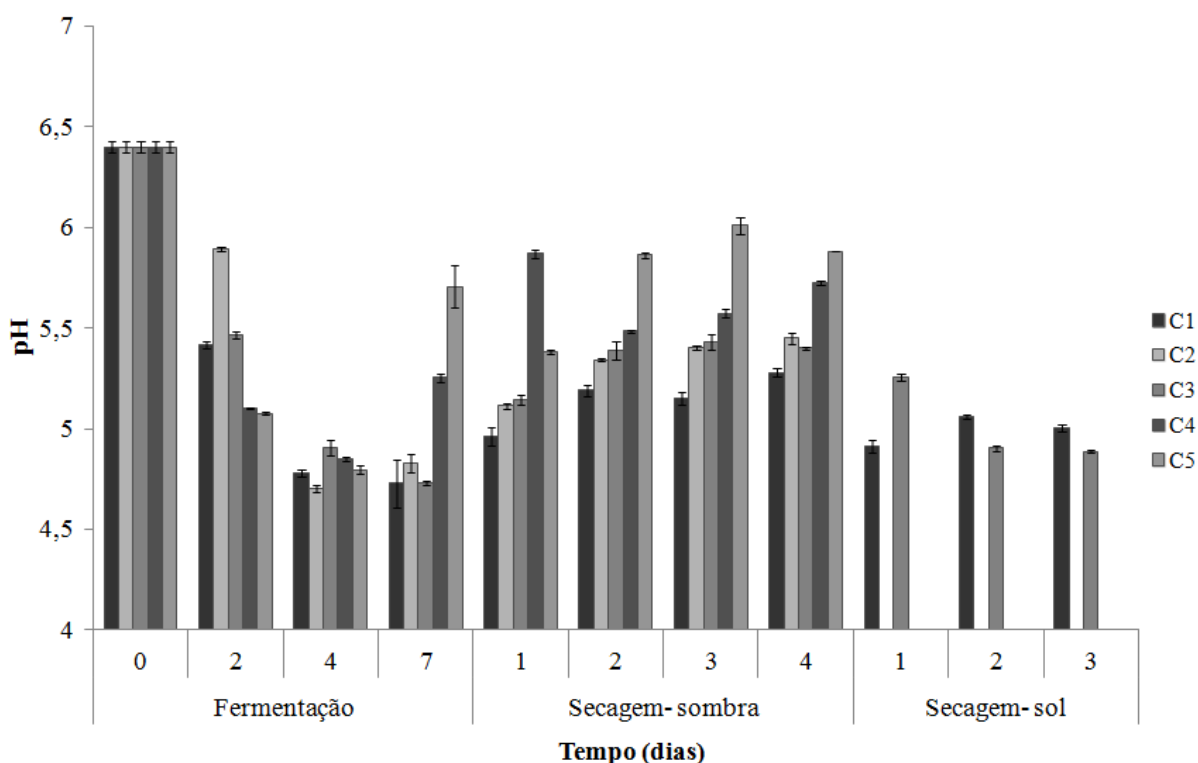
As amêndoas de cacau secas ao sol e a sombra apresentaram diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) em relação às amêndoas do último dia de fermentação. Todos os ensaios submetidos à secagem a sombra apresentaram diferença entre os diferentes dias de processo. Um estudo qualitativo dos lipídios durante a fermentação e secagem seria necessário para melhor detalhar o comportamento desses ensaios, visto que existe uma escassez de discussões na literatura a cerca do comportamento desse componente durante o pré-processamento do cacau; apenas Mattietto (2001), que utilizou altura de leito de 60cm verificou a constância dos valores de lipídios durante a fermentação, dando indicativo de que a altura pode influenciar qualitativamente e quantitativamente na composição dos lipídios.

O conteúdo médio de lipídios totais das amêndoas, fermentadas e secas a sombra, não diferiram entre si, exceto as amêndoas do ensaio C5 (20cm) que apresentou percentagem média abaixo de 50%.

Pode-se verificar que o tipo de secagem pode ter influenciado no conteúdo de lipídios das amêndoas fermentadas e secas, visto que os ensaios de altura de leito de 60 cm (C1) e 40 cm (C3) secos a sombra diferiram significativamente dos ensaios de mesma altura de leito secos a sol.

Sabe-se que quanto maior o teor de gordura dos cotilédones, maior é o valor comercial das amêndoas, devido esse componente ser bastante valorizado e empregado no processamento de chocolate, e também na elaboração de produtos cosméticos e farmacêuticos. De acordo com Ferrão (2007), as amêndoas fermentadas e secas C1, C2, C3 e C4 (sombra) e C1(sol) são consideradas de boa qualidade comercial, uma vez que apresentaram teor de lipídios acima de 52%.

Os teores de pH durante a fermentação e secagem podem ser observados na Figura 4.5.



**Figura 4.3.** Valores médios de pH dos cotilédones durante a fermentação e secagem. C1: Fermentação com altura de leito de 60 cm; C2: Fermentação com altura de leito de 50 cm, C3: Fermentação com altura de leito de 40 cm; C4: Fermentação com altura de leito de 30 cm; C5: Fermentação com altura de leito de 20 cm.

Os cotilédones apresentaram no início da fermentação pH de 6,40, havendo nos ensaios C1, C2 e C3 uma redução gradual significativa até o 7º dia ( $\approx 4,70$ ). Por outro lado os ensaios C4 e C5 apresentaram uma queda no quarto dia ( $\approx 4,80$ ) e uma posterior elevação do pH no 7º dia, atingindo 5,2 e 5,7, respectivamente. Dessa forma, verifica-se que possivelmente os ácidos orgânicos voláteis, principalmente ácido acético, são facilmente liberados nos leitões de menor altura (C4 e C5).

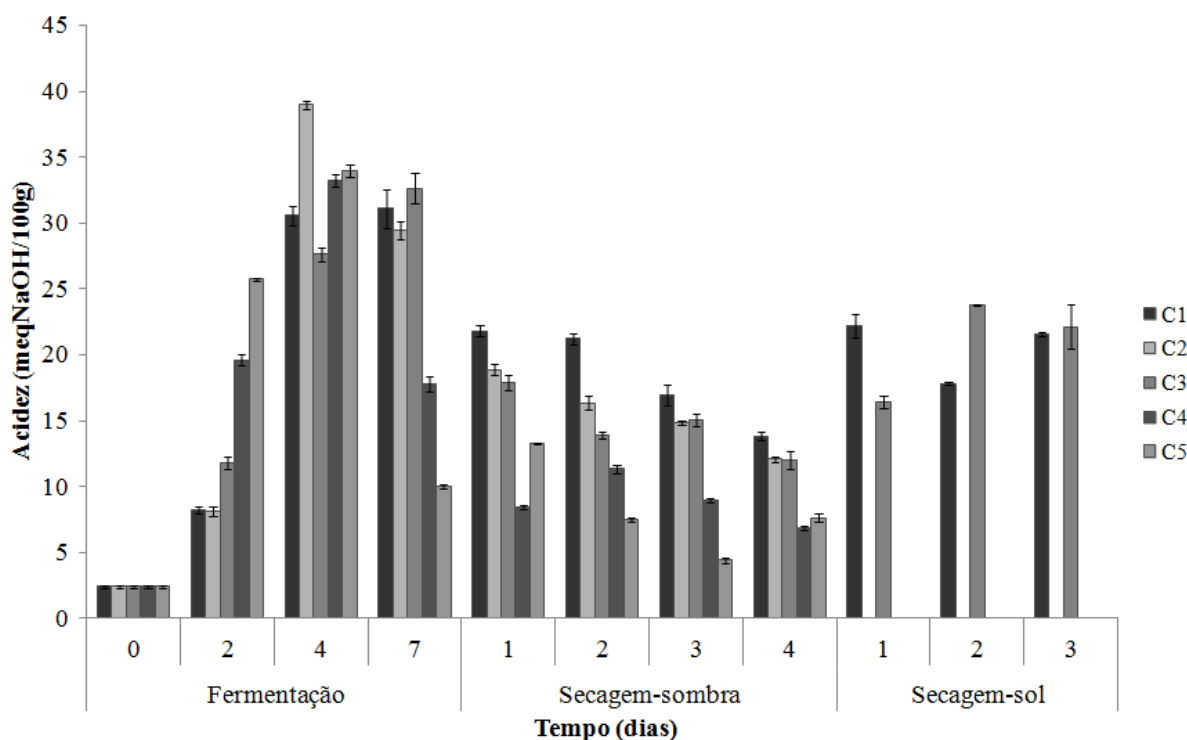
Os cotilédones iniciam a fermentação, normalmente, com pH entre 5-6,5 (MATTIETTO, 2001; EFRAIM, 2004), e a medida que as reações metabólicas dos microorganismos ocorrem produzindo ácidos (acético) a testa perde sua permeabilidade fazendo com que no 3º ou 4º dia ocorra a morte do gérmen e a difusão dos conteúdos celulares, como os ácidos, para o interior dos cotilédones, apresentando pH próximo de 4,5 nesse período (DIAS, 1988; OETTERER; REGITANO D'ARCE, SPOTO, 2006).

Após a amêndoa atingir o pH mínimo, normalmente no 3º e 4º dia, há uma elevação do pH devido a queda na formação de ácidos, como acético, e sintetização do ácido cítrico durante os dias finais do processo.

O pH dos cotilédones dos ensaios aumentaram gradativamente durante o processo de secagem. Na secagem a sombra C1, C2, C3, C4 e C5 apresentaram no final do processo valores de 5,28, 5,45, 5,40, 5,72, 5,88, respectivamente. Os ensaios C1 e C3 atingiram pH de 5,00, 4,89, respectivamente, ao término do processo de secagem ao sol. Segundo Efraim (2010), a elevação do pH após o processo de secagem se deve as perdas de ácido acético, por volatilização.

Todos os ensaios de fermentação e secagem apresentam ideal para formação de sabor de chocolate, uma vez que obtiveram uma amêndoa fermentada e seca com pH acima de 4,5. Biehl et al. (1982), Lopes (2000) e Mattietto (2001) relatam que as amêndoas de cacau fermentadas e secas que apresentam pH inferior a 4,5 possuem um baixo potencial na formação do sabor de chocolate, enquanto que valores de pH acima de 5,0 este potencial é significativamente elevado.

Na Figura 4.6 são apresentados os valores médios de acidez total titulável de cada ensaio durante a fermentação e secagem.



**Figura 4.3.** Valores médios de acidez total dos cotilédones durante a fermentação e secagem. C1: Fermentação com altura de leito de 60 cm; C2: Fermentação com altura de leito de 50 cm; C3: Fermentação com altura de leito de 40 cm; C4: Fermentação com altura de leito de 30 cm; C5: Fermentação com altura de leito de 20 cm.

Verifica-se que os cotilédones de cacau iniciaram a fermentação com uma acidez de 2,72 meqNaOH/100g, sendo que no 4º dia de processo os ensaios C2, C4 e C5 atingiram acidez máxima de 38,98, 33,20 e 33,97 meqNaOH/100g, respectivamente, havendo um decréscimo significativo no sétimo dia (C2: 29,45; C4: 17,76; C5: 10,04). Já os ensaios C1 e C3 atingiram acidez máxima de 31,11 e 32,65 meqNaOH/100g, respectivamente, no sétimo dia de fermentação. Diante disso, pode-se inferir que nos ensaios de C4 e C5 a produção de ácido acético predominou pois sua evaporação é facilitada, ao contrário daquela do ácido cítrico que pode ter predominado nos ensaios C1 e C3.

Lopes (2000) relata que o ácido acético absorvido pelos cotilédones é essencial para o desenvolvimento dos precursores de sabor e aroma do chocolate, porém o excesso pode promover um forte sabor ácido podendo desapreciar o produto diante de mercados que possuem preferência por chocolate pouco ácido.

No estudo de DIAS (1998) foi relatado que a variação e diferença de acidez durante a fermentação têm relação com a quantidade de amêndoas de polpa residual na semente. A quantidade de polpa contribui para aumentar a acidez, pois além da quantidade de componentes nutritivos á disposição, a aeração também influencia a acidez. Por fim, a



condução do processo de fermentação provoca variações na acidez do cacau (ZAMALLOA, 1994; MATTIETTO, 2001).

Lopes (2000) e Mattietto (2001) verificaram que durante o processo de secagem há uma queda da acidez devido provavelmente a evaporação de ácido acético.

Verifica-se o conteúdo de acidez sofreu influência do tipo de secagem, uma vez que as amêndoas dos ensaios C1 e C3 secas a sombra apresentaram teor de acidez quase duas vezes menor que as amêndoas dos mesmos ensaios secas a sol. Tal comportamento pode ser atribuído ao tipo e concentração dos ácidos presentes nas amêndoas após secagem (BRITO, 2000).

Dias (1998), encontrou em seu estudo valores de acidez que variaram de 19,27 a 25,65 meq NaOH/100g, utilizando cacau Amazônico.

Considerando que as amêndoas comercializadas são as fermentadas e secas, as características do nibs dessas amêndoas são mostradas na Tabela III.1 (Anexo III).

Conforme, Brasil (2008), apenas as amêndoas dos ensaios BR(s), C1 e C3 submetidas à secagem a sol são aptas para um posterior armazenamento, pois tais ensaios apresentarem umidade abaixo de 8% ao final do processo.

Possivelmente a umidade relativa do ar (Tabela 4.3) pode ter influenciado na secagem a sombra e ao sol, visto que normalmente a secagem de amêndoas de cacau é realizada em ambientes com umidade relativa próximas de 75% (EFRAIM, 2004). Além disso, devido a incidência da radiação solar as amêndoas secas ao sol atingiram temperatura interna mais altas que as amêndoas secas a sombra, então, considerando que alta umidade reativa retarda a perda de peso durante a secagem, a velocidade de perda de água nas amêndoas submetidas a secagem ao sol foi maior por apresentarem temperatura interna maior durante o referido processo.

**Tabela 4.3.1.** Temperatura e umidade relativa do ambiente em cada dia da secagem à sombra e ao sol.

<b>Tempo de secagem (dias)</b>	<b>Temperatura Ambiente (°C)</b>	<b>Umidade Relativa do ar (%)*</b>	<b>Precipitação de chuva (mm)</b>
1	35	89	0
2	34	89	0
3	35	87	0
4	33	88	0

\*FONTE: INMET (2012); para os dois tipos de secagem.

#### 4.1 QUANTIFICAÇÃO DA ATIVIDADE ENZIMÁTICA

Na Tabela 4.2 estão apresentados os valores médios obtidos da atividade enzimática da PFO no nibs liofilizado da semente fresca (dia 0), após o sétimo dia de fermentação e após a secagem das amêndoas de cacau.

**Tabela 4.1.** Valores médios da atividade enzimática da polifenoloxidase (PFO) dos cotilédones durante a fermentação e secagem.

<i>Altura do leito de fermentação</i>	<i>Fermentação</i>		<i>Secagem à sombra</i>	<i>Secagem ao sol</i>
	<b>0</b> (U/gNS)	<b>7</b> (U/gNS)	<b>4</b> (U/gNS)	<b>3</b> (U/gNS)
<b>C1 – 60 cm</b>	34,0 ± 10,5 <sup>aA</sup>	7,4 ± 2,5 <sup>cCD</sup>	14,4 ± 0,0 <sup>bB</sup>	3,1 ± 1,9 <sup>dA</sup>
<b>C2 – 50 cm</b>	34,0 ± 10,5 <sup>aA</sup>	23,3 ± 6,7 <sup>bA</sup>	8,5 ± 4,1 <sup>cC</sup>	
<b>C3 – 40 cm</b>	34,0 ± 10,5 <sup>aA</sup>	5,6 ± 1,6 <sup>cD</sup>	25,9 ± 3,8 <sup>bA</sup>	10,3 ± 2,5 <sup>cB</sup>
<b>C4 – 30 cm</b>	34,0 ± 10,5 <sup>aA</sup>	9,7 ± 0,0 <sup>bC</sup>	9,2 ± 5,1 <sup>bC</sup>	
<b>C5 – 20 cm</b>	34,0 ± 10,5 <sup>aA</sup>	19,6 ± 3,2 <sup>bB</sup>	10,0 ± 2,4 <sup>cBC</sup>	

Valores de uma mesma linha com a mesma letra (minúscula) e de uma mesma coluna com mesma letra (Maiúscula) não diferem significativamente entre si (Teste de Tukey a 5% de significância).

Verifica-se que durante a fermentação houve uma redução da atividade da PFO em todos os ensaios, sendo os ensaios C1 e C3 os que apresentaram menores atividades enzimática ao término desse processo.

A redução da atividade enzimática POF durante a fermentação é causada pelo calor gerado e pelas elevadas concentrações de ácido acético e etanol (HANSEN; DEL OLMO; BURRI, 1998).

Os ensaios apresentaram redução da atividade PFO após secagem à sombra, exceto C1 e C3. Os ensaios C1 e C3 secos ao sol mostraram menor atividade enzimática que secos à sombra. A quantificação e comparação da atividade enzimática da PFO no cacau são complexas, considerando-se as variações causadas pelos métodos de fermentação e secagem (HANSEN; DEL OLMO; BURRI, 1998).

## 4.2 COMPOSTOS FENÓLICOS

### 4.2.1 Polifenóis totais

Na Tabela 4.3 estão apresentados os valores médios obtidos na determinação de compostos fenólicos totais do nibs liofilizado da semente fresca (dia 0), após o sétimo dia de fermentação e após a secagem das amêndoas de cacau.

**Tabela 4.2.1** Valores médios de polifenóis totais dos cotilédones durante a fermentação e secagem.

<i>Altura do leito de fermentação</i>	<i>Fermentação</i>		<i>Secagem à sombra</i>	<i>Secagem ao sol</i>
	<i>0</i> (mgEC/gNS)	<i>7</i> (mgEC/gNS)	<i>4</i> (mgEC/gNS)	<i>3</i> (mgEC/gNS)
<b>C1 – 60 cm</b>	255,3 ± 5,8 <sup>ba</sup>	277,8 ± 0,6 <sup>aA</sup>	215,2 ± 0,5 <sup>ca</sup>	250,2 ± 2,4
<b>C2 – 50 cm</b>	255,3 ± 5,8 <sup>aA</sup>	179,9 ± 5,0 <sup>bd</sup>	123,9 ± 4,8 <sup>cd</sup>	
<b>C3 – 40 cm</b>	255,3 ± 5,8 <sup>aA</sup>	248,0 ± 14,2 <sup>aB</sup>	139,0 ± 5,5 <sup>bc</sup>	160,8 ± 9,4 <sup>bb</sup>
<b>C4 – 30 cm</b>	255,3 ± 5,8 <sup>aA</sup>	191,3 ± 2,2 <sup>bd</sup>	167,8 ± 7,4 <sup>cb</sup>	
<b>C5 – 20 cm</b>	255,3 ± 5,8 <sup>aA</sup>	219,2 ± 1,4 <sup>bc</sup>	103,7 ± 5,9 <sup>ce</sup>	

Valores de uma mesma linha com a mesma letra (minúscula) e de uma mesma coluna com mesma letra (Maiúscula) não diferem significativamente entre si (Teste de Tukey a 5% de significância). EC: equivalente catequina; NS: Nibs secos (liofilizados).

O cotilédone da semente de cacau fresca e liofilizada apresentou 255,3 mg EC/g. Soares (2001) e Efraim (2004) obtiveram valores de 330 e 239 mg/g de cotilédone liofilizado, respectivamente, o que coloca nossas amêndoas nesse intervalo.

Pode-se verificar que durante a fermentação houve perda de compostos fenólicos totais no nibs dos ensaios com altura de leito de 50 (C2), 30 (C4) e 20 cm (C5) e dentre esses ensaios o que apresentou menor degradação de polifenóis nessa etapa foi o ensaio C5 (14%). Os ensaios de altura de leito de 60 e 40 cm não apresentaram degradação significativa de compostos fenólicos após a fermentação, atingindo 277,8 e 248,0 mg de equivalente catequina/g NS, respectivamente.

Observa-se que houve perda significativa de compostos fenólicos após em quase todas as amostras após secagem. O ensaio de altura de 60 cm foi o que apresentou menor degradação de fenólicos após secagem ao sol (5 mg apenas) e o ensaio de 20 cm foi o que apresentou menor retenção de compostos fenólicos após esse processo (perca de 151 mg entre o início da fermentação e o fim da secagem à sombra).

O processo de secagem ao sol apresentou maior retenção de compostos fenólicos que o de secagem à sombra tanto para o ensaio com altura de leito de 60 cm quanto para o com

ensaio com altura de leito de 30 cm. Após a secagem ao sol os ensaios C1 e C3 apresentaram retenção de polifenóis de 90 e 65% em relação ao último dia de fermentação, respectivamente.

Os estudos de Lopes (2000), Mattietto (2001), Efraim (2004) e Ramôa Júnior (2011), realizados com fermentação de altura de leito de 60 cm, mostram que durante a fermentação e secagem há uma redução gradual de compostos fenólicos durante essa etapa, no entanto os resultados obtidos neste trabalho não reproduziram tal comportamento, uma vez que as condições de processo – climáticas, biológicas (flora microbiana) – podem ter influenciado.

Wollgast e Anklam (2000) também atribuem as variações nos teores de polifenóis encontrados em cacau e derivados às diferenças nas metodologias analíticas empregadas para extração e quantificação dos compostos, além da influência genética, edafoclimática e dos processos tecnológicos utilizados para a obtenção dos produtos avaliados, entre outros motivos.

#### 4.2.2 Flavanóis totais

Na Tabela 4.4 são apresentados os valores médios de flavanóis totais do nibs liofilizado da semente fresca (dia 0), após a fermentação e a secagem das amêndoas de cacau de cada ensaio.

**Tabela 4.2.2.** Valores de flavanóis totais dos cotilédones antes e após fermentação e secagem.

<i>Altura do leito de fermentação</i>	<i>Fermentação</i>		<i>Secagem à sombra</i>	<i>Secagem ao sol</i>
	<b>0</b> (mgEC/gNS)	<b>7</b> (mgEC/gNS)	<b>4</b> (mgEC/gNS)	<b>3</b> (mgEC/gNS)
<b>C1 – 60 cm</b>	63,1 ± 0,9 <sup>aA</sup>	61,5 ± 0,7 <sup>aA</sup>	43,3 ± 1,3 <sup>cA</sup>	48,4 ± 0,9 <sup>bA</sup>
<b>C2 – 50 cm</b>	63,1 ± 0,9 <sup>aA</sup>	52,6 ± 1,2 <sup>bB</sup>	26,4 ± 1,2 <sup>cC</sup>	
<b>C3 – 40 cm</b>	63,1 ± 0,9 <sup>aA</sup>	46,0 ± 1,1 <sup>bC</sup>	26,6 ± 0,4 <sup>dC</sup>	41,8 ± 1,1 <sup>cB</sup>
<b>C4 – 30 cm</b>	63,1 ± 0,9 <sup>aA</sup>	42,0 ± 2,3 <sup>bCD</sup>	31,4 ± 1,0 <sup>cB</sup>	
<b>C5 – 20 cm</b>	63,1 ± 0,9 <sup>aA</sup>	41,5 ± 1,9 <sup>bD</sup>	16,3 ± 0,7 <sup>cD</sup>	

Valores de uma mesma linha com a mesma letra (minúscula) e de uma mesma coluna com mesma letra (Maiúscula) não diferem significativamente entre si (Teste de Tukey a 5% de significância). EC: equivalente catequina; NS: Nibs secos (liofilizados).

As sementes de cacau frescas (dia 0) apresentaram valores de flavanóis de 63 mgEC/gNS representando 25% dos compostos fenólicos totais. Nota-se nos ensaios C2 a C5 que após o processo de fermentação a concentração de flavanóis diminuiu. Conforme Bracco et al (1969), a redução de flavanóis em relação à concentração de polifenóis totais pode ser um indicador importante para indicar o grau de fermentação.

O ensaio que apresentou maior conteúdo de flavanóis, após fermentação, foi C1 (60 cm) no qual não houve variação significativa, seguido do ensaio C2 (50cm), C3 (40 cm), C4 (30 cm) e C5 (20cm). Diante deste comportamento, pode-se notar que a concentração de flavanóis apresentou uma boa correlação ( $R^2 = 0,90$ ) com a altura de leito utilizada nessa etapa do pré-processamento.

Durante a etapa de secagem à sombra houve redução da concentração de flavanóis, sendo que o ensaio que apresentou maior retenção foi o C1, seguido de C4, C3, C2 e C5, possuindo tendência semelhante à obtida para compostos fenólicos. Segundo Efraim (2011), na secagem há o aumento na difusão do oxigênio na massa de amêndoas promovendo a oxidação dos flavanóis.

A secagem ao sol proporcionou menores perdas de flavanóis às amêndoas que a secagem à sombra, sendo o ensaio C1 submetido à secagem à sol foi o que apresentou maior conteúdo de flavanóis após esse processo (48,4 mgEC/gNS).

#### 4.2.3 Flavonóis totais

Na Tabela 4.5 são apresentados os valores médios de flavonóis totais do nibs liofilizado da semente fresca (dia 0), antes e após 7 dias de fermentação e a secagem das amêndoas de cacau de cada ensaio.

**Tabela 4.2.3** Valores de flavonóis totais durante a fermentação e secagem.

<i>Altura do leito de fermentação</i>	<i>Fermentação</i>		<i>Secagem à sombra</i>	<i>Secagem ao sol</i>
	<b>0</b> (mgEQ/gNS)	<b>7</b> (mgEQ/gNS)	<b>4</b> (mgEQ/gNS)	<b>3</b> (mgEQ/gNS)
<b>C1 – 60 cm</b>	0,43 ± 0,02 <sup>bA</sup>	0,48 ± 0,03 <sup>bD</sup>	0,51 ± 0,01 <sup>aB</sup>	0,52 ± 0,02 <sup>aA</sup>
<b>C2 – 50 cm</b>	0,43 ± 0,02 <sup>aA</sup>	0,47 ± 0,02 <sup>aD</sup>	0,47 ± 0,03 <sup>aB</sup>	
<b>C3 – 40 cm</b>	0,43 ± 0,02 <sup>bA</sup>	0,73 ± 0,03 <sup>aB</sup>	0,39 ± 0,01 <sup>bC</sup>	0,31 ± 0,01 <sup>cB</sup>
<b>C4 – 30 cm</b>	0,43 ± 0,02 <sup>cA</sup>	0,82 ± 0,02 <sup>aA</sup>	0,64 ± 0,02 <sup>bA</sup>	
<b>C5 – 20 cm</b>	0,43 ± 0,02 <sup>bA</sup>	0,64 ± 0,01 <sup>aC</sup>	0,32 ± 0,01 <sup>cD</sup>	

Valores de uma mesma linha com a mesma letra (minúscula) e de uma mesma coluna com mesma letra (Maiúscula) não diferem significativamente entre si (Teste de Tukey a 5% de significância). EQ: equivalente quercetina; NS: Nibs secos (liofilizados).

A concentração de flavonóis presente no nibs da semente de cacau fresca foi muito baixa (0,43 mg EQ/gNS). Verifica-se que durante a fermentação, os ensaios não apresentaram degradação de flavonóis durante a fermentação e secagem, exceto ensaio C3 seco ao sol e C5

que atingiram 0,3 mg de equivalente quercetina/ g de nibs seco. Em absoluto, como todos os valores flutuaram entre 0,31 e 0,82mg/gNS (menos de 0,5% dos polifenóis totais), as variações apresentados são pouco relevantes para o processamento dessas amêndoas.

#### 4.2.4 Proantocianidinas

Na Tabela 4.6 são apresentados os valores médios de proantocianidinas do nibs liofilizado da semente fresca (dia 0), antes e depois de sete dias de fermentação e a secagem das amêndoas de cacau de cada ensaio.

**Tabela 4.2.4.** Valores de proantocianidinas durante a fermentação e secagem.

<i>Altura do leito de fermentação</i>	<i>Fermentação</i>		<i>Secagem à sombra</i>	<i>Secagem ao sol</i>
	<b>0</b> (mgECi/gNS)	<b>7</b> (mgECi/gNS)	<b>4</b> (mgECi/gNS)	<b>3</b> (mgECi/gNS)
<b>C1 – 60 cm</b>	12,3 ± 1,0 <sup>bA</sup>	15,3 ± 0,3 <sup>aB</sup>	10,4 ± 0,3 <sup>cA</sup>	15,6 ± 0,1 <sup>aA</sup>
<b>C2 – 50 cm</b>	12,3 ± 1,0 <sup>aA</sup>	7,6 ± 0,5 <sup>bD</sup>	11,0 ± 0,4 <sup>aA</sup>	
<b>C3 – 40 cm</b>	12,3 ± 1,0 <sup>bA</sup>	17,0 ± 0,3 <sup>aA</sup>	5,9 ± 0,3 <sup>cC</sup>	7,1 ± 0,5 <sup>cB</sup>
<b>C4 – 30 cm</b>	12,3 ± 1,0 <sup>aA</sup>	11,9 ± 0,5 <sup>aC</sup>	8,3 ± 0,5 <sup>bB</sup>	
<b>C5 – 20 cm</b>	12,3 ± 1,0 <sup>aA</sup>	8,3 ± 0,8 <sup>bD</sup>	6,3 ± 0,6 <sup>bC</sup>	

Valores de uma mesma linha com a mesma letra (minúscula) e de uma mesma coluna com mesma letra (Maiúscula) não diferem significativamente entre si (Teste de Tukey a 5% de significância). ECi: equivalente cianidina; NS: Nibs secos (liofilizados).

As sementes de cacau frescas (dia 0) apresentaram valores de proantocianidinas de 12,3 mg ECi/gNS representando 5% dos compostos fenólicos. Os ensaios de 50 e de 20 cm apresentaram redução significativa de proantocianidinas durante a fermentação. Os nibs que apresentaram maior conteúdo de proantocianidinas, após a fermentação, foram os ensaios C3 e C1, seguido de C4, C5 e C2.

Observa-se que os ensaios apresentaram perda significativa de proantocianidinas durante secagem. O ensaio de altura de 60 e 50 cm foram os que apresentaram menor degradação de proantocianidinas após secagem à sombra e o ensaio de 20 cm foi o que apresentou menor retenção de tal composto após esse processo.

O processo de secagem ao sol apresentou maior retenção de proantocianidinas que o de secagem à sombra para o ensaio com altura de leito de 60 cm, que atingiu 15,6 mg ECi/g NS.

Algumas referências como de Soares (2001) e Wayenbergh (2010) indicam que, ao invés de perdas pode ocorrer aumento no teor de proantocianidinas totais na fermentação e na secagem. Esse aumento pode estar relacionado com a polimerização de flavanóis em taninos condensados durante a fermentação e secagem e com a metodologia empregada, que pode estar avaliando o conteúdo de proantocianidinas totais levando em consideração as moléculas desse composto que sofreram oxidação enzimática e reagiram com aminoácidos.

### 4.3 QUANTIFICAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Na Figura 4.7 são apresentados os valores de atividade antioxidante (DPPH) do nibs liofilizado da semente fresca (dia 0), durante a fermentação e a secagem das amêndoas de cacau de cada ensaio.

**Tabela 4.3.1** Valores DPPH durante a fermentação e secagem.

<i>Altura do leito de fermentação</i>	<i>Fermentação</i>		<i>Secagem à sombra</i>	<i>Secagem ao sol</i>
	<b>0</b> ( $\mu\text{molET/gNS}$ )	<b>7</b> ( $\mu\text{molET/gNS}$ )	<b>4</b> ( $\mu\text{molET/gNS}$ )	<b>3</b> ( $\mu\text{molET/gNS}$ )
<b>C1 – 60 cm</b>	24,2 $\pm$ 0,2 <sup>ba</sup>	26,7 $\pm$ 0,5 <sup>aA</sup>	14,7 $\pm$ 0,2 <sup>dB</sup>	16,6 $\pm$ 0,4 <sup>cA</sup>
<b>C2 – 50 cm</b>	24,2 $\pm$ 0,2 <sup>aA</sup>	13,6 $\pm$ 0,2 <sup>cD</sup>	20,1 $\pm$ 0,8 <sup>ba</sup>	
<b>C3 – 40 cm</b>	24,2 $\pm$ 0,2 <sup>aA</sup>	14,7 $\pm$ 0,3 <sup>cD</sup>	19,3 $\pm$ 0,9 <sup>ba</sup>	10,1 $\pm$ 0,2 <sup>dB</sup>
<b>C4 – 30 cm</b>	24,2 $\pm$ 0,2 <sup>aA</sup>	18,9 $\pm$ 0,7 <sup>bb</sup>	13,8 $\pm$ 0,9 <sup>cB</sup>	
<b>C5 – 20 cm</b>	24,2 $\pm$ 0,2 <sup>aA</sup>	17,1 $\pm$ 0,8 <sup>bc</sup>	8,3 $\pm$ 0,5 <sup>cC</sup>	

Valores de uma mesma linha com a mesma letra (minúscula) e de uma mesma coluna com mesma letra (Maiúscula) não diferem significativamente entre si (Teste de Tukey a 5% de significância). ET: equivalente Trolox; NS: Nibs secos (liofilizados).

As amêndoas de cacau de todos os ensaios apresentaram redução de 22 à 44% da atividade antioxidante após a fermentação, exceto o ensaio com altura de leito de 60 cm que atingiu valores de DPPH de 26,7  $\mu\text{mol}$  de equivalente trolox/gNS. A redução pode ser ocasionada pela redução no teor de flavan-3-óis e possivelmente pela complexação das procianidinas com as proteínas, já que de acordo com Kaisu et al. (2005) os flavanóis e as procianidinas exercem grande influência sobre a capacidade antioxidante DPPH.

No estudo de Ramôa Junior, que utilizou altura de leito de 60 cm, obteve estabilização da capacidade antioxidante durante a fermentação. Tal estabilização pode ser explicada em partes pela provável inativação da enzima polifenoloxidase, pela redução da umidade das sementes, assim como pela difusão dos constituintes internos, entre eles os antioxidantes, das células para o cotilédone.

Os ensaios que apresentaram maior capacidade antioxidante foram os ensaios com altura de leito de 50 e 40 cm submetidos a secagem à sombra ( $\approx 20 \mu\text{molET/gNS}$ ).

A secagem a sombra e ao sol apresentaram diferença significativa. Para o ensaio C1 a secagem à sol mostrou maior conservação da capacidade antioxidante, já para o ensaio C3 a secagem a sombra apresentou maior valor DPPH.

#### 4.4 QUANTIFICAÇÃO DA ADSTRINGÊNCIA

Na Figura 4.8 são apresentados os valores de adstringência do nibs liofilizado da semente fresca (dia 0), no começo e depois da fermentação e da secagem das amêndoas de cacau de cada ensaio.

**Tabela 4.4.1** Valores de adstringência durante a fermentação e secagem.

<i>Altura do leito de fermentação</i>	<i>Fermentação</i>		<i>Secagem à sombra</i>	<i>Secagem ao sol</i>
	<b>0</b> (NTU)	<b>7</b> (NTU)	<b>4</b> (NTU)	<b>3</b> (NTU)
<b>C1 – 60 cm</b>	384,6 ± 0,3 <sup>aA</sup>	307,0 ± 13,7 <sup>bAB</sup>	300,0 ± 8,0 <sup>bB</sup>	201,0 ± 2,0 <sup>cA</sup>
<b>C2 – 50 cm</b>	384,6 ± 0,3 <sup>aA</sup>	212,3 ± 1,7 <sup>cC</sup>	278,5 ± 2,5 <sup>bB</sup>	
<b>C3 – 40 cm</b>	384,6 ± 0,3 <sup>aA</sup>	298,5 ± 3,0 <sup>bAB</sup>	295,0 ± 1,4 <sup>bB</sup>	120,5 ± 2,5 <sup>cB</sup>
<b>C4 – 30 cm</b>	384,6 ± 0,3 <sup>aA</sup>	337,5 ± 0,9 <sup>bA</sup>	349,0 ± 1,2 <sup>bA</sup>	
<b>C5 – 20 cm</b>	384,6 ± 0,3 <sup>aA</sup>	262,0 ± 3,0 <sup>BC</sup>	231,0 ± 1,7 <sup>cC</sup>	

Valores de uma mesma linha com a mesma letra (minúscula) e de uma mesma coluna com mesma letra (Maiúscula) não diferem significativamente entre si (Teste de Tukey a 5% de significância). NTU: Unidades Nefelométrica de Turbidez.

Pode-se verificar que os ensaios apresentaram redução da adstringência durante a fermentação, mas principalmente após secagem ao sol.

O ensaio com 30 cm de leito (C4), mostrou-se com os maiores valores de adstringência após a fermentação e secagem, sendo 337 e 349 NTU, respectivamente. Não foi verificada nenhuma correlação entre a altura de leito, teor de proantocianidinas e adstringência após fermentação e secagem destas sementes.



## 5 CONCLUSÃO

- As amêndoas de todos os ensaios foram classificadas como Tipo I, pois revelou a ausência de odores estranhos para todos os ensaios. Conforme Brasil (2008), todos os ensaios foram classificados como Tipo I, pois apresentaram porções de amêndoas danificadas e mofadas até 4% e de ardósia e germinadas de até 5%.
- A prova de corte realizada com as amêndoas fermentadas e secas foi um indicativo inicial da ocorrência de reações físico-químicas para o desenvolvimento do sabor de chocolate, indicando que o ensaio com altura de 20 cm foi o que apresentou maiores números de amêndoas marrons e menor retenção de compostos fenólicos e atividade antioxidante.
- As amêndoas submetidas à secagem a sombra não atingiram umidade abaixo de 8% após 4 dias, tornando-as inadequadas para armazenamento e comercialização, Brasil (2008).
- O ensaio feito com altura de leito de 60 cm (convencional) foi o que apresentou maior retenção de compostos fenólicos após a fermentação e a secagem tanto a sol como a sombra.
- O ensaio convencional foi que apresentou maior atividade antioxidante após a fermentação, no entanto o ensaio de altura de leito de 50 cm apresentou maior valor DPPH após secagem sombra atingindo 20,1  $\mu\text{mol}$  equivalente Trolox/g.
- A secagem a sol mostrou ser o processo mais recomendado que a secagem a sombra quanto à conservação dos compostos fenólicos e a secagem a sombra mostrou-se mais indicado na conservação da atividade antioxidante (DPPH).
- A análise de adstringência, proposta por HANA, não foi considerada um bom indicativo para acompanhar as reações bioquímicas decorrentes da fermentação e secagem, visto que não apresentaram nem uma correlação com teor de proantocianidinas.
- Dentre as análises realizadas, polifenóis totais e flavanóis totais podem ser mostradas como um bom indicativo do grau de fermentação.

## REFERÊNCIAS

ADMIN. The Impact of Weather Events on Cocoa Production. 2011. Disponível em: <http://blog.soliditytrade.com/page/2/>. Acessado em: 15/12/2011.

AFOAKWA, E.O. **Chocolate Science and Technology**. Editora Wiley-Blackwell Inc., Oxford, UK., 2010.

AFOAKWA, E. O., PATERSON, A., FOWLER, M. Factors influencing rheological and textural qualities in chocolate – a review. **Trends in Food Science & Technology**, n.18, 2007.

ALMEIDA, C.M.V.C; NETO, F.A. Custo de produção de sementes de variedades híbridas de cacau em Rondônia – Brasil. **Agrotrópica**, 12, p. 129-134, 2000.

ANDRES-LACUEVA, C.; MONAGAS, M.; KHAN, N.; IZQUIERDO-PULIDO, M.; URPI-SARDA, M.; PERMANYER, J.; LAMUELA-RAVENTOS, R. M. Flavanol and flavonol contents of cocoa powder products: influence of the manufacturing process. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 9, 2008.

ANKLAM, E.; WOLLGAST, J. Review on polyphenols in Theobroma cacao: changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. **Food Research International**. 33, 423-447, 2000.

AOAC. **Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists**, 16ed. 1997.

ARAGÃO, C.G. **Mudanças físicas e químicas da semente do cupuaçu (*Theobroma graniflorum* Schum) durante o processo fermentativo**. Dissertação de Mestrado. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia. INPA. Universidade de Amazonas. 1992.

BECKETT, S. T. **Industrial chocolate manufacture and use**. 2 ed. London: Chapman and Hall, 1994. 408 p.

BECKETT, S. T. **Industrial chocolate Manufacture and use**, 4 ed. Chichester: John Wiley Sons Ltda, 2009.

BIEHL, B; WEWETZER, C.; PASSERN, D. Vacuolar (storage) proteins of cocoa seeds and their degradation during germination and fermentation. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. Vol. 33. 1982.

BLIGH, E.G.; DYER, W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal Biochemistry and Physiology** 1959, 37, 911.

BRACCO, U.; GRAILHE, N.; ROSTANGO, W.; EGLI, R. Analytical Evaluation of cocoa curing in the Ivory Coast. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 1969.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - Instrução Normativa nº 57, de 12 de nov. de 2008. Regulamento Técnico da Amêndoa de Cacau. **Diário Oficial da União**, 13 nov. 2008.

BRITO, E. S. **Estudo de mudanças estruturais e químicas produzidas durante a fermentação, secagem e torração de amêndoas de cacau (*Theobroma cacao* L.) e propostas de tratamento para o melhoramento de sabor**. 2000. 134 p. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP.

BRITO, E.S.; GARCÍA, N.H.P.; AMÂNCIO, A.C. Effect of polyphenol oxidase (ppo) and air treatments on total phenol and tannin content of cocoa nibs. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, 22(1): 45-48, jan.-abr. 2002

BRUNETTO, M. R.; GUTIÉRREZ, L.; DELGADO, Y.; GALLIGNANI, M.; ZAMBRANO, A., GÓMEZ, A.; RAMOS, G.; ROMERO, C. Determination of theobromine, theophylline and caffeine in cocoa samples by a high-performance liquid chromatographic method with on-line sample cleanup in a switching-column system. **Food Chemistry**, v. 100, p. 459–467, 2007).

CARVALHO, E.B. **Estudos da interação entre proteínas e taninos: Influência da presença de polissacarídeos**. Universidade do Porto. Faculdade de Ciências. Departamento de química. Tese de doutorado. 2007.

CEPLAC. Comissão Executiva do Plano de Lavoura cacaueira. **Normas técnicas para cultivo do cacau no Recôncavo Baiano**. Ilhéus. 1980.

CEPLAC. **Frutal Amazônia-Flor Pará/2011**. Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira, outubro de 2011. Disponível em: <http://www.ceplacpa.gov.br/site/?p=2678>. Acessado em: 15 de novembro de 2011.

CEPLAC. **Qualidade do cacau no Brasil: Atual e perspectivas**. III Congresso Brasileiro do cacau: inovação tecnológica e sustentabilidade. Palestra. 2012. Disponível em: [http://www.ceplac.gov.br/paginas/cbc/paginas/palestras/P3\\_1.pdf](http://www.ceplac.gov.br/paginas/cbc/paginas/palestras/P3_1.pdf). Acessado em abril de 2013.

CHANG, C.C.; YANG, M. H.; WEN, H.M., CHERN, JC. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. **Journal of Food and Drug Analysis**, 10, p. 178-182, 2002.

CHATT, E.M. Cocoa. . **Interscience Publishers**. Vol. III. New York. 1953.

COUNET, C.; OUWERX, C.; ROSOUX, D.; COLLIN, S. Relationship between procyanidin and flavor contents of cocoa liquors from different origins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2004.

CRUZ, C. L. C. V. **Melhoramento do sabor de amêndoas de cacau através de tratamento térmico em forno convencional e de microondas**. Dissertação de Mestrado em Tecnologia de Alimentos. Faculdade de Engenharia de Alimentos. Universidade Estadual de Campinas. Campinas, SP. 2002.

CRUZ, J.F.M. **Caracterização das sementes de variedades de cacau Theobroma cacao L. resistentes à vassoura de bruxa durante a fermentação e após a secagem**. Dissertação de mestrado. Salvador, Bahia. Universidade Federal da Bahia. Programa de pós-graduação em ciência e tecnologia de alimentos. 2012.

CUATRECASAS, J. Cacao and its allies: a taxonomic revision of the genus Theobroma. Contributions From The United States National Herbarium . 1964.

DIAS, J.C. **Influência do tamanho do fermentador e da época no tempo de fermentação e acidez do cacau**. Belém, CEPLAC/SUPOR. Boletim Técnico nº 16. 1998.

DELCOUR, J.A.; VAREBEKE, D.; JANSSENS D.E. A new colourimetric assay for flavanoids in pilsner beers, **Journal of Institute of Brewing**, 91 : 37–40, 1985

EFRAIM, P. **Estudo para minimizar as perdas de flavonóides durante a fermentação de cacau para produção de chocolate**. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP. 2004. 114 p.

EFRAIM, P.; PEZOA-GARCÍA, N. H.; JARDIM, D. C. P.; NISHIKAWA, A.; HADDAD, R.; EBERLIN, M. N. Influência da fermentação e secagem de amêndoas de cacau no teor de compostos fenólicos e na aceitação sensorial. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, p. 142-150, 2010.

EFRAIM, P.; ALVES, A.B.; JARDIM, D.C.P. Review: Polyphenols in cocoa and derivatives: factors of variation and health effects. **Braz. J. Food Technol.**, v. 14, n. 3, p. 181-201. 2011.

FABORODE, M. O.; FAVIER, J. F.; AJAYI, O. A. On the effects of forced air drying on cocoa quality. **Journal of Food Engineering**, London, v. 25, n. 4, p. 455-472, 1995

FERNÁNDEZ-PACHÓN, M.S.; VILLANO, D.; TRONCOSO, A.M.; GARCIA-PARRILLA, M.C. Determination of the phenolic composition of sherry and table White wines by liquid chromatography and their relation with antioxidant activity. **Analytica chimica acta**, 563, 101-108, 2006.

FERRÃO, J. E.M. A ‘morte da semente’ sua importância na tecnologia pós-colheita do cacau. **Revista de Ciências Agrárias**. 2007.

FLEURIET, A.; MACHEIX, J.J. In: RICE-EVANS, C.; PACKER, LESTER. **Flavonoids in health and disease**. 2nd edition. Marcel Dekker, Inc. p. 1-42. 2003.

FORSYTH, W. G. C.; QUESNEL, V. C. Cocoa glycosidase and color changes during fermentation. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 8, n. 9, p. 505-509, 1957.

FREIRE, E.S.; ROMEU, A.P.; PASSOS, F.V. **Aproveitamento de resíduos e subprodutos da pós-colheita do cacau**. Ilhéus. CEPLAC/ CEPEC. 1990.

GOLDONI, J. S.; GOLDONI, C. L. Fermentação Láctica de Hortaliças e Azeitonas. In: AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHMIDELL, W.; LIMA, U. A (Coord.). **Biotecnologia Industrial: Biotecnologia na Produção de Alimentos**. Blücher, 2008. 523p.

HAGERMAN, A.E. The Tannin Handbook. Miami University Oxford, 2002. Disponível em: <http://chemistry.muohio.edu/hagerman/index.php/handbook>. Acessado em: 18 de novembro de 2011.

HANSEN, C.E.; DEL OLMO, M.; BURRI, C. Enzyme activities in cocoa beans during fermentation. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. London. v.77, 1998.

HORNE J, HAYES J, LAWLESS H.T. Turbidity as a measure of salivary proteins reactions with astringent substances. **Chemical Senses**, 27:653–659: 2002.

ICCO - International Cocoa Organization. Disponível em [www.icco.org](http://www.icco.org). Acessado em 07 de agosto de 2011.

IBGE. Indicadores IBGE. **Estatística da Produção Agrícola**. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Abril, 2013.

INMET. **Instituto Nacional de Meteorologia**. Estações e Dados. Estação Tomé Açú. Período 19 a 30 de julho de 2012. Disponível em: [http://www.inmet.gov.br/portal/index.php?r=home/page&page=rede\\_estacoes\\_auto\\_graf](http://www.inmet.gov.br/portal/index.php?r=home/page&page=rede_estacoes_auto_graf). Acessado em: outubro de 2012.

JESPERSEN, L., NIELSEN, D.S., HONHOLT, S., JAKOBSEN, M., Occurrence and diversity of Yeast involved in fermentation of West African cocoa beans. **FEMS Yeast Res.**, 5: 441–453, 2005.

JULKUNEN-TIITTO, R. Phenolic constituents in the leaves of Northern Willows: methods for the analysis of certain phenolics. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 33: 213-217, 1985.

KAISU, R. M., MARJA, P. K., TORRONEN, A. R., HEINONEN I. M. Catechins and Procyanidins in Berries of Vaccinium Species and Their Antioxidant Activity **J. Agric. Food Chem.**, 53: 8485-8491, 2005.

KIM, J., LEE, K.W., LEE, H.J. Cocoa (*Theobroma cacao*) Seeds and Phytochemicals in Human Health. In: PREEDY, V.R.; WATSON, R.R.; PATEL, V. B. Nuts & Seeds in Health and Disease Prevention. London. **Elsevier**. 2011.

KUMAR, B.; SANDHAR, H.K.; PRASHER, S.; TIWARI P.; SALHAN, M.; SHARMA, P. A Review of Phytochemistry and Pharmacology of Flavonoids. **Internationale Pharmaceutica Scientia**, vol. 1, 25-41. 2011.

KWIK-URIBE, C. Potential Health Benefits of Cocoa Flavanols. **The Manufacturing Confectioner**, v. 85, n. 10, 2005.

KYI, T.M.; DAUD, W.R.W.; MOHAMAD, A.B.; SAMSUDIN, M.W.; KADHUM, A.H.; TALIB, M.Z.M. The kinetics of polyphenol degradation during the drying of Malaysian cocoa beans. **International Journal of Food Science and Technology**. 2005.

LAFAY, S.; GIL-IZQUIERDO, A. Bioavailability of phenolic acids. **Phytochemistry Review**. v. 7. p. 301-311. 2007.

LEÃO, S.N.A. **Evolução dos compostos fenólicos totais e da capacidade antioxidante de sementes de cacau (*Theobroma cacao* var. *forastero*) durante distintos processos de fermentação e secagem**. Trabalho de Conclusão de Curso. Faculdade de Engenharia de alimentos. Universidade Federal do Pará. 2010.

LEE, K. W; KIM, Y. K.; LEE, H. J.; LEE, C. Y. Cocoa has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 25,2003.

LEITE, P. **Caracterização de chocolates provenientes de variedades de cacau *Theobroma cacao* L resistentes a vassoura de bruxa**. Dissertação de mestrado. Salvador, Bahia. Universidade Federal da Bahia. Programa de pós-graduação em ciência e tecnologia de alimentos. 2012.

LOPES, A.S. **Estudo químico e nutricional de amêndoas de cacau (*Theobromaa cacao* L.) e cupuaçu ( *Theobroma grandiflorum* Schum) em função do processamento**. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP, 2000.

LOPES, A.S., PEZOA GARCIA, N.H., FARFÁN, J.A. Avaliação da qualidade protéica de amêndoas de cacau (*Theobroma cacao* L) e cupuaçu (*Theobroma gradiflorum Schum*) em função do processamento. In: **XVII Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos**. 2000.

LOPEZ, A.S; QUESNEL, V.C., Volatile fatty acid production in cacao fermentation and the effect on chocolate flavour. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 24, n. 3, p. 319-324, 1973.

LUNA, F.; CROUZILLAT, D.; CIROU, L.; BUCHELI, P. Chemical composition and flavor of Ecuadorian cocoa liquor. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 12, 2002.

MANACH ET AL, C.; SCALBERT, A.; MORAND, C.; RÉMÉSY, C.; JIMÉNEZ, L. Polyphenols: food sources and bioavailability. **American Society for Clinical Nutrition**. v. 79. p. 727-747. 2004.

MAO, T. K.; POWELL, J. W.; KEEN, C. L.; SHIMITZ, H. H; HAMMERSTONE, J. F.; GERSHWIN, M. E. The effect of cocoa procyanidins on the transcription and secretion of interleukin 1 $\beta$  in peripheral blood mononuclear cells. **Life Sciences**, Elmsford, v. 66, 2000. In: EFRAIM, P.; ALVES, A.B.; JARDIM, D.C.P. Review: Polyphenols in cocoa and derivatives: factors of variation and health effects. **Braz. J. Food Technol.**, v. 14, n. 3, p. 181-201. 2011.

MATTIETTO, R.A. **Estudo comparativo das transformações estruturais e físico-químicas durante o processo fermentativo de amêndoas de cacau (*Theobroma cacao L.*) e cupuaçu (*Theobroma grandiflorum Schum*)**. Dissertação de mestrado em Tecnologia de Alimento. Faculdade de Engenharia de Alimentos. UNICAMP, 2001. 164p.

MCMURROUGH, I.; BAERT, T. Identification of Proanthocyanidins in Beer and Their Direct Measurement with a Dual Electrode Electrochemical Detector. **J. Inst. Brewing**. 100:409-416. 1994.

MEYER, B.; BIEHL, B.; SAID, M.B.; SAMARAKODDY, R. J. Post-harvest pod storage: A method for pulp preconditioning to impair strong nib acidification during cocoa fermentation in Malaysia. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. v.48, n. 3, 1989. In: ARAGÃO, C.G. Mudanças físicas e químicas da semente do cupuaçu (*Theobroma graniflorum Schum*) durante o processo fermentativo. Dissertação de Mestrado. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia. INPA. Universidade de Amazonas. 1992.

MINIFIE, B.W. Chocolate, cocoa and confectionery. **Science and technology**. 3.ed. West. 1970.

MINIFIE, B.W. Chocolate, cocoa and confectionery. **Science and technology**. 3.ed. New York: AnAv, 1989. 904.

MISNAWI; JINAP, S.; JAMILAH, B.; NAZAMID, S. Changes in polyphenol ability to produce astringency during roasting of cocoa liquor. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 85, n. 6, 2005.

MORORÓ, R.C. **Aproveitamento dos subprodutos, derivados e resíduos do cacau**. In: III Congresso Brasileiro do Cacau. Inovação Tecnológica para liderar a produção e qualidade do cacau. Ilhéus. BA. 2012.



MOTAMAYOR JC, LACHENAUD P, SILVA E MOTA J, LOOR R, KUHN D, BROWN S, SCHENELL R. Geographic and genetic population differentiation of the amazonian chocolate tree (*Theobroma cacao* L.). **PLoS ONE** 3(10): e3311. 2008.

NIELSEN, D. S.; TENIOLA, O. D.; BAN-KOFFI, L.; OWUSU, M.; ANDERSSON, T.; HOLZAPFEL, W. H. The microbiology of Ghanaian cocoa fermentations analysed using culture-dependent and culture-independent methods. **Int J Food Microbiol.** 114, 2007.

OETTERER, M. **Tecnologias de obtenção do cacau, produtos do cacau e do chocolate.** In: OETTERER, M., REGITANO, M.A.B., SPOTO, M.H.F. Fundamentos de Ciência e Tecnologia de Alimentos. Editora Manole Ltda. São Paulo, 2006.

OKEY, E.D.; DUCAN, E.S.; SIRJU-CHARRAN, G.; SREENIVASAN, T.N. Phytophthora canker resistance in cacao: role of peroxidase, polifenol oxidase and phenylalanine ammonia-lyase. **Phytopathologische Zeitschrift**, 1995.

OLIVEIRA, M. A.; **Extração de Polifenóis da Semente de Cacau (theobroma cação).** Universidade Federal de Santa Catarina; Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, novembro de 2005.

ORTEGA, N.; ROMERO, M.P.; MACIA, A.; REGUANT, J.; ANGLES, N.; MORELLO, J.R.; MOTILVA, M.J. Obtention and Characterization of Phenolic Extracts from Different Cocoa Sources. **J. Agric. Food Chem.** 56: 9621–9627. 2008.

PINA, M.G.M. **Aproveitamento de subprodutos e resíduos de cacau.** In: SILVA NETO, P.J.; MATOS, P.G.G.; MARTINS, A.C.S.; SILVA, A.P. Sistema de produção de cacau para a Amazônia brasileira. Belém. CEPLAC, 2001.

PRAJAPATI, J. B.; NAIR, B. M. The History of Fermented Foods. In.: Farnworth, E. R. **Handbook of Fermented Functional Foods.** CRC Press, 2008. p. 1-24.

PUGLIESE, A.G. **Compostos fenólicos do cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) e do cupulate: composição e possíveis benefícios.** Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos). Universidade de São Paulo. USP. 2010.

RAMÔA JÚNIOR, A.G.A. **Comportamento cinético de compostos polifenólicos e enzimas oxidativas na fermentação de cacau da Amazônia.** . Dissertação de Mestrado em Ciencia e Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal do Pará. 2011.

REEVES, S.G.; MCDOWELL, I.; BEHN, K.; DENCH, J. Biochemical studies of cocoa bean *o*-diphenol O<sub>2</sub> oxidoreductase (catechol oxidase). **Food Chemistry**. Oxford, v.29, 1988.

ROHAN, T.A; CONNELL, M. The precursors of chocolate aroma: A study of the flavonoids and phenolic acids. **Journal of Food Science**, v. 29, p. 460-463, 1964.

RUSCONI, M.; CONTI, A. Review Theobroma cacao L., the Food of the Gods: A scientific approach beyond myths and claims. **Pharmacological Research**. 2010. 5–13.

SAGRI. Secretaria de Estado de Agricultura. Pará. **A Fruticultura no Estado do Pará**. 2011. Disponível em: [www.sagri.pa.gov.br/files/pdfs/SEB\\_Cartilha\\_Frutal\\_18x21cm\\_OUT11\\_FINAL.pdf](http://www.sagri.pa.gov.br/files/pdfs/SEB_Cartilha_Frutal_18x21cm_OUT11_FINAL.pdf). Acessado em 20/03/2013.

SAGRI. Secretaria de Estado de Agricultura. Pará. **Produtores querem preço mínimo para o cacau**. Notícias. 27/03/2013. Disponível em: [http://www.sagri.pa.gov.br/noticias/view/300/produtores\\_querem\\_preco\\_minimo\\_para\\_o\\_cacau](http://www.sagri.pa.gov.br/noticias/view/300/produtores_querem_preco_minimo_para_o_cacau). Acessado em: 30/03/2013.

SANBONGI, C.; OSAKABE, N.; NATSUME, M.; TAKIZAWA, T.; GOMI, S.; OSAWA, T. Antioxidative polyphenols isolated from Theobromacacao. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Washington, v. 46, 1998. In: EFRAIM, P.; ALVES, A.B.; JARDIM, D.C.P. Review: Polyphenols in cocoa and derivatives: factors of variation and health effects. **Braz. J. Food Technol.**, v. 14, n. 3, p. 181-201. 2011.

SCALBERT, A. **Quantitative methods for the estimation of tannins in plant tissues**. In HEMINGWAY, R.W., LAKS, P.E., *Plant Polyphenols: Synthesis, Properties, Significance*. Plenum Press. 1992.

SCHWAN, R.F; LOPEZ, A. SILVA, D.O. VANETTI, M.C.D. Influência da frequência e intervalos de revolvimento sobre a fermentação do cacau e qualidade do chocolate. **AGROTÍPICA**. 1990.

SCHWAN R.F., WHEALS A.E., The microbiology of cocoa fermentation and its role in chocolate quality. **Rev. Food Sci. Nutr.**, 2004.

SERRA, W. S. **Manual do Cacaicultor: com perguntas e respostas**. 2004.

SHOFIELD, P.; MBUGUA, D.M.; PELL, A.N. **Analysis of condensed tannins: a review.** *Animal Feed Science and Technology*, 91, p.21-40, 2001.

SILVA, E.M., SOUZA, J.N.S., ROGEZ, H., REES, J-F., LARONDELLE, Y. Antioxidant activities and polyphenolic contents of fifteen selected plant species from the Amazonian Region. **Food Chemistry**, v.101, p.1012 - 1018, 2007.

SILVA, E.M. **Polyphenols from the Amazonia plant *Inga edulis*: process optimization for the production of purified extracts with high antioxidant capacity.** PhD Thesis, Université Catholique de Louvain-la-Neuve, Belgium. 2006.

SILVA, S.; TASSARA, H. *Frutas Brasil Frutas*. Empresa de Artes. 2005.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **Am. J. Enol. Vitic**, 1965.

SOARES, M.S. **Estudo do melhoramento do sabor de cacao (*Theobroma cacao* L.) através de ação enzimática durante a fermentação.** Dissertação de Mestrado. Faculdade de Engenharia de Alimentos. Universidade Estadual de Campinas. UNICAMP, 2001.

SPOLADORE, D.SO.; TEIXEIRA, J.P.F.; MORAES,R.M.; ZTJLLO, M.A.T. Composição química de amêndoas fermentadas de cacau. Bragantina. **Revista Científica do Instituto Agrônômico**. 1983.

STEINBERG, F. M.; BEARDEN, M. M.; KEEN, C. L. Cocoa and chocolate flavonoids: Implications for cardiovascular health. **Journal of the American Dietetic Association**, Chicago, v. 103, 2003. In: EFRAIM, P.; ALVES, A.B.; JARDIM, D.C.P. Review: Polyphenols in cocoa and derivatives: factors of variation and health effects. **Braz. J. Food Technol.**, v. 14, n. 3, p. 181-201. 2011.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**, 3° ed. Artmed, 2004.

THOMPSON, S.S., MILLER, K.B., LOPEZ, A.S. Cocoa and coffee. In: Doyle, M.J., Beuchat, L.R., Montville, T.J. (Eds.), **Food Microbiology— Fundamentals and frontiers**. pp. 721–733. 2001.

WATERHOUSE, A. L.; SIRLEY, J. R.; DONOVAN, J. L. **Antioxidants in chocolate.** *The Lancet*, n. 348, p. 834, 1996.

WAYENBERGH, A. **Evolution des flavanols et tannins condensés au cours de divers types de fermentations et séchages d'amandes de cacao d'Amazonie brésilienne.** Mémoire de fin d'études. Université libre de bruxelles, université d'europe. Ecole interfacultaire de bioingénieurs, 2010.

WOLLGAST, J., ANKLAM, E. : Polyphenols in chocolate: is there a contribution to human health. **Food Research International** 33: 449–459, 2000.

WOLLGAST, J. : The content and effect of polyphenols in chocolate, PhD Thesis, University of Gießen, Allemagne, 20.

ZAMALLOA, W.A.C. **Caracterização físico-química e avaliação de metilpirazinas no desenvolvimento do sabor, em dez cultivares de cacau (*Theobroma cacao L.*) produzidos no Estado de São Paulo.** Dissertação (Mestrado). Faculdade de Engenharia de Alimentos. UNICAMP. 1994.

## ANEXOS

**ANEXO I** - Controle da temperatura média obtida da massa de sementes de cacau durante a fermentação para cada ensaio.

**Tabela A 1.** Variação de temperatura da massa de sementes de cacau durante a fermentação para os diferentes ensaios.

Tempo de fermentação (dias)	0	1	2	3	4	5	6	7
<b>Caixa</b>	<b>Temperatura da manhã (Tm)</b>							
<b>60 cm</b>	31±0,8 <sup>dB</sup>	31±0,8 <sup>dB</sup>	33±2,3 <sup>dC</sup>	47±2 <sup>abA</sup>	50±0,7 <sup>aA</sup>	44±0,5 <sup>cA</sup>	45±0,8 <sup>cbA</sup>	45±1,7 <sup>cbA</sup>
<b>50 cm</b>	34±0,9 <sup>cA</sup>	34±0,9 <sup>cA</sup>	38±1,5 <sup>bB</sup>	45±1,5 <sup>aBC</sup>	46±0,5 <sup>aB</sup>	45±0,8 <sup>aA</sup>	44±0,5 <sup>aA</sup>	44±1,5 <sup>aA</sup>
<b>40 cm</b>	34±0,4 <sup>dA</sup>	34±0,4 <sup>dA</sup>	39±1,5 <sup>cAB</sup>	44±2,2 <sup>bC</sup>	49±2,5 <sup>aA</sup>	45±0,9 <sup>bA</sup>	46±1,9 <sup>bA</sup>	44±1,1 <sup>bA</sup>
<b>30 cm</b>	34±0,5 <sup>eA</sup>	34±0,5 <sup>eA</sup>	41±0,5 <sup>dA</sup>	50±1,3 <sup>aA</sup>	46±0,9 <sup>bcB</sup>	47±2,5 <sup>bA</sup>	45±1,4 <sup>bcA</sup>	44±0,5 <sup>cdA</sup>
<b>20 cm</b>	34±0,1 <sup>dA</sup>	35±0,5 <sup>dA</sup>	38±0,7 <sup>cB</sup>	47±1,5 <sup>aAB</sup>	45±0,9 <sup>bB</sup>	45±0,8 <sup>bA</sup>	44±1,7 <sup>bA</sup>	43±1,6 <sup>bA</sup>
<b>Caixa</b>	<b>Temperatura da tarde/antes do revolvimento (Ta)</b>							
<b>60 cm</b>	35±0,7 <sup>fA</sup>	32±0,5 <sup>gB</sup>	41±0,9 <sup>eB</sup>	47±0,5 <sup>aA</sup>	44±0,8 <sup>bcAB</sup>	43±0,4 <sup>cdBC</sup>	42±0,4 <sup>dA</sup>	45±2,1 <sup>bA</sup>
<b>50 cm</b>	35±0,5 <sup>fA</sup>	37±0,8 <sup>eA</sup>	41±0,8 <sup>dAB</sup>	48±0,5 <sup>aA</sup>	43±0,4 <sup>bcBC</sup>	43±0,8 <sup>bcBC</sup>	43±1,1 <sup>cdA</sup>	44±0,8 <sup>bAB</sup>
<b>40 cm</b>	35±0,1 <sup>dA</sup>	36±0,7 <sup>dA</sup>	42±0,9 <sup>cAB</sup>	47±0,9 <sup>aA</sup>	43±0,7 <sup>bcBC</sup>	42±0,5 <sup>bcC</sup>	43±0,9 <sup>bcA</sup>	43±0,4 <sup>bB</sup>
<b>30 cm</b>	35±0,1 <sup>cA</sup>	37±0,7 <sup>cA</sup>	43±1,2 <sup>bA</sup>	48±0,7 <sup>aA</sup>	42±0,8 <sup>bc</sup>	44±1,1 <sup>bAB</sup>	44±1,2 <sup>bA</sup>	43±0,5 <sup>bAB</sup>
<b>20 cm</b>	35±0,1 <sup>eA</sup>	36±0,1 <sup>eA</sup>	42±1,3 <sup>dAB</sup>	48±0,4 <sup>aA</sup>	45±1,3 <sup>bA</sup>	45±0,4 <sup>bcA</sup>	43±0,9 <sup>cA</sup>	43±1,1 <sup>cdB</sup>
<b>Caixa</b>	<b>Temperatura da tarde/ depois do revolvimento (Td)</b>							
<b>60 cm</b>	-	-	35±0,8 <sup>eC</sup>	39±1,0 <sup>dB</sup>	49±1,1 <sup>aA</sup>	43±0,7 <sup>cB</sup>	44±0,8 <sup>cAB</sup>	45±0,1 <sup>bA</sup>
<b>50 cm</b>	-	-	37±0,7 <sup>cB</sup>	44±0,5 <sup>bA</sup>	48±1,2 <sup>aA</sup>	45±1,2 <sup>bA</sup>	44±0,4 <sup>bAB</sup>	44±0,2 <sup>bAB</sup>
<b>40 cm</b>	-	-	39±0,8 <sup>cA</sup>	40±0,4 <sup>cB</sup>	48±1,0 <sup>aA</sup>	44±1,0 <sup>bAB</sup>	44±1,1 <sup>bA</sup>	43±0,1 <sup>bB</sup>
<b>30 cm</b>	-	-	39±0,7 <sup>dA</sup>	43±1,2 <sup>cA</sup>	48±0,8 <sup>aA</sup>	45±0,9 <sup>bAB</sup>	44±0,85 <sup>bcAB</sup>	43±0,1 <sup>bcAB</sup>
<b>20 cm</b>	-	-	37±0,8 <sup>cB</sup>	44±0,8 <sup>bA</sup>	50±1,1 <sup>aA</sup>	44±1,1 <sup>bAB</sup>	43±0,8 <sup>bB</sup>	43±0,2 <sup>bB</sup>

Valores de uma mesma linha com a mesma letra (minúscula) e de uma mesma coluna (de um tipo de temperatura) com mesma letra (Maiúscula) não diferem significativamente entre si (Teste de Tukey a 5% de significância). C1: Fermentação convencional com altura de leito de 60 cm; C2: Fermentação com altura de leito de 50 cm, C3: Fermentação com altura de leito de 40 cm; C4: Fermentação com altura de leito de 30 cm, C5: Fermentação com altura de leito de 20 cm .

ANEXO II – Prova de corte de todos os ensaios.

Tabela II 1. Prova de corte das amêndoas não fermentadas secas a sol e à sombra (BRs)

		<i>Secagem à sombra</i>				<i>Secagem à sol</i>		
<b>Tempo de secagem (dias)</b>		<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>
<b>Coloração</b>	<b>Marrom</b>	10	3	2	23	7	7	24
	<b>Marrom e Violeta</b>	12	6	16	36	26	11	10
	<b>Violeta</b>	78	91	82	41	67	82	66
<b>Fermentação</b>	<b>Bem</b>	6	1	0	8	7	13	22
	<b>Parcialmente</b>	16	14	14	13	13	14	21
	<b>Mal</b>	78	85	86	79	80	73	57
<b>Defeitos</b>	<b>Danificadas/Mofadas</b>	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	2/0	0/0
	<b>Ardósia/Germinadas</b>	4/1	2/0	0/0	1/0	2/0	2/0	2/0
<b>Nº de amêndoas em 100g</b>		49	60	84	73	73	93	97
<b>Peso total de 100 amêndoas (g)</b>		200	178	190	145	143	180	150
<b>Rendimento germen (%)</b>		1	1	1	1	1	1	1
<b>Rendimento casca (%)</b>		22	17	11	14	20	6	22
<b>Rendimento cotilédone (%)</b>		70	80	84	85	76	78	77

Tabela II 2. Prova de corte dos ensaios realizados com altura de leito de 60 cm (C1).

		<i>Fermentação</i>			<i>Secagem à sombra</i>				<i>Secagem à sol</i>		
<b>Tempo de processo (dias)</b>		<i>2</i>	<i>4</i>	<i>7</i>	<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>
<b>Coloração</b>	<b>Marrom</b>	4	10	7	1	28	36	43	68	82	82
	<b>Marrom e Violeta</b>	4	26	18	25	25	29	33	20	10	13
	<b>Violeta</b>	85	64	75	74	47	35	24	13	8	5
<b>Fermentação</b>	<b>Bem</b>	8	2	3	2	28	42	41	46	45	83
	<b>Parcialmente</b>	20	9	16	29	16	35	25	38	40	15
	<b>Mal</b>	72	89	81	69	54	23	34	16	15	2
<b>Defeitos</b>	<b>Danificadas/Mofadas</b>	3/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	1/0
	<b>Ardósia/Germinadas</b>	0/0	3/1	4/0	4/1	0/0	0/0	0/0	0/0	3/0	1/0
<b>Nº de amêndoas em 100g</b>		51	54	50	55	63	68	72	77	85	82
<b>Peso total de 100 amêndoas (g)</b>		203	210	202	173	153	150	138	130	117	123
<b>Rendimento germen (%)</b>		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
<b>Rendimento casca (%)</b>		25	25	26	21	22	12	21	22	18	18
<b>Rendimento cotilédone (%)</b>		55	58	65	72	77	50	78	75	79	81

**Tabela II 3** Prova de corte dos ensaios realizados com altura de leito de 50 cm (C2).

		<i>Fermentação</i>			<i>Secagem à sombra</i>			
<b>Tempo de processo (dias)</b>		<i>2</i>	<i>4</i>	<i>7</i>	<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>
<b>Coloração</b>	<b>Marrom</b>	0	4	8	58	64	52	33
	<b>Marrom e Violeta</b>	5	24	23	32	29	37	31
	<b>Violeta</b>	95	72	69	10	7	12	36
<b>Fermentação</b>	<b>Bem</b>	0	5	9	16	3	49	41
	<b>Parcialmente</b>	3	11	11	59	11	47	32
	<b>Mal</b>	97	84	80	25	86	4	27
<b>Defeitos</b>	<b>Danificadas/Mofadas</b>	2/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
	<b>Ardósia/Germinadas</b>	1/0	1/0	0/0	2/0	0/0	0/0	0/0
<b>Nº de amêndoas em 100g</b>		52	53	53	63	54	63	66
<b>Peso total de 100 amêndoas (g)</b>		203	210	197	208	182	155	151
<b>Rendimento germen (%)</b>		1	1	1	1	1	1	1
<b>Rendimento casca (%)</b>		34	21	25	20	20	21	23
<b>Rendimento cotilédone (%)</b>		57	57	61	61	75	74	76

**Tabela II 4.** Prova de corte dos ensaios realizados com altura de leito de 40 cm (C3).

		<i>Fermentação</i>			<i>Secagem à sombra</i>				<i>Secagem à sol</i>		
<b>Tempo de processo (dias)</b>		<i>2</i>	<i>4</i>	<i>7</i>	<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>
<b>Coloração</b>	<b>Marrom</b>	4	10	10	5	15	49	39	69	48	50
	<b>Marrom e Violeta</b>	4	31	34	17	35	35	39	22	12	33
	<b>Violeta</b>	96	59	56	78	50	16	31	9	40	17
<b>Fermentação</b>	<b>Bem</b>	10	7	24	6	12	41	37	46	50	48
	<b>Parcialmente</b>	22	18	48	12	15	17	22	31	32	24
	<b>Mal</b>	68	75	24	82	73	42	41	23	18	28
<b>Defeitos</b>	<b>Danificadas/Mofadas</b>	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
	<b>Ardósia/Germinadas</b>	4/0	0/0	4/0	4/0	0/0	3/0	0/0	0/0	0/0	0/0
<b>Nº de amêndoas em 100g</b>		47	47	54	61	63	68	68	71	83	89
<b>Peso total de 100 amêndoas (g)</b>		214	221	208	172	173	150	145	143	118	112
<b>Rendimento germen (%)</b>		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
<b>Rendimento casca (%)</b>		28	25	30	24	23	19	18	23	17	19
<b>Rendimento cotilédone (%)</b>		61	56	63	71	75	75	77	80	78	80

**Tabela II 5.** Prova de corte dos ensaios realizados com altura de leito de 30 cm (C4).

		<i>Fermentação</i>			<i>Secagem à sombra</i>			
<b>Tempo de processo (dias)</b>		<b>2</b>	<b>4</b>	<b>7</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>
<b>Coloração</b>	<b>Marrom</b>	7	16	20	78	36	36	92
	<b>Marrom e Violeta</b>	25	46	48	20	34	40	7
	<b>Violeta</b>	68	38	32	2	30	24	1
<b>Fermentação</b>	<b>Bem</b>	2	4	7	62	20	27	62
	<b>Parcialmente</b>	7	10	19	33	24	32	24
	<b>Mal</b>	91	86	74	5	56	41	14
<b>Defeitos</b>	<b>Danificadas/Mofadas</b>	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	1/3
	<b>Ardósia/Germinadas</b>	0/0	0/0	3/0	2/0	1/0	0/0	0/0
<b>Nº de amêndoas em 100g</b>		50	55	44	66	61	68	77
<b>Peso total de 100 amêndoas (g)</b>		175	232	216	152	166	145	133
<b>Rendimento gérmen (%)</b>		1	1	1	1	1	1	1
<b>Rendimento casca (%)</b>		23	25	29	17	19	18	19
<b>Rendimento cotilédone (%)</b>		71	62	69	58	76	78	80

**Tabela II 6.** Prova de corte dos ensaios realizados com altura de leito de 20 cm (C5).

		<i>Fermentação</i>			<i>Secagem à sombra</i>			
<b>Tempo de processo (dias)</b>		<b>2</b>	<b>4</b>	<b>7</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>
<b>Coloração</b>	<b>Marrom</b>	0	11	16	79	90	96	91
	<b>Marrom e Violeta</b>	11	22	18	10	5	4	6
	<b>Violeta</b>	89	77	66	11	5	0	3
<b>Fermentação</b>	<b>Bem</b>	0	4	13	41	50	83	63
	<b>Parcialmente</b>	10	8	12	42	39	12	27
	<b>Mal</b>	90	88	75	17	11	5	10
<b>Defeitos</b>	<b>Danificadas/Mofadas</b>	1/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	2/3
	<b>Ardósia/Germinadas</b>	0/0	0/0	1/0	0/0	5/0	4/0	2/0
<b>Nº de amêndoas em 100g</b>		81	74	66	61	76	72	88
<b>Peso total de 100 amêndoas (g)</b>		208	204	158	174	135	132	112
<b>Rendimento gérmen (%)</b>		1	1	1	1	1	1	1
<b>Rendimento casca (%)</b>		27	21	19	7	12	14	17
<b>Rendimento cotilédone (%)</b>		65	59	68	91	81	79	82



### ANEXO III – Característica físico-química dos nibs das amêndoas fermentadas e secas.

**Tabela III.1.** Teor médio de Umidade e Lipídios (%), pH e acidez titulável dos cotilédones de cacau secas, não submetidas a fermentação (BR e BRs) e dos diferentes ensaios (C1, C2, C3, C4 e C5) submetidos a fermentação e secagem.

Ensaio	Secagem	Umidade (%)	Lipídios (%)	pH	Acidez*
<b>BR</b>		32,70 <sup>a</sup>	51,59 <sup>c</sup>	6,40 <sup>a</sup>	2,72 <sup>f</sup>
<b>BR(s)</b>		23,67 <sup>d</sup>	46,32 <sup>d</sup>	5,88 <sup>b</sup>	5,09 <sup>e</sup>
<b>C1</b>	<b>SOMBRA<sup>1</sup></b>	29,37 <sup>b</sup>	58,82 <sup>b</sup>	5,28 <sup>e</sup>	13,82 <sup>b</sup>
<b>C2</b>		28,13 <sup>c</sup>	56,30 <sup>b</sup>	5,45 <sup>d</sup>	12,07 <sup>c</sup>
<b>C3</b>		24,62 <sup>d</sup>	59,19 <sup>b</sup>	5,40 <sup>de</sup>	12,02 <sup>c</sup>
<b>C4</b>		14,97 <sup>e</sup>	59,22 <sup>b</sup>	5,72 <sup>c</sup>	7,10 <sup>d</sup>
<b>C5</b>		9,62 <sup>f</sup>	47,90 <sup>cd</sup>	5,88 <sup>b</sup>	7,65 <sup>d</sup>
<b>BR(s)</b>	<b>SOL<sup>2</sup></b>	7,01 <sup>g</sup>	44,54 <sup>d</sup>	5,97 <sup>b</sup>	4,99 <sup>e</sup>
<b>C1</b>		7,02 <sup>g</sup>	68,35 <sup>a</sup>	5,00 <sup>f</sup>	20,80 <sup>a</sup>
<b>C3</b>		6,82 <sup>g</sup>	45,13 <sup>d</sup>	4,89 <sup>f</sup>	22,10 <sup>a</sup>

\* meq.NaOH.100g<sup>-1</sup>. Valores de uma mesma coluna com a mesma letra não diferem significativamente entre si (Teste de Tukey a 5% de significância). C1: Fermentação convencional com altura de leito de 60 cm; C2: Fermentação com altura de leito de 50 cm, C3: Fermentação com altura de leito de 40 cm; C4: Fermentação com altura de leito de 30 cm, C5: Fermentação com altura de leito de 20 cm .