



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA**  
**FACULDADE DE FARMÁCIA**  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DE ALIMENTOS

**Caracterização das sementes de variedades de cacau**  
***Theobroma cacao* L. resistentes à vassoura de bruxa**  
**durante a fermentação e após a secagem**

JAUQUELINE FONTES MOREAU CRUZ

Salvador – BA

2012

**JAQUELINE FONTES MOREAU CRUZ**

**Caracterização das sementes de variedades de cacau  
*Theobroma cacao* L. resistentes à vassoura de bruxa  
durante a fermentação e após a secagem**

**Orientadora:** Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Eliete da Silva Bispo

**Co-orientador:** Prof<sup>o</sup> Dr. Sérgio Eduardo Soares

Dissertação apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade Federal da Bahia, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, para obtenção do título de Mestre.

Salvador –BA

2012

Sistema de Bibliotecas da UFBA

Cruz, Jaqueline Fontes Moreau.

Caracterização das sementes de variedades de cacau *Theobroma cacao* L. resistentes à vassoura de bruxa durante a fermentação e após a secagem / Jaqueline Fontes Moreau Cruz. - 2012.

101 f.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Eliete da Silva Bispo

Co-orientador: Prof<sup>o</sup> Dr. Sérgio Eduardo Soares

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal da Bahia, Faculdade de Farmácia, Salvador, 2012.

1. Cacau. 2. Fermentação. I. Bispo, Eliete da Silva. II. Soares, Sérgio Eduardo.  
III. Universidade Federal da Bahia. Faculdade de Farmácia. IV. Título.

CDD - 633.74

CDU - 633.74

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA**  
**FACULDADE DE FARMÁCIA**  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DE ALIMENTOS

**CERTIFICADO DE APROVAÇÃO**

Título: Caracterização das sementes de variedades de cacau *Theobroma cacao* L. resistentes à vassoura de bruxa durante a fermentação e após a secagem

Autor: Jaqueline Fontes Moreau Cruz

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Eliete da Silva Bispo

Co-orientador: Prof<sup>o</sup> Dr. Sérgio Eduardo Soares

Aprovada em:

Banca Examinadora:

---

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Priscilla Efraim  
UNICAMP- Faculdade de Engenharia de Alimentos

---

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Maria Spinola Miranda  
UFBA- Faculdade de Farmácia

---

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Eliete da Silva Bispo  
Orientadora FFAR – UFBA

*Aos meus pais e ao meu namorado, pelo amor, paciência e pela  
confiança depositada em mim*

**DEDICO**

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

*Augusto Cury*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a DEUS, pois ter me proporcionado saúde e força para concluir esta etapa da vida;

Aos meus pais, Janete Fontes Moreau Cruz e Edesio Moreau Cruz por ser uma fonte de apoio, incentivo e amizade;

À Professora Dr<sup>a</sup>. Eliete da Silva Bispo pela orientação, amizade, compreensão e ensinamentos;

Ao Prof<sup>o</sup> Dr. Sérgio Eduardo Soares, exemplo de ética, amizade, pela colaboração e paciência na corroboração dos resultados;

À minha grande colega e amiga Paula Bacelar Leite pela amizade, companhia, paciência, apoio e parceria no desenvolvimento das atividades;

À CAPES pela bolsa de estudos e apoio financeiro;

Aos amigos da Fazenda Lajedo do Ouro pelo fornecimento do material de estudo;

Aos Professores Alaíse, Mara, Celso, Janice, Maria Eugênia pelos conhecimentos que adquiri nas disciplinas;

Ao laboratório LAPAAC por acolher o projeto de pesquisa e desenvolvimento do trabalho;

Ao Laboratório LAPESCA pelo auxílio nas análises;

À Professora Rose Carvalho, Maria de Fátima, Gil, Wagner, Margarete e a todos do Laboratório de Bromatologia;

Ao amigo e parceiro de coletas Valterney Lima Deus;

Aos amigos Leonardo Maciel, Jaff Ribeiro e Luciane Souza pelo apoio e colaboração no desenvolvimento das atividades;

As amigas Roberta Barbosa de Meneses e Manuela Alves, pelo apoio e incentivo;

Aos colegas e amigos que conheci na UFBA;

Enfim, a todos que contribuíram direta ou indiretamente na realização desse estudo.

## SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO GERAL</b> .....	15
<b>OBJETIVOS</b> .....	18
OBJETIVO GERAL .....	18
OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	18

### CAPÍTULO 1

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	19
<b>1. O CACAU - NO BRASIL E NO MUNDO</b> .....	19
<b>2. A VASSOURA -DE- BRUXA</b> .....	22
<b>3. PESQUISAS SOBRE A INFLUÊNCIA GENÉTICA NA QUALIDADE DAS AMÊNDOAS</b> .....	27
<b>4. O PRÉ-PROCESSAMENTO</b> .....	28
4.1 COLHEITA E QUEBRA DOS FRUTOS.....	29
4.2 FERMENTAÇÃO DOS FRUTOS .....	30
4.3 SECAGEM .....	35
4.4 ARMAZENAMENTO .....	37
<b>5. AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DAS AMÊNDOAS- PROVA DE CORTE</b> .....	38
<b>6. OBTENÇÃO DE PRODUTOS DE CACAU</b> .....	39
<b>7. COMPOSTOS FENÓLICOS PRESENTES NO CACAU</b> .....	43
<b>8. METILXANTINAS PRESENTES NO CACAU</b> .....	47
REFERÊNCIAS.....	49

## CAPÍTULO 2

<b>CARACTERIZAÇÃO DAS AMENDOAS DE CACAU PROVENIENTES DE VARIEDADES RESISTENTES A VASSOURA DE BRUXA.....</b>	<b>59</b>
RESUMO.....	59
ABSTRACT.....	60
<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>61</b>
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>64</b>
2.1 MATERIAL VEGETAL.....	64
2.2 PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS .....	66
2.1 CARACTERIZAÇÃO DOS FRUTOS E SEMENTES DAS VARIEDADES.....	66
2.2.FERMENTAÇÃO E SECAGEM.....	67
2.2.1 Avaliação do processo fermentativo.....	69
2.2.2 Avaliação da qualidade das amêndoas fermentadas e secas.....	73
<b>3. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>74</b>
3.1 CARACTERIZAÇÃO FÍSICA DOS FRUTOS E SEMENTES .....	74
3.2 PROCESSO FERMENTATIVO DAS VARIEDADES DE CACAU .....	76
3.2.1 Monitoramento da temperatura, pH, acidez titulável da fermentação .....	76
3.2.2 Análises dos compostos fenólicos e taninos totais durante fermentação.....	79
3.2.3Identificação e quantificação dos ácidos orgânicos nas sementes e amêndoas durante a fermentação.....	81
3.2.4Identificação e quantificação de compostos fenólicos das sementes e amêndoas de cacau durante fermentação .....	85
3.2.5Identificação e quantificação de compostos fenólicos das amêndoas fermentadas e secas .....	87
3.2.6Identificação e quantificação das metilxantinas das amêndoas fermentadas e secas.....	89
3.3 Composição centesimal das sementes e amêndoas de cacau .....	91
3.4 Avaliação da qualidade das amêndoas fermentadas e secas.....	93
CONCLUSÕES .....	95
REFERÊNCIAS.....	96

CONCLUSÕES FINAIS.....100

**SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS .....101**

# LISTA DE FIGURAS

## CAPÍTULO 1

Figura 1 - As variedades de cacau: <i>Criollo</i> e a semente oval (A), <i>Forastero</i> e a semente achatada (B), Trinitário (C). .....	21
Figura 2 - Ciclo de vida da <i>Moniliophthora</i> perniciosa.....	24
Figura 3 - Fluxograma do beneficiamento do cacau .....	29
Figura 4 - Mudanças químicas dentro da semente do cacau durante a fermentação .....	33
Figura 5 - Fluxograma do processamento do chocolate .....	40
Figura 6 - Principais polifenóis encontrados nas sementes de cacau.....	44

## CAPÍTULO 2

Figura 1 – Blocos monoclonais .....	65
Figura 2 – Frutos das três variedades.....	65
Figura 3 – Fluxograma do processamento das três variedades.....	66
Figura 4 – Casa da fermentação (a) ,cochos de madeira (b) ,cobertura de folhas de bananeira (c), massa fermentada (d). detalhe das amêndoas durante a fermentação: PH16 (e), SR162 (f) e Convencional (g).....	67
Figura 5 – Secagem natural ao sol, em barcaças .....	68
Figura 6- Variação da temperatura da massa de sementes de cacau durante a fermentação das três variedades de cacau.....	76
Figura 7- Variação da acidez titulável da massa de sementes de cacau durante a fermentação das três variedades de cacau.....	77
Figura 8 - Controle do pH da polpa nos cochos durante a fermentação das três variedades de cacau .....	77
Figura 9- Teores de taninos totais durante a fermentação das três variedades de cacau.....	79

Figura 10- Teores de fenólicos totais durante a fermentação das três variedades de cacau.....	79
Figura 11- Teores de ácidos orgânicos durante a fermentação das três variedades de cacau, Convencional (a), SR162 (b) e PH16 (c) .....	82
Figura 12- Teores de ácidos orgânicos das amêndoas fermentadas e secas das três variedades de cacau. ....	83
Figura 13- Teores de compostos fenólicos durante a fermentação das três variedades de cacau, Convencional (a), SR162 (b) e PH16 (c). ....	86
Figura 14- Teores de metilxantinas das amêndoas secas e fermentadas das três variedades de cacau, Convencional (a), SR162 (b) e PH16 (c). ....	87
Figura 15- Teores de metilxantinas das amêndoas secas e fermentadas das três variedades de cacau, Convencional, SR162 e PH16. ....	89

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO 2

Tabela 1 – Gradiente utilizado para separação de compostos fenólicos e metilxantinas por HPLC.....	72
Tabela 2 – Regulamento Técnico da Amêndoa de Cacau: Instrução Normativa nº 38/ 2008 .....	73
Tabela 3 – Caracterização física dos frutos e sementes das três variedades de cacau.....	74
Tabela 4 – Teor de proteínas das sementes fermentadas de cacau em base seca (g/100g).....	91
Tabela 5 – Valores de cinzas e lipídios das sementes do primeiro tempo de fermentação do cacau em base seca (g/100g). .....	91
Tabela 6 – Composição centesimal das amêndoas de cacau secas em base seca (g/100g).....	92
Tabela 7 – Atividade de água das amostras de amêndoas de cacau fermentadas e secas.....	93
Tabela 8 – Resultados da prova de corte efetuada nas amêndoas fermentadas e secas das três variedades de cacau .....	93

## RESUMO

A região sul do estado da Bahia é a principal região produtora de cacau do Brasil, em 1989 foi identificada uma doença, vassoura de bruxa causada pelo fungo *Moniliophthora perniciosa*, que comprometeu boa parte da sua produção e que hoje tenta buscar alternativas para controlar essa doença. Destas a que apresentou melhores resultados foram às pesquisas sobre novas variedades de cacau resistentes, produtivas e que originem matérias primas de qualidade industrial, essa alternativa motivou muitos produtores e hoje a cacauicultura brasileira mostra sinais de recuperação. Com o objetivo de contribuir com o Programa Brasileiro de Melhoramento Genético realizou-se a caracterização de sementes de cacau, SR162 e PH16, e uma amostra susceptível a doença denominada de cacau convencional, durante a fermentação e após a secagem. Foram monitorados o pH, acidez titulável e a temperatura das sementes e amêndoas de cacau durante a fermentação, e coletadas amostras em intervalos de doze horas para a caracterização físico-química e química. O monitoramento da temperatura e pH da massa em fermentação e a avaliação dos teores de umidade, atividade de água, pH, acidez titulável, açúcares, ácidos orgânicos, proteínas, compostos fenólicos, durante a fermentação e ao término da secagem, demonstraram que a evolução do processo fermentativo foi distinta para cada material. Das análises de compostos fenólicos percebeu-se a predominância da epicatequina nas três variedades, outro resultado semelhante foi a presença de ácido láctico nas três amostras. Através das análises realizadas, verificou-se que a fermentação monoclonal garante uma melhor compreensão das reações envolvidas, o que posteriormente vem agregar valor ao chocolate, através da produção dos chocolates varietais.

**Palavras-chave:** cacau, fermentação, caracterização.

## ABSTRACT

The southern state of Bahia is the main cocoa-producing region of Brazil in 1989 has identified a disease, witches' broom caused by the fungus *Moniliophthora perniciousa*, who committed much of its production and is now trying to find alternatives to control this disease . These presented the best results were for research into new resistant varieties of cocoa, which lead productive and quality raw materials industry, this alternative has motivated many producers and Brazilian cacao today shows signs of recovery. Aiming to contribute to the Brazilian Program for Genetic Improvement held the characterization of cocoa beans, SR162, and PH16, and a sample susceptible to disease called conventional cocoa, during fermentation and after drying. We monitored the pH, titratable acidity and temperature of the seeds and cocoa beans during fermentation, and sampled at intervals of twelve hours for physical-chemical and chemical. The temperature and pH of the mass during fermentation and assessment of moisture content, water activity, pH, titratable acidity, sugars, organic acids, proteins, phenolic compounds, during the end of the fermentation and drying, showed that the evolution of fermentation process was different for each material. From the analysis of phenolic compounds noticed the predominance of epicatechin in three varieties, another similar result was the presence of lactic acid in three samples. Through analyzes it was found that fermentation monoclonal ensures a better understanding of the reactions involved, which is subsequently adding value to the chocolate through the production of chocolates variety.

Keywords: cocoa, fermentation, characteristics.

## INTRODUÇÃO

O cacauero (*Theobroma cacao* L.) é uma planta pertencente à família Malvaceae, provavelmente originada da Bacia Amazônica e cultivada nas regiões tropicais do mundo. O interesse de cultivo desta espécie está no aproveitamento de suas sementes para produção de derivados de cacau (ALVES, 2002).

A vassoura de Bruxa, causada pelo fungo basidiomiceto biotrófico *Moniliophthora perniciosa*, é uma das doenças mais importantes do cacau no hemisfério ocidental e causou reduções drásticas no rendimento das culturas em diferentes regiões produtoras do Brasil e outros países no continente americano. No início da década de oitenta, a produção anual de cacau na Bahia era de cerca de 400.000 toneladas, após a infecção pelo fungo, a produção regional caiu para 120.000 toneladas (CEITA et al., 2007).

Após a introdução da vassoura-de-bruxa na Bahia, o Centro de Pesquisas do Cacau da Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira (CEPEC/CEPLAC) re-orientou o seu programa de melhoramento para o desenvolvimento de variedades resistentes, e passou a enfatizar métodos de seleção recorrente, visando acumular genes de resistência e de outros caracteres de interesse agrônomo em um material para posteriormente disponibilizá-lo como clone (PEREIRA, 2001). Essa medida de controle é fundamental, tendo em vista que os controles químicos e culturais se mostram onerosos e ineficazes quando não executados rigorosamente e de acordo com as recomendações técnicas da pesquisa, e anti-econômicos, em se tratando de lavouras formadas por variedades de alta suscetibilidade e de baixa produtividade (PINTO e PIRES, 1998).

Outra alternativa para minimizar esses problemas, se faz com a utilização de clones autocompatíveis e manejados em blocos monoclonais. Nesse modelo as variedades de cacau são enxertadas em blocos separados, facilitando o manejo, eliminando o problema da compatibilidade sexual, diferenças de taxas de crescimento, vigor, porte, e reduzindo gastos. O modelo

de plantio monoclonal, foi anteriormente adotado para cacau no Equador, com a variedade clonal CCN 51, e aqui na Bahia para as variedades da família de cacau seminal comum (Comum, Maranhão, Pará, Parazinho, Catongo) (MANDARINO E GOMES, 2009).

Além da vassoura-de-bruxa, outro problema recorrente para o escoamento do cacau é a baixa qualidade das amêndoas produzidas, em função do reduzido controle associadas aos tempos de fermentação e secagem, ocasionando numa porcentagem significativa das sementes a não realização de alterações (principalmente a acidificação e aumento da temperatura) necessárias para que as reações se processem de forma satisfatória. Como consequência, uma porção importante das amêndoas a serem torradas não irá desenvolver o sabor característico, o que leva à perda de qualidade do chocolate produzido (NASCIMENTO, 2010).

As etapas de pré-processamento do cacau (colheita, quebra, fermentação e secagem) são importantes na garantia da qualidade das amêndoas. Para Lagunes-Galvez et al. (2007) a fermentação é uma das etapas da pós-colheita que mais afetam a qualidade dos produtos obtidos a partir do cacau. Na secagem, as enzimas presentes promovem as reações químicas de cura, estabilizando o sabor e a cor característicos do chocolate (OETTERER, 2006). Logo após a realização destas etapas ocorre à avaliação da qualidade das amêndoas fermentadas e secas através da prova de corte, teste utilizado mundialmente como forma de classificar e caracterizar lotes quanto à sua qualidade, variando de acordo com normas estabelecidas em cada país produtor ou comprador de cacau (SHAUGHNESSY, 1992) .

De acordo com Lopez e Dimick (1991), a qualidade e a intensidade do sabor de chocolate são determinadas inicialmente por fatores genéticos, intrínsecos à variedade ou cultivar produzidos. Assim, pode-se dizer que uma matéria prima de melhor qualidade pode ser facilmente desperdiçada por processamento inadequado, mas nem mesmo o melhor processamento pode produzir um chocolate superior a partir de matéria prima inferior. Também de acordo com Nascimento (2010) a atividade enzimática (principalmente

proteolítica) e a composição das proteínas dos cotilédones, variáveis de cultivar para cultivar, influencia a produção de melhores precursores de sabor.

O presente trabalho teve como objetivo analisar diferenças qualitativas e quantitativas através da caracterização física, química e físico-química de variedades de cacau resistentes à vassoura-de-bruxa e de amostra de cacau convencional, susceptível à doença.

## **OBJETIVOS**

### **OBJETIVO GERAL**

Caracterização física, físico-química e química dos clones de cacau resistentes à vassoura-de-bruxa.

### **OBJETIVOS ESPECIFICOS**

Monitorar as etapas de fermentação das variedades;

Realizar análise físico-química das sementes e amêndoas de cacau;

Realizar análises física, química e físico-química das sementes e amêndoas das variedades em estudo;

Comparar as etapas de fermentação e secagem dos clones de cacau (resistentes à vassoura-de-bruxa) com amostra de cacau convencional (susceptível à doença)

## CAPITULO 1

### REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 1. O CACAU - NO BRASIL E NO MUNDO

O cacaueteiro pertence à ordem Malvales, família *Malvaceae*, gênero *Theobroma*, espécie *Theobroma cacao* L., única utilizada comercialmente para a produção de chocolate. Os astecas e outros grupos de língua nahuatl denominavam o cacaueteiro de “cacaohoaquahuitl”, os frutos de “cachocentli” e suas sementes de “cacaoatl”, nome utilizado atualmente para a espécie. Em 1737, Lineu denomina o gênero de *Theobroma*, que significa alimento dos deuses, em referência à origem divina atribuída ao cacaueteiro pelos povos mesoamericanos (LOPES et al, 2011; EFRAIM, 2009).

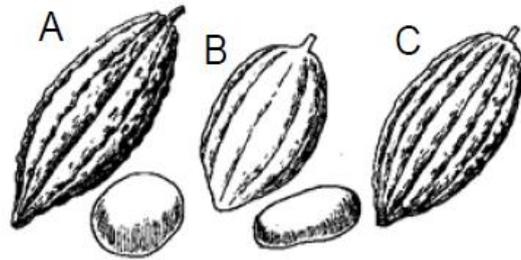
Para cultivo do cacau são necessárias chuvas regulares, temperatura média de 25°C e precipitação anual entre 1500 e 2000 mm. O solo deve ser profundo e fértil, sendo muito susceptível a pragas e fungos. Atinge entre 5 a 10 metros de altura, e os primeiros frutos são colhidos cerca de 5 anos após a plantação. O fruto do cacaueteiro tem forma oval com 15 a 20 cm de comprimento do eixo maior, e cor amarela quando maduro. O cotilédone e um pequeno gérmen de planta embrionária são recobertos por uma película denominada testa, e a semente é revestida por uma polpa branca com tons rosados, mucilagínosa e adocicada (MARTINI, 2004; BATALHA, 2009; BECKETT, 1994).

A atividade cacaueteira está associada, de maneira geral, às etapas de produção do cacau, desde a preparação da terra, implantação da cultura até a produção do cacau em amêndoas secas; comercialização, relacionada com a compra e venda de amêndoas secas e transporte até as indústrias de transformação; processamento e beneficiamento nas indústrias de transformação do cacau; comercialização dos subprodutos das amêndoas (GOMES et al, 2010).

Com base na origem botânica e na expansão geográfica da espécie, distinguem-se duas variedades de cacau cultivadas: *Criollo* e *Forastero*. Os frutos de cacau *Criollo* (Figura 1a) são caracterizados pela forma alongada, com ponta proeminente. Sua superfície externa é enrugada e possui cinco sulcos longitudinais profundos e cinco menos pronunciados. As sementes são ovais e se encontram relativamente soltas na polpa. Os cotilédones não contêm células pigmentadas, sendo, portanto, de coloração branca. São encontrados principalmente na Venezuela, América Central, México, Java, Ceilão e Samoa (LAJUS, 1982; MATTIETTO, 2001; LOPES, 2000).

O cacau é classificado sob três variedades: *Criollo*, *Forastero* e Trinitario (Figura 1), a maioria do cacau comercializado mundialmente é tipo *Forastero*; o tipo Trinitario resulta da hibridização entre *Forastero* e *Criollo*. As variedades Trinitario e *Criollo* produzem um chocolate considerado de qualidade excelente e suave aroma e sabor (BECKETT, 2009).

A variedade *Forastero* é caracterizada por frutos com forma mais arredondada, casca dura e superfície quase lisa. As sementes são achatadas, de forma quase triangular e se encontram firmemente alojadas à polpa. Os cotilédones têm coloração violeta por possuírem células pigmentadas (LAJUS, 1982). Em comparação ao cacau *Criollo*, cujo aroma é considerado suave e de excelente qualidade, o cacau da variedade *Forastero* tem um sabor mais ácido e característica adstringente. É encontrado em todos os países produtores de cacau do mundo. Possui frutos com cerca de 25 cm de comprimento e 10cm de diâmetro. Cada fruto contém entre 30 e 50 sementes que são envolvidas por uma mucilagem denominada de polpa, com coloração branca a levemente rosada, sabor doce e ácido. Nos frutos maduros, a placenta se encontra solta entre as sementes (EFRAIM, 2004). A partir da associação de caracteres dos grupos anteriores surgiu um terceiro tipo – Trinitário, cuja designação foi utilizada inicialmente para materiais provenientes de Trinidad, que apresenta cotilédones das sementes com coloração variando de branca a violeta-pálida (PIRES, 2003).



**Figura 1.** As variedades de cacau: *Criollo* e a semente oval (A), *Forastero* e a semente achatada (B), Trinitário (C).  
 FONTE: SOUZA, 2010.

Em paralelo, os botânicos descreveram duas sub-espécies: cacau e *sphaeocarpaceum*, correspondentes a *Criollo* e *Forastero* (CUATRECASAS, 1964; DE-LA-CRUZ et al., 1995; MOTAMAYOR et al., 2008 citados por POSSIGNOLO, 2010), os quais, de acordo com alguns autores, evoluíram nas Américas Central e do Sul, respectivamente. Para outros autores, *Criollo* e Trinitario, devem ser considerados como cultivares tradicionais, ao invés de dois grupos genéticos (MOTAMAYOR, et al, 2003 citado por POSSIGNOLO, 2010). Dois outros cultivares tradicionais tem sido descritos: Nacional e Amelonado (MOTAMAYOR et al, 2003 citado por POSSIGNOLO, 2010). No entanto, a classificação das populações de *Theobroma cacao* L., com base em dados genéticos, é falha para a criação e gestão de seus recursos genéticos. Motamayor et al., (2008) citado por Possignolo (2010) sugere uma nova classificação que reflete melhor a diversidade genética, ao invés da tradicional classificação relatada. Estes autores propõem a classificação do germoplasma de cacau em 10 grupos: *Marañon*, *Curaray*, *Criollo*, *Iquitos*, *Nanay*, *Contamana*, *Amelonado*, *Purús*, *Nacional* e *Guiana*, ao invés da classificação tradicional em *Criollo*, *Forastero* e Trinitário.

O cacau foi introduzido na Bahia com sementes do Baixo Amazonas em 1756. Por mais de dois séculos, os agricultores plantaram sementes destas introduções iniciais (Cacau Comum). Em 1940 e 1950 as primeiras seleções foram feitas por parte das instituições de pesquisa, ou seja, o ICB (Instituto do

Cacau da Bahia), SIAL (Estação Instituto Agrônômico do Leste) e EEG (Estação Experimental de Goitacazes) que foram liberadas aos agricultores. Ultimamente, com a criação da Comissão Executiva Comissão do Plano da Lavoura Cacaueira (CEPLAC), o foco foi voltado para híbridos interclonais. Mais recentemente, com a introdução da doença da vassoura de bruxa na Bahia e Espírito Santo, programas de seleção recorrente foram implementados com o objetivo de apoiar o desenvolvimento de clones (LOPES et al., 2011).

O cultivo do cacau estende-se da Colômbia, para a Venezuela, América Central e México. Ao dispersar-se ao longo do rio Amazonas, alcança também as Guianas. Saindo das Américas e com cerca de 70% da produção mundial vêm da África Ocidental, principalmente da Costa do Marfim (40%), Gana (20%), Nigéria (5%) e Camarões (5%). O Brasil, até a chegada da vassoura de bruxa (*Moniliophthora perniciosa*) em 1989, era o segundo maior produtor de cacau do mundo caindo para a quinta posição, responsável por 4% do total mundial depois do aparecimento desta doença. A Bahia ainda é o maior produtor de cacau no Brasil, com 64% do total produzido, seguido por Pará (25%), Rondônia (8%) e Espírito Santo (3%) (MARTINI, 2004, LOPES, 2011).

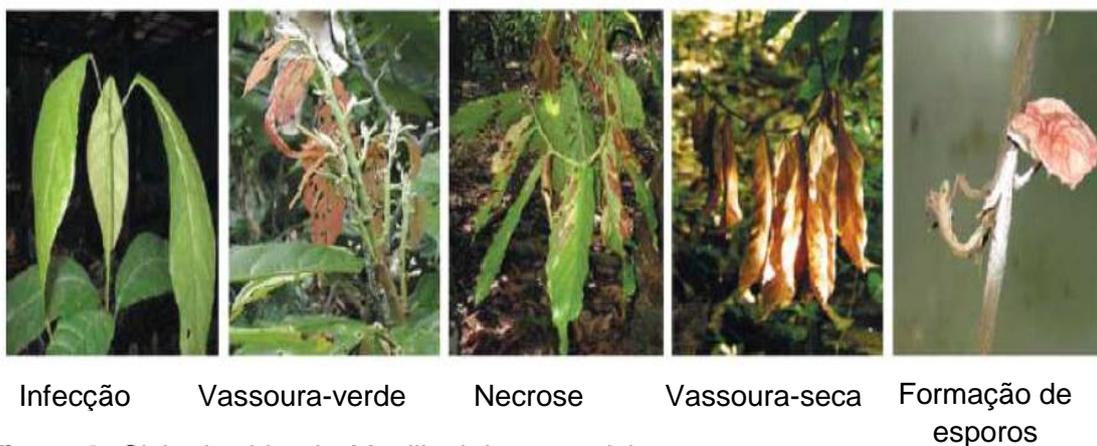
De acordo com o das dados ICCO (International Cocoa Organization), os maiores produtores mundiais de cacau são a Costa do Marfim com 1.242 mil toneladas na safra 2009/10, seguida por Gana (632 mil toneladas), Indonésia (550 mil toneladas), Nigéria (240 mil toneladas), Camarões (205 mil toneladas), Brasil (161 mil toneladas), Equador (160 mil toneladas) e Papua Nova Guiné (50 mil toneladas) (ICCO, 2011).

## **2. A VASSOURA-DE-BRUXA**

O cacaueiro (*Theobroma cacao* L.) sempre foi alvo de várias doenças de grande impacto na produção. A podridão-parda ou podridão-de-phytophthora, causada por *Phytophthora* spp. é, em termos mundiais, a principal delas, pois ocorre em todos os países produtores de cacau. Outras doenças como a vassoura-de-bruxa, causada por *Moniliophthora (ex-Crinipellis) perniciosa*, a monilíase ou podridão-de-moniliophthora causada por *Moniliophthora roreri*, e a

murcha-vascular-estriada ou vascular-streak- dieback, causada por *Oncobasidium theobromae*, causam perdas maiores que a podridão-de-phytophthora mas são restritas a determinadas regiões do mundo. As perdas na produção de cacau causadas em áreas afetadas por podridão parda são bem menores em relação às causadas em áreas com a vassoura-de-bruxa (20 a 30% em relação a 100%) (DANTAS NETO et al., 2005).

A podridão-parda ocorre em todos os estados brasileiros produtores de cacau e as perdas por ela causadas variam de 20 a 30% da produção de frutos (MEDEIROS, 1977). Porém, na Bahia, principal estado produtor, perdas de 70 a 80% da produção eram comuns, até o final da década de 80 (LUZ et al., 1997). Nos anos 90, impactos econômicos com a podridão-parda no Brasil só foram registrados até 1993. Por se tratar de uma doença muito influenciada por altas precipitações pluviométricas, principalmente nos meses mais frios do ano, com o retorno dessas precipitações nos últimos anos, os danos causados pela podridão-parda voltaram a se elevar (LUZ e SILVA, 2001).



**Figura 2:** Ciclo de vida da *Moniliophthora perniciosa*.

Fonte: MEINHARDT, 2008 citado por PINHEIRO (2011)

A vassoura-de-bruxa, inicialmente, teve o seu agente etiológico descrito por Stahel, em 1915, como *Marasmius pernicius*. Mais tarde, no ano de 1942, Singer reclassificou esse patógeno como pertencente ao gênero *Crinipellis*, sendo que, por ocasião da revisão da sua sistemática, esse fungo passou a ser identificado como *Crinipellis perniciosa* (Stahel) Singer. Recentemente, Aime e Phillips-Mora (2005), sugeriram que este seja re-

classificado como *Moniliophthora perniciosa* a partir de análises filogenéticas do agente causal da vassoura-de-bruxa e do fungo *Moniliophthora roreri*.

No ano de 1989, a vassoura-de-bruxa foi detectada pela primeira vez na região cacaueteira baiana (PEREIRA et al., 1991) e, apesar das medidas de erradicação executadas em 12 hectares, no município de Uruçuca, novos focos foram descobertos no mesmo ano, no município de Camacan. Desta forma, a doença instalou-se nos dois maiores agrossistemas cacaueteiros do sul da Bahia: o do Almada e o de Camacan (SILVA et al., 2002). Com base na distribuição geográfica dos isolados, sugere-se que duas introduções distintas ocorreram na região cacaueteira da Bahia, verificando-se uma tendência de regionalização (MELO, 2000). Doze anos após, em fevereiro de 2001, a doença foi constatada em duas fazendas no Espírito Santo, no município de Linhares.

O patógeno ataca principalmente os tecidos meristemáticos em crescimento, provocando sintomas característicos de desequilíbrio hormonal na interação patógeno-hospedeiro. As medidas recomendadas para o controle da vassoura-de-bruxa estão inseridas no manejo integrado da doença, adotando-se métodos de controle genético, cultural, químico e biológico (LUZ et al., 1997; COSTA et al., 2006).

As almofadas florais, quando infectadas, podem produzir brotos vegetativos, sendo chamadas vassouras vegetativas de almofadas florais; flores anormais e ou frutos partenocárpicos abortivos (“morangos” e “cenouras”). Em alguns casos, vassouras compostas podem apresentar todas estas características em ramos, a penetração do fungo ocorre na base da gema ou por um nó ou entrenó em crescimento. O fungo estimula a formação de um broto hipertrofiado ortotrópico (vassoura terminal) ou plagiotrópico (vassoura axilar). Em alguns casos, a resposta do tecido à infecção é severa e resulta na morte da gema terminal (LUZ et al., 1997). Nos frutos desenvolvidos, com no mínimo 8 cm de comprimento, a vassoura apresenta, externamente, uma lesão negra, dura e irregular (SILVA et al., 2002).

A alternância de chuvas com dias de sol, noites com temperaturas entre 15 e 24°C e umidade relativa do ar alta, acima de 90%, são condições altamente favoráveis ao patógeno (LUZ et al., 1997).

Esta enfermidade é considerada, atualmente, o principal problema para a expansão e manutenção da cultura de cacau no sul da Bahia. Afeta a planta inteira desequilibrando sua fisiologia e reduzindo a sua produção. Após esta epidemia juntamente a outros fatores, a lavoura cacauera encontra-se em situação dramática em função da severidade e do alastramento progressivo, baixa produtividade do cultivo, preços baixos do produto, desvalorização das propriedades e descapitalização dos produtores. Os danos provocados são significativos, levando muitos produtores a abandonarem suas lavouras e, conseqüentemente, afetando a situação sócio-econômica da região (RAM, 1993)

Para reverter este quadro de baixa produtividade foram adotadas várias alternativas. Dentre elas destaca-se a substituição dos cacauais infectados por variedades clonais selecionadas no Banco Ativo de Germoplasma (CEPLAC) e em áreas de produtores, como resistentes a esta enfermidade, de boa capacidade de produção e multiplicadas na área em mistura, através da prática da enxertia (ROSA, 1998).

Essa medida de controle é fundamental haja vista os controles químico e cultural terem se mostrado onerosos e ineficazes quando não executados rigorosamente de acordo com as recomendações técnicas da pesquisa, e antieconômicos em se tratando de lavouras formadas por variedades de alta suscetibilidade e de baixa produtividade (PINTO e PIRES, 1998).

A utilização de clones autocompatíveis e manejados em blocos monoclonais, também é uma alternativa a ser adotada. Nesse modelo as variedades de cacau são plantadas em blocos separados, facilitando o manejo, eliminando o problema da compatibilidade sexual, vigor, porte, e reduzindo gastos (CRESPO e CRESPO, 1979).

Mandarino e Gomes (2009) avaliaram sistema de plantio de cacauzeiros em blocos monoclonais com clones autocompatíveis dotados de resistência a

vassoura-de-bruxa. De acordo com os autores a utilização do manejo descrito representa uma valiosa alternativa focada na recuperação do volume de produção das safras de cacau. Possibilitando ainda, a produção de tipos de cacau regionalizado com características diferenciadas para atender a crescente demanda de mercado por chocolates especiais e atrair novos investimentos.

Atualmente, a forma mais econômica, estável e ambientalmente desejável de controle da vassoura-de-bruxa consiste no emprego de variedades resistentes. No entanto, a seleção de cultivares clonais resistentes é baseada em informações limitadas sobre a variabilidade genética do patógeno e do hospedeiro (RICONES et al, 2006; SILVA et al, 2007).

Uma das grandes preocupações de técnicos e produtores se refere à perda de resistência das variedades clonais utilizados pelos agricultores. Isso se justifica pelo fato de estudos genômicos demonstrarem que os fungos presentes na região da Bahia são originários de apenas dois genótipos, enquanto que na Amazônia pelo menos seis genótipos diferentes foram identificados (RINCONES et al, 2006). Como resultado, as variedades resistentes selecionados a partir de genótipos da Bahia, podem ser susceptíveis a novos genótipos amazônicos que venham a infectar a região cacauzeira baiana. De fato, já há relatos da perda de resistência do genótipo *Scavina 6* de *Theobroma cacao* no Equador, na Amazônia e no Sul da Bahia (SILVA et al, 2007).

### **3. PESQUISAS SOBRE A INFLUÊNCIA GENÉTICA NA QUALIDADE DO CACAU**

O genótipo do cacau influencia na qualidade, sabor e intensidade do chocolate (Luna et al, 2002.; Taylor, 2002; Counet et al, 2004;. Taylor e Roberts, 2004). Os três principais tipos de cacau, *Forastero*, *Criollo* e o Trinitário, mostram grandes variações de sabor final (Beckett, 2000; Awua, 2002; Amoye, 2006).

Estudos realizados por Zamalloa (1994) citados por Efraim (2009) avaliaram as características químicas, físico-químicas e sensoriais de genótipos dos tipos *Forastero* e Trinitário cultivados no Estado de São Paulo, em condições climáticas distintas das quais o cacauveiro vem sendo cultivado no mundo em larga escala. Tucci et al. (2002) e Efraim et al. (2006) avaliaram os mesmos genótipos, respectivamente com relação a composição em ácidos graxos, triacilgliceróis e conteúdo de gordura e os teores de compostos fenólicos. Todos os três estudos encontraram diferenças entre os materiais em relação às características avaliadas.

De acordo com Figueira et al. (1997), efeitos genéticos são considerados determinantes nas diferenças verificadas entre tipos de cacau denominados finos (cacau do Equador do tipo Nacional ou certos tipos de Trinitário e *Criollo*) e tipos denominados “bulk”, cultivados e utilizados comercialmente em maior escala e disponíveis no mercado convencional.

Trabalhos conduzidos por Efraim (2009) comprovaram a diferença do comportamento dos cultivares de cacau ao serem monitorados os parâmetros de temperatura e pH durante a fermentação, da mesma forma que foi encontrada diferenças nos liquors, manteiga e chocolate.

Segundo Cross (1999) citado por Efraim (2009) uma das principais dificuldades em avaliar comparativamente as diferenças entre variedades de cacau encontra-se na escassez de trabalhos que tenham utilizado materiais distintos submetidos aos mesmos protocolos de fermentação, secagem e torração.

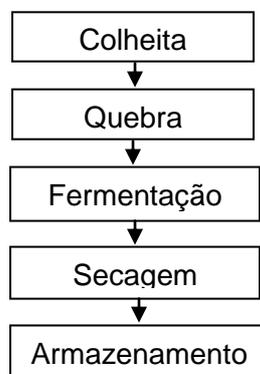
#### **4. PRÉ-PROCESSAMENTO DO CACAU**

A tecnologia de colheita e pós-colheita do cacau é de enorme importância para se reunirem as características que o fazem do chocolate produto tão apreciado.

Inicialmente os frutos são colhidos com podões, sendo amontoados no chão para serem abertos com facões. A casca e a placenta é, então,

separadas e o material interno (formado de sementes e polpa) é levado às etapas posteriores. Esta consiste de duas etapas. A primeira delas é a fermentação que facilita a separação da polpa da semente além de proporcionar a ocorrência de uma série de reações bioquímicas. A segunda etapa é a secagem que faz com que as amêndoas atinjam a umidade necessária para o armazenamento, levando as reações químicas concomitantes que estabilizam a cor marrom característica (OETTERER, 2006).

A figura 3 representa o fluxograma das etapas envolvidas no beneficiamento do cacau.



**Figura 3.** Fluxograma do beneficiamento do cacau.

#### 4.1 COLHEITA E QUEBRA DOS FRUTOS

A colheita do cacau é a fase inicial no beneficiamento. Deve ser efetuada quando os frutos apresentarem ponto ideal de maturação. A depender da variedade apresentará uma coloração da casca diferenciada.

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). A colheita deve ser realizada utilizando podões ou tesouras de poda, devendo-se ter o cuidado de não cortar o pedúnculo do fruto e evitar danificar a almofada floral, para não comprometer a produtividade

da planta (SERRA, 2004). Outro fator que deve ser levado em consideração é não causar nenhum corte no fruto, pois desta forma dará início ao processo fermentativo antes mesmo de estar nos cochos, comprometendo a qualidade das amêndoas.

O intervalo de tempo para se realizar a quebra dos frutos é com um intervalo de 2 a 3 dias em relação à colheita, pois a separação das sementes da casca é facilitada, caso esse tempo seja estendido acaba por comprometer a qualidade das sementes ocasionando germinação no interior dos frutos, alterando todo o mecanismo do sabor e aroma do chocolate (SERRA, 2004)

## 4.2 FERMENTAÇÃO DAS SEMENTES

O fruto de cacau com cerca de 20 x 7,5cm, é alongado e apresenta sulcos longitudinais no pericarpo; que é duro e com coloração variando do amarelo ao vermelho (SILVA, 2000). Contém 30 a 50 sementes representando cerca de 13,5 a 29% do peso do fruto (MATTIETTO, 2001). As sementes medem 2 a 3 cm de comprimento e apresentam polpa, testa e cotilédones. A polpa é constituída por um parênquima de células esponjosas mucilaginosas contendo água, frutose, glucose, sacarose, pentosanas, ácido cítrico, proteínas e vários sais inorgânicos. A testa secreta a mucilagem e atua como via de transporte entre os cotilédones e a polpa mucilaginosa. O cotilédone apresenta células contendo reservas protéicas, lípidos, amido e células polifenólicas. No tecido fresco predominam células contendo numerosos e regulares glóbulos lipídicos que revestem ordenadamente a face interna da membrana celular. As células polifenólicas apresentam um grande e único vacúolo preenchido por polifenóis sendo responsáveis pela cor dos cotilédones. Este vacúolo é lisado durante o processo fermentativo (URBANSKI, 1992).

Durante a fermentação, a polpa envoltória das sementes é degradada pela ação sucessiva de microrganismos (leveduras e bactérias ácido-lácticas e ácido-acéticas) naturais do ambiente, com a elevação da temperatura para cerca de 50°C (LOPEZ, 1986). Esses microrganismos atuam nos açúcares e

ácidos orgânicos da polpa, que são transformados em etanol, ácido láctico e especialmente, o ácido acético (SCHWAN; WHEALS, 2004). Os ácidos orgânicos gerados penetram nas sementes, e juntamente com a elevação da temperatura causada pela fermentação aeróbica, causam a morte do embrião e acidificação no tecido armazenado. Com a morte do embrião, é perdida a permeabilidade seletiva de membranas, permitindo o contato entre enzimas e substratos, normalmente separados em tecidos vivos (LOPEZ, 1986).

De acordo com Beckett (2009) durante a fermentação os microrganismos decompõem a celulose que envolve as sementes, resultando na morte e criando um ambiente que permite a formação dos precursores do sabor do cacau.

A polpa é um excelente meio para o crescimento de microrganismos contendo 10-15% de açúcares. Quando as sementes são removidas dos frutos, ocorre uma inoculação natural de microrganismos do ambiente para a polpa (Beckett, 2009). O processo de fermentação pode ser dividido em três fases:

Fase 1 – Ação das leveduras anaeróbicas: Nas primeiras 24-36 h, as leveduras transformam o açúcar em álcool sob condições anaeróbicas em um pH abaixo de 4. A morte da semente geralmente ocorre no segundo dia, causada pela presença de ácido acético e álcool. Algumas das leveduras isoladas da fermentação do cacau são *Saccharomyces cerevisiae*, *Kluyveromyces marxianus*, *Saccharomyces exiguous*, *Candida castelli*, *Candida saitoana*, *Candida guilliermondii*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Pichia farinosa* and *Torulopsis* spp. (SCHWAN e WHEALS, 2004).

Fase 2 – Ação das bactérias lácticas: Estas estão presentes desde o início da fermentação, mas só se tornou dominante entre 48 e 96 h. Bactérias lácticas convertem açúcares e alguns ácidos orgânicos em ácido láctico. Algumas das bactérias lácticas isoladas da fermentação do cacau são: *Acetobacter lovaniensis*, *Acetobacter rancens*, *Acetobacter xylinum*, *Gluconobacter oxydans*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus plantarum*, *Leuconostoc mesenteroides* and *Lactococcus (Streptococcus)* (SCHWAN e WHEALS, 2004).

Fase 3 – Ação das bactérias acéticas: Estas também estão presentes em toda fermentação, havendo redução ao final da fermentação à medida que se realiza os revolvimentos da massa de cacau. Elas são responsáveis pela conversão do álcool em ácido acético. Esta é uma reação fortemente exotérmica, sendo responsável pelo aumento da temperatura. Podendo chegar a 50 °C (122°F) ou mais elevada com a presença de algumas impurezas. Na prática, existe uma considerável sobreposição entre as fases. Os tipos de microrganismos variam entre fermentações e entre as regiões. Algumas das bactérias isoladas da fermentação do cacau são: *Acetobacter aceti* e *Acetobacter pasteurianus* (SCHWAN e WHEALS, 2004).

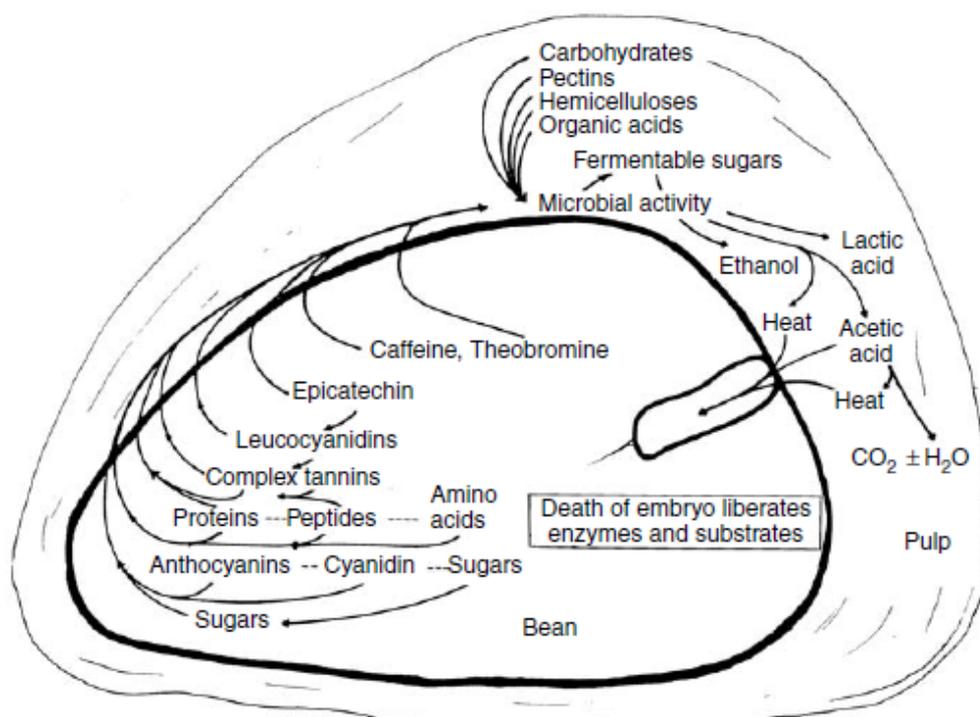
A fermentação das sementes é essencial ao processamento, pois é responsável pelo desenvolvimento dos precursores e inúmeros compostos de sabor. O processo de fermentação das sementes inicia-se naturalmente pela ação da atividade microbiana na polpa mucilagínosa, que envolve a semente. Os produtos do metabolismo dos microrganismos principalmente álcool, ácidos orgânicos e o calor gerado nos primeiros dias de fermentação provocam a destruição do poder germinativo da semente e desencadeiam importantes transformações físico-químicas e estruturais. Estas transformações afetam significativamente a qualidade do produto final, principalmente os aspectos que envolvem a formação de sabor (SCHWAN, 1996).

Com o aumento da aeração, o pH aumenta (3,5-5,0) e também há um aumento na temperatura da massa de cacau, atingindo em torno de 45 ° C. As fases posteriores de fermentação são associadas ao desenvolvimento de bactérias aeróbias formadoras de esporos do gênero *Bacillus*. Muitos *Bacillus* spp. são termotolerantes e outros crescem bem a temperaturas elevadas. *Bacillus stearothermophilus*, *Bacillus coagulans* e *Bacillus circulans* foram isoladas a partir de amêndoas de cacau submetidas à secagem e torrefação (150 ° C). Bactérias aeróbias formadoras de esporos produzem uma variedade de compostos químicos em condições de fermentação. Estes contribuem para a acidez e, talvez, ocasionem off-sabor nas amêndoas de cacau. Os ácidos graxos livres C3-C5 desenvolvidos durante a fase aeróbia da fermentação também são responsáveis pela produção de off-sabor em chocolate, estes são

produzidos por *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus* e *Bacillus megaterium*. Outras substâncias, tais como os ácidos acético e lático, e 2,3-butanodiol, são também produzidos por *Bacillus* spp. e prejudicam o sabor do chocolate (SCHWAN e WHEALS, 2004).

A produção de ácidos durante a etapa de fermentação está relacionada com a aeração da massa de sementes (QUESNEL, 1968). Foram observadas reduções na acidez através do aumento na frequência de revolvimentos (LOPEZ e MCDONAL, 1982; SCHAWN et al., 1990).

Segundo Beckett (2009) o desenvolvimento dos precursores do *sabor* do cacau ocorre nos cotilédones durante fermentação e secagem. Existem dois tipos importantes de células dentro dos cotilédones: células de armazenamento contendo gorduras e proteínas, e as células de pigmento contendo compostos polifenólicos e metilxantinas (teobromina e cafeína). Após a morte da semente, as paredes celulares e membranas se rompem permitindo reações entre os diversos compostos e enzimas (Figura 4).



**Figura 4.** Mudanças químicas dentro da semente do cacau durante a fermentação. Fonte: LOPEZ, 1986, citado por BECKETT, 2009.

O desenvolvimento dos precursores do aroma envolve a ação de vários microrganismos presentes na polpa de cacau e a ação de enzimas sobre os carboidratos, proteínas e polifenóis. Ao contrário de muitas outras matérias primas fermentadas, enzimas endógenas desempenham um papel crucial no desenvolvimento do sabor do cacau (LEHRIAN e PATTERSON, 1983).

A atividade enzimática em amêndoas de cacau, durante a fermentação, é conhecida e estudada pelo menos desde a segunda metade do século XX. Entretanto, as primeiras enzimas reconhecidas estavam ligadas às alterações de coloração e à perda de adstringência, sendo principalmente da classe das oxidases (polifenol oxidase, peroxidase). Entre as hidrolases, foram estudadas inicialmente, as carboidrases (amilases e  $\beta$ -glicosidases) e lipases. Em 1964 era conhecida a habilidade de sementes moídas de cacau de coagular o leite (atividade proteolítica), porém até a próxima década as proteases presentes nas amêndoas ainda não haviam sido extraídas, isoladas e caracterizadas. Estudos mais conclusivos a respeito da formação de precursores de sabor em amêndoas de cacau datam principalmente das décadas de 80 e 90 e foram conduzidos por grupos de pesquisa na Suíça e na Alemanha, em cooperação com grupos da Malásia. Atualmente acredita-se que as seguintes enzimas tenham importância capital na formação do *sabor* de chocolate das amêndoas de cacau:

a. endoproteases e exopeptidases – envolvidas na geração de peptídeos e aminoácidos livres considerados os principais precursores de sabor;

b. invertase e glicosidases – responsáveis pela liberação de açúcares redutores indispensáveis à formação do sabor durante a torrefação. Glicosidases atuam ainda na desglicosilação de compostos terpênicos ou fenólicos (linalol, antocianinas, por ex.) interferindo na geração de sabor e na cor;

c. polifenol oxidase – responsável pela oxidação de compostos fenólicos tendo como consequência o fim da adstringência e redução do amargor (HANSEN et al., 1998; LOPEZ e DIMICK, 1991).

Aquarone et. al. (2001) constataram que o sabor típico do chocolate aparece, mas sem atingir a qualidade daquele observado em amêndoas processadas por microrganismos. Assim, concluíram que a fermentação natural da polpa resulta em desenvolvimento de microrganismos que fornecem enzimas necessárias para a obtenção final do sabor do chocolate. Atualmente sabe-se que reações que levam à formação de precursores de sabor são levadas a cabo por enzimas endógenas da própria semente do cacau e que a fermentação tem como principal consequência o abaixamento do pH, favorecendo a ação destas enzimas.

#### 4.3 SECAGEM

Esta etapa deve ser iniciada logo após a fermentação. A secagem natural, ou secagem solar, consiste em dispor o cacau fermentado em áreas cimentadas ou assoalhadas, bandejas, plásticos ou no próprio solo (PONTILLON, 2009). O método mais utilizado no Brasil é a secagem feita em barcaças. Que são construções típicas constituídas por um lastro de madeira erguido sobre pilares de alvenaria, e uma cobertura que desliza sobre trilhos. A cobertura, geralmente feita de chapas de alumínio corrugado ou de zinco, é afastada para expor as amêndoas ao sol e, quando fechada, protege contra chuva, sereno e calor excessivo. As amêndoas são espalhadas sobre o lastro da barcaça em uma camada uniforme com cerca de 5 cm de espessura. O revolvimento constante é feito com um rodo de madeira, principalmente no início da secagem, a fim de evitar aglomerados. O processo mais utilizado é a pré-secagem ao sol complementada com aquecimento artificial, via estufas aquecidas por combustão de lenha ou gás liquefeito e/ou energia solar (OETTERER, 2006).

Considera-se como fator essencial, durante a secagem, a velocidade de remoção da água. Uma secagem rápida ocasiona perda de umidade na superfície da amêndoa, deixando o interior úmido, depreciando o produto, e proporcionando o aparecimento de fungos internos, produzindo manchas

brancas, durante o período de armazenamento. Apenas 3% de amêndoas contaminadas já proporcionam sabor desagradável ao *liquor* ou massa de cacau, impossível de ser eliminado em processos posteriores. Além disso, ocorre o endurecimento com eventual ruptura da testa. No caso da secagem excessiva, ocorre perda de peso, tornando as sementes quebradiças (SOARES, 2001; EFRAIM et al, 2006).

Durante a secagem, as enzimas atuam no interior da amêndoa e promovem as reações químicas, estabilizando o sabor, e a cor característicos do chocolate, com acidez reduzida. A temperatura da secagem é importante na qualidade final das amêndoas. O ideal está na faixa de 35 a 40 °C, porque é ótima para as enzimas. O uso de temperaturas mais baixas ou mais altas leva à perda na qualidade, pois as enzimas agem mais lentamente ou são destruídas. Além disso, a secagem tem que durar um tempo para que ocorra a ação enzimática. O período ótimo é de 4 a 5 dias, com umidade final de cerca de 7% (OETTERER, 2006).

O cacau deve ser seco para reduzir o teor de umidade em torno de 7-8%. Em países tropicais produtos agrícolas como o cacau é colhido durante todo o ano e as amêndoas devem ser secas imediatamente para reduzir as perdas de massa e evitar a deterioração. A secagem pode ser efetuada utilizando métodos naturais ou artificiais, isto dependentemente da quantidade de amêndoas de cacau e das condições climáticas (NDUKWU, 2009).

O sabor de chocolate deriva da interação de centenas de compostos (mais de 400 foram descritos), incluindo pirazinas, tiazóis, oxazóis, derivados de pirróis, piridinas e furanos, sendo que o desenvolvimento de métodos analíticos resulta num aumento de substâncias reconhecidamente associadas ao sabor de chocolate (BONVEHÍ, 2005). Nem todos os componentes individuais identificados devem ser considerados como componentes significativos de sabor e aroma, já que o impacto depende da concentração e da intensidade do odor (BONVEHÍ, 2005). Os substratos afetados durante a fermentação e secagem (açúcares reduzidos, aminoácidos e oligopeptídeos) geram precursores que durante a torração geram centenas de compostos

voláteis (VOIGT e BIEHL, 1996). Os açúcares redutores glicose e frutose derivam da hidrólise da sacarose do cotilédone e possivelmente internalizado a partir da polpa. Diversos oligopeptídeos e aminoácidos são produzidos durante a hidrólise por ácidos e ação das proteases das sementes durante a fermentação. Estes compostos passam por reações não enzimáticas durante a secagem e a torração. As reações de Maillard, com a formação de compostos por Amadori e degradação Strecker de aminoácidos produzem um grande número de compostos químicos voláteis, dependendo das condições de secagem e torração, e essencialmente da composição de aminoácidos, oligopeptídeos e açúcares redutores provenientes da fermentação, gerando os compostos de sabor do cacau (VOIGT e BIEHL, 1996). As reações de Maillard são condensações entre grupos  $\alpha$ -amino e aminoácidos, proteínas ou aminas e o grupo terminal carbonil de açúcares redutores (SCHWAN e WHEALS, 2004), e um das conseqüências principais da reação é produção do sabor (BONVEHÍ, 2005).

#### 4.4 ARMAZENAMENTO

Segundo Serra (2004) 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.

## **5. AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DAS AMÊNDOAS - PROVA DE CORTE**

Segundo Shaughnessy (1992) citado por Efraim (2009) a prova de corte geralmente mensura o grau de fermentação das amêndoas pela coloração (marrom, parcialmente marrom, violácea, ardósia) e compartimentação dos cotilédones (bem, parcialmente ou pouco compartimentada), bem 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. A classificação dos lotes quanto ao tipo é dada de acordo com as características mensuradas, e varia de acordo com normas estabelecidas em cada país produtor ou comprador de cacau.

De acordo com Serra (2004) amêndoas germinadas são oriundas da colheita de frutos sobremaduros ou furados por roedores. As achatadas, são aquelas com cotilédones muito finos, com uma só folha embrionária, ou sem a presença desta (chôcha), já as sobrefermentadas são aquelas que, após a fermentação acética, iniciam a fermentação proteolítica (putrefativa), sendo indesejáveis porque não dão sabor característico de chocolate e, conseqüentemente, introduzem sabor estranho ao produto.

## 6. OBTENÇÃO DE PRODUTOS DE CACAU

Um problema recorrente na indústria de chocolate é a baixa qualidade das amêndoas de cacau. Uma vez que o processo de fermentação e secagem é feito ainda nas fazendas, sem qualquer controle de processo, uma porcentagem significativa das sementes de cada batelada não sofre as alterações necessárias (principalmente a acidificação e aumento da temperatura) para que as reações enzimáticas se processem de forma satisfatória. Como consequência, uma porção importante das amêndoas a serem torradas não irá desenvolver o sabor característico, o que leva à perda de qualidade do chocolate produzido. Infelizmente, embora este problema seja conhecido há bastante tempo, verificou-se no Brasil muito pouca alteração nos processos de fermentação utilizados, o que leva a indústria processadora de cacau a buscar soluções alternativas a serem aplicadas depois do pré-processamento no campo (NASCIMENTO, 2010).

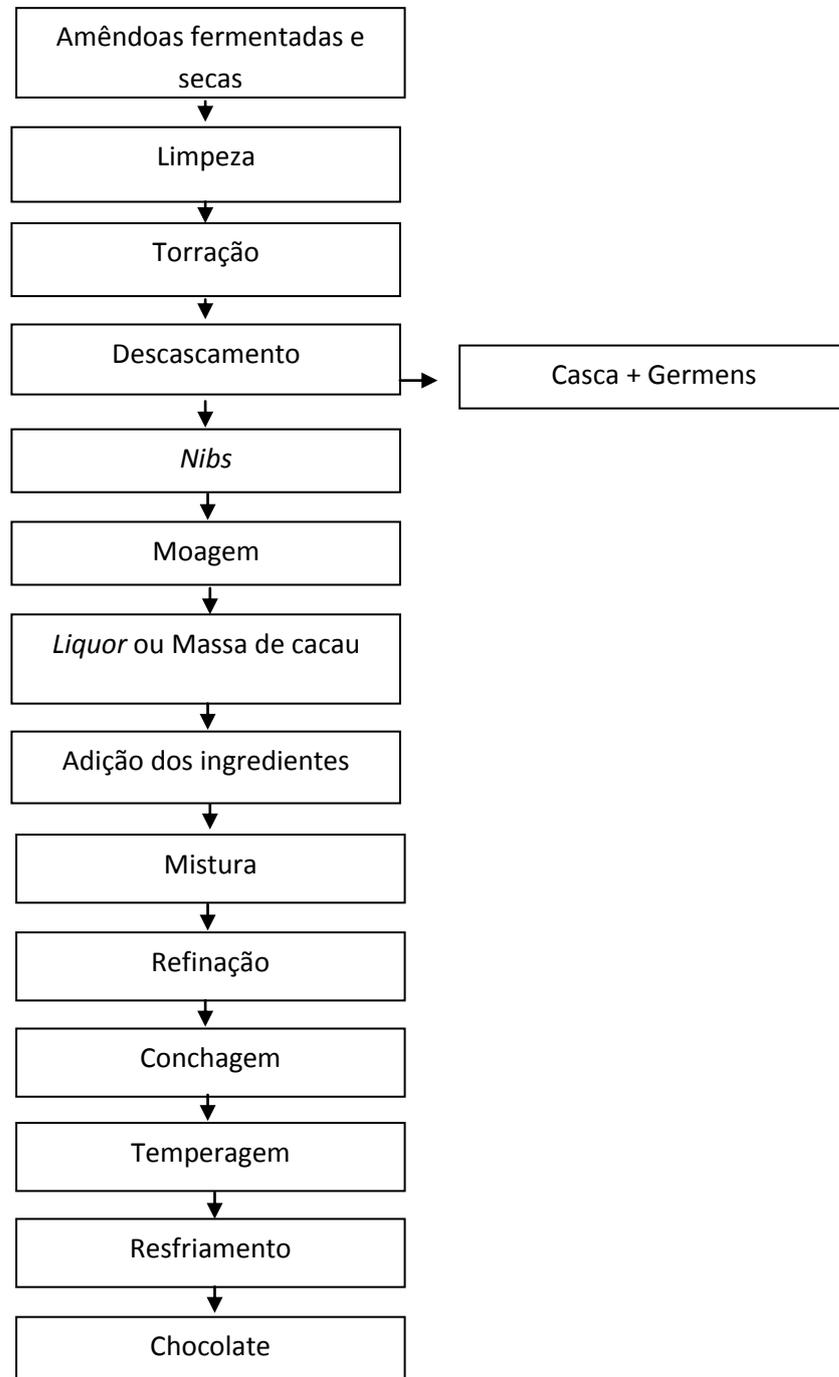
O mais notável atributo do chocolate é o seu sabor único. A combinação e o equilíbrio dos numerosos compostos que contribuem para o sabor final dependem de diversos fatores dentre os quais estão genética, condições ambientais, condições de colheita e de processamento. Essa complexidade é evidente quando se considera que, ainda hoje, este *sabor* tão desejável não foi reproduzido pela indústria química (REINECCIUS, 2006).

O desenvolvimento desse aroma é influenciado pela constituição genética das sementes, processamento pós-colheita (fermentação e secagem), torração e conchagem. O sabor de chocolate é desenvolvido na etapa de fermentação e torração. O genótipo, variedade do cacau, influencia tanto a qualidade quanto a intensidade do sabor no chocolate, pois possivelmente determina a quantidade de precursores do sabor formados na etapa da fermentação (POSSIGNOLO, 2010).

Após a colheita do cacau, são efetuadas as operações de abertura dos frutos, fermentação das sementes junto à polpa que as envolve, secagem e torração para obtenção da massa ou liquor de cacau, que será utilizado na

obtenção de manteiga e pó de cacau, além de chocolates e produtos análogos (BECKETT, 1994).

Na figura 5 está representado o fluxograma do processamento de chocolate a partir das amêndoas de cacau.



**Figura 5.** Fluxograma do processamento do chocolate.

Iniciando o processamento industrial, as amêndoas fermentadas e secas são submetidas à limpeza para remoção de sujidades como pedras, madeira, metais ou outros materiais estranhos, sendo de extrema importância para a vida útil dos equipamentos e para o desenvolvimento do sabor (KLEINERT, 1994).

O típico sabor de chocolate é obtido exclusivamente de sementes fermentadas, secas e torradas de *T. cacao*, não podendo ser sintetizados artificialmente. No processamento das sementes (também conhecidas comercialmente como amêndoas de cacau), duas etapas são essenciais para o desenvolvimento da qualidade do sabor: (a) fermentação das sementes de cacau após a colheita e a subsequente secagem; e (b) a torração. O sabor de chocolate é desenvolvido na etapa da fermentação e torrefação, portanto os precursores essenciais do sabor são gerados durante o processo de fermentação (VOIGT e BIEHL, 1995).

A indústria recebe as amêndoas que deverão sofrer a manufatura, ou seja, a retirada do tegumento e do germe para obtenção de “nibs” – amêndoas descascadas e trituradas – que é a matéria-prima para a fabricação da massa de cacau, manteiga de cacau, cacau em pó e, finalmente, chocolate. Após as operações preliminares, que consistem em limpeza para eliminar impurezas e, eventualmente, calibragem para classificar as amêndoas por categoria de tamanho homogêneo, a indústria tem duas opções: torrefação e em seguida descortificação – remoção do tegumento das amêndoas – ou o inverso. No primeiro caso (que se inicia com a torrefação), a descortificação é mais fácil uma vez que a casca fica bem descolada do grão; mas, por outro lado, a homogeneidade da torrefação é dificultada pelo tamanho relativamente grande da amêndoa (cerca de 22 mm de comprimento por 8 mm de espessura). No segundo método, corre-se o risco de enriquecer os nibs com pedaços de casca que restaram, mas a torrefação é mais homogênea (PONTILLON, 2009).

A importância da torrefação na tecnologia de produção de chocolate está associada aos seguintes fatores: formação do sabor e redução da microbiota

bacteriana presente na matéria-prima durante o processo fermentativo e o armazenamento (PEREGO et al., 2004). Outro objetivo da torrefação é secar suficientemente os nibs, permitindo assim que possam ser moídos (PONTILLON, 2009). O efeito do calor nos precursores do sabor de chocolate, presentes no cacau após a fermentação e secagem, é de catalisador, liberando o sabor característico do chocolate (OETTERER, 2006).

A etapa que se segue à torrefação é a trituração. Esta permite a separação da casca por peneiragem, ventilação e sucção. As amêndoas manufaturadas (torradas e trituradas) passam por uma moagem e o produto, denominado massa de cacau – no estado pastoso também chamado de liquor - será a matéria prima para a produção da manteiga de cacau, do cacau em pó (matéria-prima para os achocolatados) e do chocolate, conforme tratamento que receber. Ao passar por prensas hidráulicas, extrai-se boa parte da manteiga de cacau presente na massa. A torta restante dessa prensagem passa por moinhos que a pulverizam e produzem o cacau em pó (OETTERER, 2006).

O processo de refino promove a redução do tamanho das partículas dos ingredientes tornando-os imperceptíveis na boca durante a degustação do produto final. O tamanho das partículas da massa refinada não deve ser superior a 25 $\mu$ m para que o consumidor não perceba arenosidade ao degustar o chocolate (LUCCAS, 2001).

A conchagem se constitui como a última etapa de importância na formação do sabor característico e desejável do chocolate. É uma etapa de mistura que envolve a redução da umidade, o desenvolvimento da textura uniforme e a mudança da cor. A volatilização reduz o amargor e desenvolve o sabor do chocolate. As partículas sólidas, tais como o açúcar e o cacau, são revestidas com gordura, dissociadas pelo atrito tornam-se arredondadas. O envolvimento das partículas sólidas pela gordura (principalmente pela manteiga de cacau) associados ao cisalhamento e movimentação da massa de chocolate contribuem para a textura do chocolate, que também exerce grande influência ao sabor global do chocolate. Além disso, ocorre a formação de compostos por

meio da reação de Maillard. (AFOAKWA et al, 2008; EFRAIM, 2009; PRAWIRA, 2009).

O processo de temperagem para o chocolate inicia-se com a fusão completa da fase gordurosa do chocolate em 40-50°C. Em seguida é feito um resfriamento controlado, para 28-29°C, sob agitação, para induzir à cristalização da gordura, seguido de aquecimento a 30-32°C para derreter os cristais instáveis, mas ainda formando novos cristais estáveis tipo V. A taxa de resfriamento deve ser próxima a 2,0°C/min. O chocolate temperado é, então, depositado em moldes, onde é resfriado a 18°C, para desenvolver os cristais e formar uma massa quebradiça, brilhante, estável e homogênea (BRIGGS e WANG, 2004; QUAST et al, 2007).

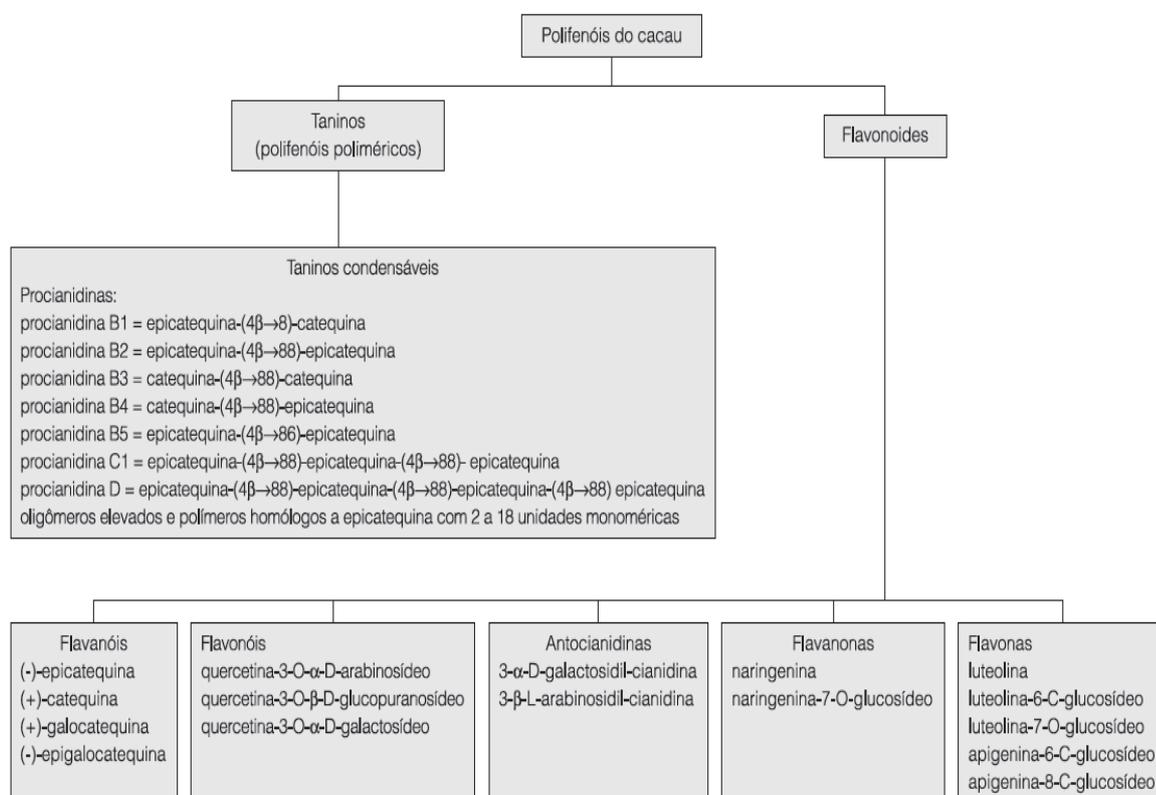
O chocolate pode ser definido como uma dispersão de partículas sólidas (açúcar, sólidos de cacau e sólidos de leite) em uma fase gordurosa contínua, que também contribui para o aroma, sabor, cor, além de propiciar forma ao produto final, quando utilizado o método de moldagem (VISSOTTO et al., 1999).

## **7. COMPOSTOS FENÓLICOS PRESENTES NO CACAU**

Os polifenóis ou compostos fenólicos são uma classe de compostos que ocorrem em frutas, vegetais, sementes, flores, bebidas e alguns alimentos industrializados, como componente de um ingrediente natural que foi adicionado. Constituem um dos mais numerosos e largamente distribuídos grupos de substâncias do reino das plantas, com mais de 8000 estruturas fenólicas conhecidas (BRAVO, 1998).

Os principais compostos fenólicos encontrados nas sementes de cacau são listados na Figura 6, estando dentro das classes dos taninos e dos flavonoides. Os flavonoides presentes incluem flavanóis, flavonóis, antocianinas, flavonas e flavanonas. Entre estes, os flavanóis são os mais abundantes, 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 conteúdo total dos fenólicos (WOLLGAST e ANKLAM, 2000).



**Figura 6.** Principais polifenóis encontrados nas sementes de cacau.

Fonte: Porter et al. (1991); Sanbongi et al. (1998); Sanchez- Rabaneda et al. (2003); Counet et al. (2006), citado por EFRAIM (2011)

Os polifenóis de sementes apresentam, juntamente com outros elementos de reserva, o sabor e a cor de chocolate (PORTER et al., 1991; MARTINI et al., 2008) e representam de 12 % a 20 % do peso seco das sementes desengorduradas (KIM e KEENEY, 1984; WOLLGAST e ANKLAM, 2000; MARTINI et al., 2008). Os polifenóis pigmentados conferem uma coloração púrpura aos cotilédones de *Forastero* e células lipide-proteicas, por outro lado, têm citoplasma bem embalado com múltiplos e pequenos vacúolos de proteínas e lipídios, além de outros componentes como grânulos de amido, os quais desempenham papéis importantes na definição do sabor de cacau e caracteres de aroma (KIM; KEENEY, 1984; NAZARUDDIN et al. 2001; AFOAKWA et al., 2008). Teores mais elevados de polifenóis proporcionam maior adstringência ao chocolate (MARTINI et al., 2008).

Durante a fermentação, com a morte do embrião, os compostos fenólicos sofrem difusão, entrando em contato com as enzimas polifenoloxidase e glicosidases presentes nas demais células (FORSYTH, 1958). Os polifenóis se combinam com as proteínas por complexação reversível por meio de pontes de hidrogênio e da oxidação irreversível dos polifenóis a quinonas, que por sua vez sofrem condensação covalente com os grupos reativos de aminoácidos, peptídeos, proteínas e fibras. Ao longo da fermentação, o teor de antocianinas decresce chegando a 7% do valor inicial, sendo que a maior parte dessa destruição ocorre entre o primeiro e o terceiro dias (BRITO, 2000; CROSS et al., 1982).

Segundo Brito (2000) citado por Efraim (2004) durante a fermentação, o teor de fenóis totais diminui cerca de 70%, sendo que a degradação da (-)-epicatequina, principal substrato da polifenoloxidase existente, provoca diminuição de 90% em sua concentração. A redução do teor de polifenóis durante a secagem é atribuída ao escurecimento enzimático causado pela polifenoloxidase, seguido de escurecimento não enzimático decorrente da polimerização das quinonas resultantes e da acumulação de compostos insolúveis.

Polifenóis de *Forastero* solúveis em gordura e secos isentos de gordura fresca formam de 15 a 20%, decaindo para aproximadamente 5% após a fermentação. O conteúdo de 10% ou mais é considerado sinal de baixa fermentação. Concentrações mais elevadas de polifenóis conduzem a um sabor muito adstringente no chocolate. Cacau *Criollo* tem aproximadamente dois terços deste conteúdo de polifenóis (HANSEN et al., 2000; AFOAKWA et al., 2008). Reações de polifenol oxidases com açúcar e aminoácidos contribuem com sabor e cor nas sementes de cacau, e alcalóides à amargura (AFOAKWA et al., 2008).

A diminuição do teor de compostos fenólicos totais durante as etapas de fermentação e secagem está relacionada à formação do sabor desejável do chocolate; ou seja, a degradação dos compostos fenólicos, seja por complexação com as proteínas ou por modificação bioquímica, é uma das

responsáveis pelo desenvolvimento do sabor desejável do chocolate (HANSEN et al, 1998; EFRAIM, 2004).

Os polifenóis das sementes de cacau ficam armazenados nas células de pigmento dos cotilédones juntamente com a cafeína, a teobromina, os ácidos graxos saturados e os monoinsaturados. Porém, quando ingeridos no cacau, esses constituintes adquirem, muitas vezes, atividade biológica diferente daquela dos compostos isolados. Dessa maneira, a manteiga de cacau não provoca aumento na concentração total do colesterol sérico, apesar deste efeito ser esperado por ser uma gordura rica em ácidos graxos saturados (MAO et al., 2000).

Várias pesquisas epidemiológicas puderam evidenciar os efeitos benéficos do consumo do cacau e do chocolate na dieta. Em um estudo realizado com uma população indígena na ilha de Kuna, na costa do Panamá, que consome grande quantidade de cacau na dieta, foi observado uma baixa incidência de hipertensão e doenças cardiovasculares, fato não associado a genética da população, visto que indivíduos que não viviam na ilha apresentavam tais patologias (HOLLENBERG et al, 1997).

A catequina, a epicatequina e as procianidinas não são compostos exclusivos do cacau, aparecem também em outros produtos como cereja, pêssago, maçã, chá verde e uvas tintas, mas é no cacau onde estão as maiores concentrações (FERNÁNDEZ-MURGA, 2011). Assim, o conhecimento dessas estruturas é importante, pois as procianidinas (polímeros), pelo seu maior tamanho, tem uma menor absorção intestinal, enquanto que a catequina e a epicatequina (monômeros) são facilmente absorvidas e levadas a corrente sanguínea, apresentando assim, um maior potencial para a ação no organismo (RICHELLE, 1999).

## 8. METILXANTINAS PRESENTES NO CACAU

As metilxantinas são substâncias básicas, ou seja, possuem pKa baixo (correspondente a 0,5), sendo altamente solúveis em lipídeos e, conseqüentemente, facilmente absorvidas pelo estômago e pelas paredes do intestino. Neligh et al. (1992), sugeriu que, no cérebro, as metilxantinas competem com a adenosina, que é um neuromodolador pré-sináptico, bloqueando esse receptor e conseqüentemente eliminando sua ação inibitória, causando efeito estimulante. A cafeína catalisa o restante da epinefrina e de outras catecolaminas das glândulas adrenais, contribuindo para o efeito estimulante (MCKIN, 1997). A teobromina apresenta um efeito menos estimulante que a cafeína.

As metilxantinas, como teobromina e cafeína, são outro grupo de compostos bioativos encontrados nas sementes de cacau. Esses alcalóides têm efeito estimulante no cérebro, sendo que alguns trabalhos relacionam sua presença em chocolates com efeitos como o hábito de consumo e dores de cabeça (BRUINSMA e TAREN, 1999). No cacau e no chocolate, a metilxantina predominantemente encontrada é a teobromina, em teores próximos a 1,89%, seguida da cafeína, em quantidades menores (0,23%) (ROZIN et al., 1991).

A cafeína (1,3,7-trimetilxantina) é a mais comum dentre as três, sendo encontrada principalmente em chás, cafés, produtos de cacau e bebidas à base de cola. Seus efeitos fisiológicos na saúde humana incluem estimulação do sistema nervoso central, dos músculos cardíacos, do sistema respiratório e da secreção de ácido gástrico. Também é considerada como um diurético fraco e relaxante muscular. A teobromina (3,7-dimetilxantina), encontrada sobretudo, em produtos de cacau, tem ação diurética (ALVES e BRAGAGNOLO, 2002).

A amêndoa do cacau contém cerca de 2-3% de teobromina, 0,2% de cafeína e traços de teofilina, sem qualquer alteração quantitativa da concentração de ser relatado durante a fermentação e torração. A teobromina apresenta baixa detecção de limiar de percepção de 10 mg/L, valor que contribui para gerar sabor amargo aos alimentos. Depois de torrar a amêndoa, a teobromina podem formar adutos químicos com dicetopiperazinas, que

apresentam alguma relação com as notas amargas do cacau torrado (PICKENHAGEN et al., 1975).

## REFERÊNCIAS

- AFOAKWA, E. O.; PATERSON, A.; FOWLER, A.; RYAN, A. Sabor formation and character in cocoa and chocolate: A critical review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v. 48, n. 9, p. 840-857, 2008.
- AIME, M. C.; PHILLIPS-MORA, W. The causal agents of witches' broom and frosty pod rot of cacao (chocolate, *Theobroma cacao*) form a new lineage of Marasmiaceae. **Mycologia**, v. 97, p. 1012-1022, 2005.
- ALVES, A. B.; BRAGAGNOLO, N. Determinação simultânea de teobromina, teofilina e cafeína em chás por cromatografia líquida de alta eficiência. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 38, n. 2, 2002.
- ALVES, S. A. M. **Epidemiologia da vassoura de bruxa (*Crinipellis pernicios* (STAHEL) SINGER) em cacauzeiros enxertados em Uruçuca, Ba.** 2002..Dissertação (Mestrado em Agronomia). Universidade de São Paulo. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz". Piracicaba – SP, p 70, 2002.
- AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHMIDELL, W.; LIMA, U. A. **Biotechnologia industrial**. Sao Paulo: E. Blucher, v.4, 2001.
- BATALHA, P. G. **Caracterização do cacau catongo de São Tomé e Príncipe**. Lisboa. 2009. Mestrado (Mestre em Engenharia de Alimentos – Tecnologia de Produtos vegetais) Universidade Técnica de Lisboa. Instituto Superior de Agronomia. Lisboa – Portugal, 2009.
- BECKETT, S.T. **Fabricación y utilización industrial del chocolate**. Zaragoza: Editorial Acribica, p.432, 1994.
- BECKETT, S. T. **Industrial chocolate manufacture and use**. 4 ed. London: Chapman and Hall, p.20-23, 2009.
- BONVEHÍ, J. S. Investigation of aromatic compounds in roasted cocoa powder. **European Food Research Technology**, Berlin, v. 221, p. 19-29, 2005.
- BRIGGS, J. L.; WANG, T. Influence of shearing and time on the rheological properties of milk chocolate during tempering. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 81, n. 2, 2004.
- BRITO, E.S. **Estudo de mudanças estruturais e químicas produzidas durante fermentação, secagem e torração do cacau (*Theobroma cacao* L.); e propostas de tratamento para o melhoramento de sabor**. 2000. 176p. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2000.
- BRUINSMA, K.K. & TAREN, D.L. Chocolate: Food or Drug? **Journal of the American Dietetic Association**, n. 99, p. 1249-1256, 1999.

BRAVO, L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance. **Nutritional Review**, v. 56, n. 11, p. 317-333, 1998.

CEITA, G. de O.; MACÊDO, J. A.; SANTOS, T. B.; ALEMANNI, L.; GESTEIRA, A. S.; MICHELI, F.; MARIANO, A. C.; GRAMACHO, K. P.; SILVA, D. C.; MEINHARDT, L.; MAZZAFERA, P.; PEREIRA, G. A. G.; CASCARDO, J. C. de M. Involvement of calcium oxalate degradation during programmed cell death in Theobroma cacao tissues triggered by the hemibiotrophic fungus Moniliophthora perniciosa. **Plant Science**. v.173, p.106-117, 2007.

CUATRECASAS J. Cacao and its allies: a taxonomic revision of the genus Theobroma. Contributions of the U.S. **National Herbarium**. p.379-614, 1964.

COSTA, J.C.B., BEZERRA, J.L., VELOSO, J.L.M., NIELLA, G.R. & BASTOS, C.N. Controle biológico da vassoura-de-bruxa do cacauero. In: Verson, M., PAULA JR., T.J. ; PALLINI, A. **Tecnologias alternativas para o controle de pragas e doenças**. Viçosa MG. EPAMIG. p. 25-47, 2006.

COUNET, C.; CALLEMIEN, D.; OUWERX, COLLIN, C.S. Use of gas chromatography-olfactometry to identify key odorant compounds in dark chocolate. Comparison of samples before and after conching. *Journal Agriculture Food Chemistry*, v. 50, p. 2385-2391, 2002.

CRESPO, DEL CAMPO, E.; CRESPO F. A. 1979. Cultivo y beneficio del cacao CCN-51. Ecuador, Editorial El Conejo. 136p.

CROSS, E; VILLENEUVE, F.; VINCENT J. C. Recherche d'un indice de fermentation du cacao. *Café, Cacao, Thé*, Paris, v.16, n. 2, p.109-113, 1982.

CROSS, E. **Cocoa sabor development, The Manufacturing Confectioner**, v. 79, n. 2, p. 70-77, 1999.

CRUZ, C. L. C. V. **Melhoramento do sabor de amêndoas de cacau através de tratamento térmico em forno convencional e de microondas**. Campinas, 2002. 101p. Dissertação (Mestre em Tecnologia de Alimentos). Faculdade de Engenharia de Alimentos. Universidade Estadual de Campinas. Campinas – SP.

DANTAS NETO, A, CORREA, R. X., MONTEIRO, W.R. Characterization of a cocoa population for mapping of genes of resistance to Witches' Broom and Phytophthora pod rot. **Fitopatologia Brasileira**, v.30, n.4, p.380-386, 2005.

DE LA CRUZ, M. et al. Origins of cacao cultivation. *Science*, Washington, v. 375, p. 542- 543, 1995.

EFRAIM, P. **Estudo para minimizar as perdas de flavonóides durante a fermentação de sementes de cacau para produção de chocolate**. 2004. 126p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos. Campinas – SP, 2004.

EFRAIM, P.; TUCCI, M. L.; PEZOA-GARCÍA, N. H.; HADDAD, R.; EBERLIN, M. N. Teores de Compostos Fenólicos de Sementes de Cacaueiro de Diferentes Genótipos. **Brazilian Journal Food Technology**, v. 9, n. 4, p. 229-236, 2006.

EFRAIM, P. **Contribuição à melhoria de qualidade de produtos de cacau no Brasil, através da caracterização de derivados de cultivares resistentes à vassoura-de-bruxa e de sementes danificadas pelo fungo**. Campinas, 2009. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos). Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, 2009.

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**, Campinas, v. 30, n. 1, p. 142-150, 2010.

FERNÁNDEZ-MURGA, L.; TARÍN, J. J.; GARCÍA-PEREZ, M. A.; CANO, A. The impact os chocolate on cardiovascular health. *Maturitas*, v. 69, p.312-21, 2011.

FIGUEIRA, A. et al. The similarity of cocoa flavour of fermented seeds from fingerprinted genotypes of *Theobroma cacao* L. from Brazil and Malasya. **Tropical Agriculture**, Trinidad, v. 74, n. 2, p. 132-139, 1997.

GOMES, Andréia da Silva; PIRES, Mônica de Moura; FREIRE, Carla Regina Ferreira. A crise da atividade cacaueira e a agroindústria do cacau no Estado da Bahia, Brasil. *Asociación Latinoamericana de Sociología*. Disponível em: <http://www.alasru.org/>. Acesso em 10 de agosto de 2010.

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, 273-281, 1998.

HOLLENBERG NK, MARTINEZ G, MCCULLOUGH M, et al. Aging, acculturation, salt intake, and hypertension in the Kuna of Panama. *Hypertension*, v. 29, p. 171–6, 1997.

ICCO International Cocoa Organization), Produção Mundial de cacau. Disponível em: <http://www.icco.org/>. Acesso em 16 de outubro de 2011.

LAGUNES-GALVEZ, S.; LOISEAU, G.; PAREDES, J. L; BAREL, M.; GUIRAUD, J. P. Study on the microflora and biochemistry of cocoa fermentation in the Dominican Republic. **International Journal of Food Microbiology**, 114, 124–130, 2007.

LAJUS, B.; COLOMBO, A. J. Estudo de alguns aspectos da tecnologia do cacau. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 17, n. 2, p. 119- 146, 1983.

LEHRIAN D. W. ;PATTERSON G.R., Cocoa fermentation, in Biotechnology, a Comprehensive Treatise, vol. 5, ed. by Reed G. Verlag Chemie, Basel, pp. 529–575 (1983).

LUNA, F.; CROUZILLAT, D.; CIROU, L.; BUCHELI, P. Chemical composition and sabor of Ecuadorian cocoa liquor. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 12, p. 3527-3532, 2002.

LUZ, E.D.M.N., BEZERRA, J.L., RESENDE, M.L.V. ;OLIVEIRA, M.L. Doenças do cacau. In: Ribeiro do Vale, F.X. & Zambolim, L. (Eds.) Controle de doenças de plantas. Brasília DF. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. p. 611-656, 1997.

LUZ, E.D.M.N.; SILVA, S.D.V.M. Podridão-parda dos frutos, cancro e outras doenças causadas por Phytophthora no cacau. In: Luz, E.D.M.N., Santos, A.F., Matsuoka, K. & Bezerra, J.L. (Eds.). Doenças Causadas por Phytophthora no Brasil. Livraria Rural, Campinas. p.175-265, 2001.

LOPES, A. S. **Estudo químico e nutricional de amêndoas de cacau (Theobroma cacao L.) e cupuaçu (Theobroma grandiflorum Schum) em função do processamento.** Campinas. Dissertação (Mestre em Tecnologia de Alimentos). Faculdade de Engenharia de Alimentos. Universidade Estadual de Campinas. Campinas, SP. p.130, 2000.

LOPES, U. V.; MONTEIRO, W. R.; PIRES, J. L.; CLEMENT, D.; YAMADA, M. M.; GRAMACHO, K. P. Cacao breeding in Bahia, Brazil - strategies and results. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, v. 1, p. 73-81, 2011.

LOPEZ, A.S.; MCDONALD, C.R. A definition of descriptors to be used for the quantification of chocolate flavours in organoleptic testing. **Revista Theobroma**. 11: 209-217. 1981.

LOPEZ, A.P.; DIMICK, P.S. Cap. 25: Enzymes involved in cocoa curing In: *Food Enzymology Vol.2*. Elsevier Applied Science. p. 211-236,1991.

GOMES, A. de S.; PIRES, M. M.; FREIRE, C. R. F.. A crise da atividade cacauera e a agroindústria do cacau no Estado da Bahia, Brasil. **Asociación Latinoamericana de Sociología**. Disponível em: <http://www.alasru.org/>. Acesso em 10 de agosto de 2010.

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, 273-281, 1998.

HANSEN, C. E.;DEL OLMO, M.; BURRI,C. Comparison of enzyme activities involved in flavour precursor formation in unfermented beans of different cocoa genotypes. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 80, p. 1193-1198, 2000.

ICCO International Cocoa Organization), Produção Mundial de cacau. Disponível em: <http://www.icco.org/>. Acesso em 16 de outubro de 2011.

KIM, H., & KEENEY, P.G. (-)Epicatechin content in fermented and unfermented cocoa beans. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 49, p.1090-1092, 1984.

KLEINERT, J. Cleaning, roasting and winnowing. In: BECKETT, S.T. Industrial chocolate manufacture and use. London: Blackie Academic e Professional, p. 55-69, 1994.

LAGUNES-GALVEZ, S., LOISEAU, G., PAREDES, J. L., BAREL, M., & GUIRAUD, J. P.. Study on the microflora and biochemistry of cocoa fermentation in the Dominican Republic. **International Journal of Food Microbiology**. p. 124–130, 2007.

LAJUS, B. **Estudo de alguns aspectos da tecnologia do cacau**. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo- SP, 1982.

LEHRMAN D. W. ; PATTERSON G. R., Cocoa fermentation, in **Biotechnology, a Comprehensive Treatise**,. vol. 5, 529–575, 1983.

LOPES, A.S. **Estudo químico e nutricional de amêndoas de cacau (Theobroma cacao L.) e cupuaçu (Theobroma grandiflorum S.) em função do processamento**. Campinas, 2000. 112p. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Engenharia de Alimentos. Universidade Estadual de Campinas, 2000.

LOPES, U. V.; MONTEIRO, W. R.; PIRES, J. L.; CLEMENT, D.; YAMADA, M. M.; GRAMACHO, K. P. Cacao breeding in Bahia, Brazil - strategies and results. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 1, p. 73-81, 2011.

LOPEZ, A. S.; MCDONALD, C. R. Preliminary test of a simple and inexpensive system for the mechanical aeration of box-type cacao fermentation. *Revista Theobroma*, v.12, n.2, p. 57-83, 1982.

LOPEZ, A. S. Chemical changes occurring during the processing of cacao. In: **Symposium Cacao Biotechnology**. Proceedings... University Park: The Pennsylvania State University, Pennsylvania, p.19-54, 1986.

LOPEZ, A.P.; DIMICK, P.S. Cap. 25: Enzymes involved in cocoa curing. In: **Food Enzymology**. Elsevier Applied Science, vol 2, p. 211-236, 1991.

LUZ, E.D.M.N., BEZERRA, J.L., RESENDE, M.L.V. ;OLIVEIRA, M.L. Doenças do cacauzeiro. In: Ribeiro do Vale, F.X. & Zambolim, L. (Eds.) **Controle de doenças de plantas**. Brasília DF. Ministério da Agricultura e do Abastecimento, p. 611-656, 1997.

LUZ, E.D.M.N. ; SILVA, S.D.V.M. Podridão-parda dos frutos, cancro e outras doenças causadas por *Phytophthora* no cacau. In: Luz, E.D.M.N., Santos, A.F., Matsuoka, K. & Bezerra, J.L. (Eds.). Doenças Causadas por *Phytophthora* no Brasil. Livraria Rural, Campinas. P.175-265, 2001.

LUCCAS, V. **Fracionamento térmico e obtenção de gorduras de cupuaçu alternativas a manteiga de cacau para uso na fabricação de chocolate.** Tese (Doutorado em Engenharia Química). Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas – SP, p188, 2001.

MANDARINO, E. P.; SENA GOMES, A. R. Produtividade do cacau (*Theobroma cacao* L.) cultivados em blocos monoclonais, no sul da Bahia, Brasil. Ilhéus, CEPLAC/CEPEC. Boletim Técnico nº 197. 32p, 2009.

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 1b in peripheral blood mononuclear cells. *Life Sciences*, v. 66, n. 15, p.1377-1386, 2000.

MARTINI, M. H. **Caracterização das sementes de seis espécies de *Theobroma* em relação ao *Theobroma cacao* L.** 2004. Tese (Doutorado em Alimentos e Nutrição). Faculdade de Engenharia de Alimentos. Universidade Estadual de Campinas. Campinas – SP, 2004.

MATTIETO, R.A. **Estudo das transformações estruturais e físico-químicas durante o processo fermentativo em amêndoas de cacau (*Theobroma cacao* L.) e cupuaçu (*Theobroma grandiflorum* Schum).** Dissertação (Mestre em Tecnologia de Alimentos)- Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas. Campinas-SP, 2001.

MCKIM, W.A. *Drugs and Behavior: An Introduction to Behavioral Pharmacology*, Prentice Hall. New York, 1997.

MEINHARDT, L. W.; RINCONES, J.; BAILEY, B. A.; AIME, M. C.; GRIFFITH, G. W.; ZHANG, D.; PEREIRA, G. A. G. *Moniliophthora perniciosa*, the causal agent of witches' broom disease of cacao: what's new from this old foe? *Molecular Plant Pathology*, v. 9, n. 5, 577–588, 2008.

MEDEIROS, A.G. Sporulation of *Phytophthora palmivora* (Butl.) Butl. in relation to epidemiology and chemical control of black pod disease. (PhD. Thesis). Riverside.University of California.1977.

MELO, G. R. P. **Diversidade genética de isolados de *Crinipellis perniciosa* (Stahel) Singer, coletados na região sul da Bahia, com base em marcadores moleculares RAPD.** Monografia (Especialização Biologia Molecular). Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Santa Cruz. Ilhéus - Bahia, 2000.

MEINHARDT, L.W. et al. *Moniliophthora perniciosa*, the causal agent of witches' broom disease of cacao: What's new from this old foe? *Molecular Plant Pathology*. v. 9, n. 5, p. 577-588. 2008.

MOTAMAYOR, J.C.; RISTERUCCI A. M.; LOPEZ P. A.; ORTIZ, C. F.; MORENO A.; LANAUD C. Cacao domestication I: the origin of the cacao cultivated by the Mayas. *Heredity*, London, v. 89, p. 380-386, 2003.

MOTAMAYOR JC, LACHENAUD P, MOTA J.W.S., LOOR R, KUHN D. N., BROWN J. S.; SCHNELL R.J. (2008) Geographic and genetic population differentiation of the Amazonian chocolate tree (*Theobroma cacao* L). p 1-8, 2008.

NASCIMENTO, H. S. S. O. **Melhoria do aroma de chocolate, por tratamento enzimático, em amêndoas de cacau de baixa qualidade**. 2010. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia). Universidade Estadual de Feira de Santana. Feira de Santana-BA, 2010.

NDUKWU, M.C., 2009. Effect of drying temperature and drying air velocity on the drying rate and drying constant of cocoa bean. *Agr. Eng. Int.: CIGR E J.*, Manuscript. v.11, 2009.

NAZARUDDIN, R. et al. HPLC Determination of methylxanthines and polyphenols levels in cocoa and chocolate products. *Malaysian Journal Analytical Science*, Selangor, v. 7, n. 2, p. 377-386, 2001.

NEHLIG, A.; DAVAL, J.L. & DEBRY, G. Caffeine and the central nervous system: mechanisms of action, biochemical, metabolic and psychostimulant effects. *Brain Research Review*, Amsterdam, n.17, p.139–170, 1992

OETTERER, M.; REGITANO-D'ARCE, M.A.B.; SPOTO, M.H.F. **Fundamentos de ciência e tecnologia de alimentos**. Barueri, SP: Manole, p.612, 2006.

PEREGO, P., FABIANO, B., CAVICCHIOLI, M. E DEL BORGHI, M. Cocoa quality and processing: a study by solid-phase microextraction and gas chromatography analysis of methylpyrazines. *Food and Bioproducts Processing*, 84(C4): p.291–297, 2004.

PEREIRA, A. B. Melhoramento clonal. In: DIAS, L.A.S. Melhoramento genético do cacau. *Folha de Vicososa*. p. 362-384, 2001.

PEREIRA, J. L. M. et al. Primeira ocorrência de vassoura-de-bruxa na principal região produtora de cacau do Brasil. *Agrotropica*, v. 1, n. 1, p. 79-81, 1991.

PINHEIRO, A. A. F. Estudos de inibição e modelagem por homologia da enzima beta(1,3)-d-glicano sintase de *Moniliophthora perniciosa*. 2011. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, p.16, 2011.

PINTO, L. R. M.; PIRES, J. L. Seleção de plantas de cacau resistentes à vassoura de bruxa. CEPLAC/CEPEC. Boletim Técnico n. 181, 35p. 1998.

PIRES, J.L. **Avaliação quantitativa e molecular de germoplasma para o melhoramento de cacau com ênfase na produtividade, qualidade dos frutos e resistência à doenças.** 226p. 2003. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2003.

PONTILLON, J. Do cacau ao tablete. **A Ciência na cozinha**, São Paulo, v. 1, p. 62-71, 2009.

PORTER, L.J., MA, Z.; CHAN, B.G. Cacao procyanidins: major flavanoids and identification of some minor metabolites. *Phytochemistry*, New York, v. 30, p.1657-1663, 1991.

POSSIGNOLO, A. A. **Perfil protéico de sementes de acessos de cacau no desenvolvimento do sabor de chocolate.** 2010. Dissertação (Mestrado em Ciências). Universidade de São Paulo. Centro de Energia Nuclear na Agricultura. Piracicaba – SP, p.116, 2010.

QUAST, L. B. **Efeito da adição de gorduras alternativas na cristalização da manteiga de cacau.** Tese (Doutorado em Engenharia Química), Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Química, Campinas, SP. p.127, 2008..

QUESNEL V.C. Chloroform-extractable aromatic acids of cacao. **J Sci Food Agric** 16: p.596–599, 1965.

RAM. A. Manejo integrado para o controle da vassoura-de-bruxa e recuperação de cacauzeiros. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 18, p.260, 1993.

REINECCIUS, G.. Sabor chemistry and technology. Boca Raton: Taylor Francis, p. 489, 2006.

RICHELLE M; TAVAZZI I; ENSLEN M; OFFORD E A. Plasma kinetics in man of epicatechin from black chocolate. **Eur J Clin Nutr**; v. 53, p. 22–6, 1999.

RINCONES J. ; MAZOTTI, G. D.; GRIFFITH G. W.; POMELA A.. ; FIGUEIRA A.; LEAL A. G. ; QUEIROZ M. V.; PEREIRA J. F.; AZEVEDO R. A , PEREIRA G. A. G.; MEINHARDT, L. W. Genetic variability and chromosome-length polymorphisms of the witches' broom pathogen *Crinipellis pernicioso* from various plant hosts in South America. **Mycological Research**, v. 11, p. 821-832, 2006.

ROSA, I. de S. 1998. Enxertia do cacauzeiro. Ilhéus. CEPLAC/SUBES/ CEPEC. 42p.

ROZIN, P.; LEVINE, E. & STOESS, C. Chocolate craving and liking. *Appetite*, London, n.17, p. 177–185, 1991.

ROHAN, T. A.; CONNELL, M. The precursors of chocolate aroma: A study of the flavonoids and phenolic acids. *Journal of Food Science*, v. 29, n. 4, p. 460-463, 1964.

ROHAN, T. A.; STEWART, T. The precursors of chocolate aroma: production of free amino acids during fermentation of cocoa beans. ***Journal of Food Science, Champaign***, v. 32, p. 395-398, 1967.

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. ***Agrotópica***, v. 2, n. 1, p. 22- 31, 1990.

SANBONGI, C. et al. Antioxidative polyphenols isolated from *Theobroma cacao*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Easton, v. 46, n. 2, p. 454-457, 1998.

SANCHEZ-RABANEDA, O.; JAUREGUI, I.; CASALS, C.; ANDRES-LACUEYA, C.; IZQUIERDO-PULIDO, M.; LAMUELA-RAVENTOS, R.M. Liquid chromatographic/electrospray ionization tandem mass spectrometric study of the phenolic composition of cocoa (*Theobroma cacao*). ***Journal of Mass Spectrometry***, n.38, p.35-42, 2003.

SCHWAN, R. F.; WHEALS, A. E. The microbiology of cocoa fermentation and its role in chocolate quality. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, Boca Raton, v. 44, n. 4, p. 205-221, 2004.

SERRA, W. S. Manual do Cacaucultor: com perguntas e respostas. p177-207, 2004.

SHAUGHNESSY, W.J. Cocoa beans – plant through fermentation – its effect on sabor. ***The Manufacturing Confectioner***, v. 72, n. 11, p. 51-58, 1992.

SILVA, S. D. V. M. et al. Resistência do cacauzeiro a *Crinipellis pernicioso*: produção de basidiomas outra variável para avaliação. ***Fitopatologia Brasileira***, Fortaleza – Ceará, v. 27, p.167, 2002.

SILVA, J. R. Q.; FIGUEIRA, G. A. G.; ALBUQUERQUE, P. Development of novel microsatellites from *Moniliophthorapernicioso*, causal agent of the witches' broom disease of *Theobroma cacao*. ***Molecular Ecology Resources***, 2007.

SOARES, M. S. **Estudo do melhoramento do sabor de cacau (*Theobroma cacao* L.) através da ação enzimática durante a fermentação**. Dissertação (Mestre em Tecnologia de Alimentos). Faculdade de Engenharia de Alimentos. Universidade Estadual de Campinas. Campinas – SP, 2001.

SOUZA, A. S. L. **Avaliação da estabilidade térmica e oxidativa de chocolates amargos**. 2010. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia

de Alimentos), Universidade Federal da Paraíba. João Pessoa – PB, p.110, 2010.

TAYLOR, A. J. Food flavour technology. Sheffield, UK: Sheffield Academic Press, 2002.

TAYLOR A.J.; ROBERTS D.D. Sabor Perception. Blackwell Publishing. Wiley-Blackwell , 2004.

TUCCI, M.L.S. **Seleção de genótipos para produção de manteiga de cacau no Vale do Ribeira, São Paulo, Brasil.** Dissertação (Mestrado). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Universidade de São Paulo, Piracicaba, p.120. 1997.

URBANSKI, J.J. Chocolate sabor/origins and descriptions. The effects of process and bean source. *Manufacturing Confectioner*, Chicago, n.72, p.69-82, 1992.

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

VOIGT, J.; BIEHL, B.; KAMARUDDIN, S.; In-vitro formation of cocoa-specific aroma precursors: Aroma-related peptides generated from cocoa-seed protein by co-operation of an aspartic endoprotease and a carboxypeptidase. **Food Chemistry**, Barking, v. 49, p. 173–180, 1994.

VOIGT, J.; BIEHL, B. Developmental stage-dependent variation of the levels of globular storage protein and aspartic endoprotease during ripening and germination of Theobroma cacao L. seeds. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 145, p. 299-307, 1995.

VISSOTTO, F.Z.; LUCCAS, V.; BRAGAGNOLO, N.; TURATTI, J.M.; GRIMALDI, R.; FIGUEIREDO, M.S. Caracterização físico-química de chocolates comerciais elaborados com gorduras alternativas. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 21, n. 2, p. 139- 148, 1999.

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

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 em Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1994.

TAYLOR, A. J. Food flavour technology. Sheffield, UK: Sheffield Academic Press, 2002.

TAYLOR A.J.; ROBERTS D.D. Sabor Perception. Blackwell Publishing. Wiley-Blackwell , 2004.

TUCCI, M.L.S. **Seleção de genótipos para produção de manteiga de cacau no Vale do Ribeira, São Paulo, Brasil.** Dissertação (Mestrado). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Universidade de São Paulo, Piracicaba, p.120. 1997.

URBANSKI, J.J. Chocolate sabor/origins and descriptions. The effects of process and bean source. *Manufacturing Confectioner*, Chicago, n.72, p.69-82, 1992.

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

VOIGT, J.; BIEHL, B.; KAMARUDDIN, S.; In-vitro formation of cocoa-specific aroma precursors: Aroma-related peptides generated from cocoa-seed protein by co-operation of an aspartic endoprotease and a carboxypeptidase. **Food Chemistry**, Barking, v. 49, p. 173–180, 1994.

VOIGT, J.; BIEHL, B. Developmental stage-dependent variation of the levels of globular storage protein and aspartic endoprotease during ripening and germination of Theobroma cacao L. seeds. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 145, p. 299-307, 1995.

VISSOTTO, F.Z.; LUCCAS, V.; BRAGAGNOLO, N.; TURATTI, J.M.; GRIMALDI, R.; FIGUEIREDO, M.S. Caracterização físico-química de chocolates comerciais elaborados com gorduras alternativas. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 21, n. 2, p. 139- 148, 1999.

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

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 em Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1994.

## CAPÍTULO 2

### CARACTERIZAÇÃO DAS AMENDOAS DE CACAU PROVENIENTES DE VARIEDADES RESISTENTES A VASSOURA DE BRUXA

#### RESUMO

A doença vassoura-de-bruxa, causada pelo fungo *Moniliophthora perniciosa*, reduziu drasticamente a produção de cacau no Sul da Bahia. O genótipo influencia diretamente na qualidade das amêndoas, pois possivelmente tem uma contribuição nos precursores do sabor e aroma do chocolate. Outros fatores como manejo agrônômico, características edafoclimáticas e tecnologia pós-colheita, também contribuem na formação do sabor. A utilização de clones autocompatíveis e manejados em blocos monoclonais é recomendada aos cacauicultores como a principal alternativa na recuperação da lavoura cacauaieira. Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi caracterizar e monitorar as etapas de fermentação e secagem de duas variedades de cacau, resistentes à vassoura de bruxa e o cacau convencional, susceptível à doença, produzidos na região Sul da Bahia. Foram realizadas análises física, físico-químicas e químicas para a caracterização das amostras de cacau. Os resultados encontrados nas análises físico-químicas das sementes e amêndoas de cacau (umidade, pH, acidez titulável em ácido acético, atividade de água, cinzas, proteínas e lipídios) para as variedades resistentes foram próximos aos encontrados para a amostra do cacau convencional. Quanto aos teores de compostos fenólicos analisados, a epicatequina mostrou-se predominante nas amostras das sementes e amêndoas de cacau, seguido da catequina, ácido gálico, e com menor quantidade o ácido cafeico. Na análise de metilxantinas verificou-se como esperado, que o teor de teobromina é superior ao de cafeína nas três amostras.

**Palavras-chave:** cacau, fermentação, vassoura de bruxa.

## ABSTRACT

The witches' broom disease, caused by the fungus *Moniliophthora perniciosa*, drastically reduced the production of cocoa in southern Bahia. The genotype directly influences the quality of the beans as possible precursors that contribute to the flavor and aroma of chocolate. Other factors such as agronomic management, soil and climatic characteristics and post-harvest technology, also contribute to the formation of flavor. The use of clones self-compatible and managed in monoclonal blocks are recommended for cacao farmers as the main alternative in recovering the cocoa crop. In this sense, the objective of this study was to characterize and monitor two cocoa varieties resistant to witches' broom and conventional cocoa, susceptible to the disease produced in southern Bahia. Analyses were carried out physical, physico-chemical and chemical characterization of samples of cocoa. The findings of the physical-chemical properties of seeds and cocoa beans (moisture, pH, titratable acidity, acetic acid, water activity, ash, proteins and lipids) for resistant strains were similar to those found for the sample of conventional cocoa. As for the contents of phenolic compounds epicatechin was shown to be prevalent in samples of seeds and cocoa beans, followed by catechin, gallic acid, and caffeic acid less. In the analysis of methylxanthines was found that the level of theobromine the caffeine is superior to the three samples.

**Keywords:** fermentation, cocoa, witches' broom.

## 1. INTRODUÇÃO

O cacau (*Theobroma cacao* L.) é uma cultura perene, originária da floresta Amazônica da América do Sul. Seu produto, o cacau ou sementes, é o ingrediente principal na produção de chocolate e de seus derivados. Sendo um componente importante da economia de muitos países (LOPES et al, 2011).

O cacau, até recentemente, era considerado como pertencendo à família *Sterculiaceae*, mas foi sugerido a fazer parte da família *Malvaceae* (APG II, 2003). O gênero *Theobroma* compreende 22 espécies (CUATRECASAS, 1964). A estrutura da diversidade genética do cacau é bastante estudada, não apenas utilizando características fenotípicas (BARTLEY, 2005), mas também por meio de marcadores moleculares (MARITA et al. 2001, MOTAMAYOR et al. 2008). Existem três grandes populações de cacau, o *Forastero* da região amazônica, sendo muito diversa e rica em genes de resistência a doenças, com um bom rendimento e algum grau de qualidade, os *Criollos* da Europa Central e América do Norte (México) é geralmente caracterizado pelo seu excelente sabor, e o Trinitário que é um resultado do cruzamento natural das duas populações originais. Além disso, dentro destas populações principais existem vários subpopulações. Recentemente, com base em marcadores moleculares, Motamayor et al. (2008) sugeriram 10 populações ao invés das três citadas.

O pré-processamento de cacau, está direcionado a obtenção de amêndoa de cacau de qualidade, ponto primordial para obtenção do sabor do chocolate. A principal razão da grande demanda mundial do cacau está relacionada ao *sabor* que é desenvolvido pelo processo conjunto de pré-processamento e fabricação. A semente de cacau não fermentada é extremamente amarga e adstringente. A fermentação é, por conseguinte, essencial na preparação das amêndoas de cacau para a obtenção dos produtos derivados existentes no mercado e está associada às mudanças que acontecem no interior da semente de cacau durante esta etapa (SENANAYAKE et al, 1996).

Segundo Minifie (1989), a fermentação e a secagem das sementes de cacau são de vital importância, sendo que nenhum outro processamento posterior é capaz de corrigir falhas nesta etapa. No processo de fermentação, as condições da

massa a fermentar tais como: 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 (ROHAM e CONNEL, 1964; LOPEZ e QUESNEL, 1973). Os sistemas mais comuns para fermentação são: montes, caixas, cestos, sacos de lona, gavetas de madeira, etc.

A produção de *sabor* é importante nas características organolépticas, sendo uma grande parte desenvolvida durante as fases de maturação do fruto, fermentação e secagem da amêndoa do cacau. São conhecidos dois grupos básicos de compostos que influenciam essencialmente esse parâmetro. O primeiro grupo consiste de peptídeos e aminoácidos. Essas substâncias são formadas pela hidrólise enzimática de proteínas durante o processo de fermentação e reações posteriores com açúcares redutores na etapa de torração da amêndoa de cacau, gerando o *sabor* típico de chocolate (VOIGT et al., 1994).

Os outros componentes que contribuem para o *sabor* do cacau são os polifenóis, que também têm recebido muita atenção devido a sua capacidade antioxidante e suas possíveis implicações benéficas à saúde humana, tais como no tratamento e prevenção do câncer, doenças cardiovasculares e outras patologias (WOLLGAST e ANKLAM, 2000). Essas substâncias são as principais responsáveis pelo desenvolvimento de sabor adstringente e amargo em amêndoas de cacau, seguidas de alcalóides, alguns aminoácidos, peptídeos e pirazinas (BONVEHI e COLL, 2000).

Cada variedade de cacau tem um sabor único. Condições de crescimento da planta, clima, tempo, exposição à luz do sol, as chuvas, condições do solo, época de maturação, de colheita, e o tempo entre a colheita e a fermentação das sementes, são fatores que contribuem para variações na formação de sabor final (AFOAKWA, 2010).

Com a incidência da doença denominada vassoura-de-bruxa, causada pelo fungo *Moniliophthora perniciosa*, a maior região produtora de cacau do Brasil, sul da Bahia, vem utilizando técnicas de clonagem de cacauzeiros que apresentem resistência ao fungo. Essa prática tem se mostrado uma das formas mais eficientes de combate à doença (PIRES, 2003; OLIVEIRA e LUZ, 2005).

O Sul da Bahia produz hoje 95% do cacau brasileiro, ficando o Espírito Santo com 3,5% e a Amazônia em 1,5%. Cerca de 90% de todo o cacau brasileiro é exportado. No período 1975/1980, o tempo áureo do chamado fruto de ouro, sendo o Brasil o maior produtor mundial, o cacau gerou três bilhões e 618 milhões de dólares (CEPLAC, 2010).

Apesar de tantos problemas oriundos da vassoura-de-bruxa, a cacauicultura brasileira fechou o ano de 2010 com dois resultados extraordinários. Um importante resultado de produção e outro de qualidade. A produção nacional superou a marca das 220 mil toneladas, com aumento de 45% em relação ao ano de 2009, o que coloca o Brasil em 5º lugar, um ponto acima no ranking mundial da produção. Em termos de qualidade, o cacau do Brasil saiu vitorioso no Salão do Chocolate de Paris no ano de 2011 com sete amostras classificadas entre as 50 melhores do mundo, ganhando o título de Cacau de Excelência como melhor cacau da América Latina, na categoria Cacau Chocolate (CEPLAC, 2011). Isto se deve ao trabalho desenvolvido pela CEPLAC, cacauicultores, e órgãos de pesquisa, na busca incessante por variedades mais resistentes à vassoura-de-bruxa, e o investimento em novas técnicas no pré-processamento do cacau, despertando novas tendências e um novo pensar para a cacauicultura brasileira.

Assim, o presente trabalho teve como objetivo monitorar e caracterizar as etapas de fermentação e secagem das sementes e amêndoas de duas variedades de cacau resistentes à vassoura de bruxa e uma amostra de cacau convencional, susceptível à doença, produzidas na região Sul da Bahia.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Material Vegetal

Foram utilizados frutos de duas variedades de cacauzeiros auto-compatíveis e selecionados pela alta produtividade e resistência à vassoura-de-bruxa, produzidos na fazenda Lajedo do Ouro no município de Ibirataia-BA. O cacau convencional, também, produzido nesta região, foi utilizado como padrão para comparações. As variedades PH16 e SR162 são cultivadas em blocos monoclonais (figura 1), em função de requerimentos varietais, principalmente de solo, topografia, gradiente de umidade e luz, formas de minimizar também os problemas causados pela vassoura-de-bruxa.

- O cacau convencional é plantado há décadas pelos produtores da região cacauzeira baiana, considerado material de alta produtividade e alta qualidade de frutos, porém, não resistente às doenças, como a vassoura-de-bruxa, contendo mistura de sementes sadias e doentes das variedades Pará, Parazinho e Maranhão todas pertencentes ao grupo *Forastero*.
- O PH 16 é uma variedade proveniente da seleção feita em área comercial. Não tem progenitores conhecidos, a planta foi originalmente identificada em 1996 da população de cacauzeiros híbridos (provenientes de cruzamentos interclonais entre cacauzeiros dos grupos Amazônico e Trinitário) da Fazenda Porto Híbrido, no município de São José da Vitória, BA.
- O SR162 é uma variedade proveniente da mutação genética do cacau comum (grupo Alto Amazônico), apresentando sementes brancas. Recebeu esse nome pois foi identificado na Fazenda São Roque em Itagibá, BA.

Esses frutos foram colhidos maduros e partidos 3 dias após a colheita. A Figura 1 apresenta os frutos das variedades estudadas.



**Figura 1.** Blocos monoclonais.



PH16



SR162

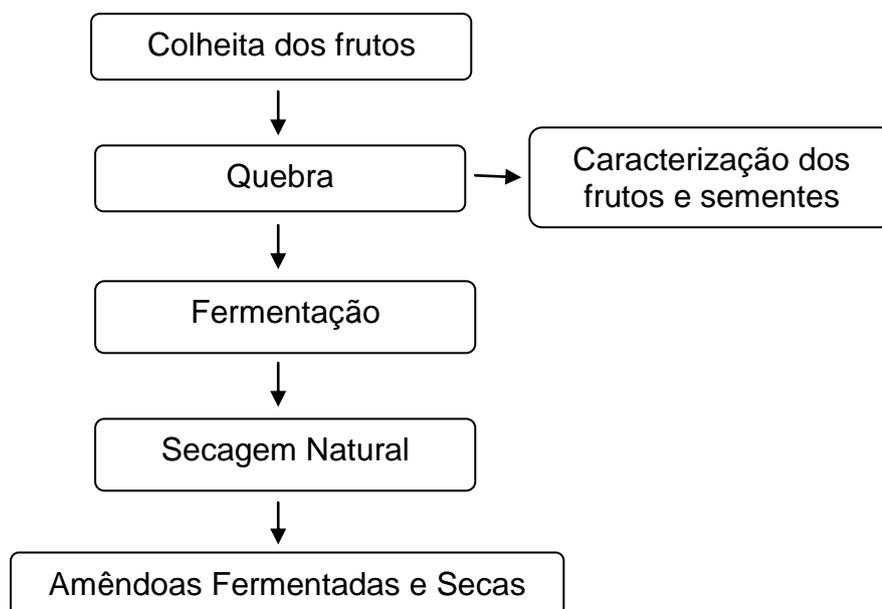


CONVENCIONAL

**Figura 2.** Frutos das três variedades estudadas.

## 2.2 Processamentos das Amostras

A Figura 3 apresenta o fluxograma dos processamentos dos frutos do cacaueteiro até a secagem natural.



**Figura 3.** Fluxograma do processamento das três variedades

## 2.3 Caracterização dos frutos e sementes das variedades

Foram determinados individualmente: a massa dos frutos, das cascas, das sementes e da placenta com balança semi analítica Mark S Modelo S622 bem como o número de sementes por fruto e o comprimento, a largura e a espessura das sementes frescas, realizadas com paquímetro VONDER 150 mm/6". As determinações foram realizadas em 10 frutos de cada material estudado.

## 2.4 Fermentação e Secagem

A fermentação foi realizada baseando-se nas condições da fazenda. Em cochos de madeira com dimensões 70 X 70 X 75 cm em duplicata para cada material, totalizando uma massa 400kg em cada cocho. O fundo e as laterais inferiores dos compartimentos apresentavam 20 furos de 1,27cm para escoamento da polpa liquefeita pelo processo fermentativo (Figura 4).

Foram realizados revolvimentos para oxigenação e homogeneização do processo fermentativo a partir de 48 h do início da fermentação e a cada decréscimo de temperatura até o término da etapa. Para cobertura da massa de fermentação foram utilizadas folhas de bananeira. Posteriormente, as amêndoas foram secas ao sol em superfícies de madeira com teto móvel durante 5 dias até umidade de 8,0% (Figura 5), apresentando uma altura das amêndoas sobrepostas na superfície de secagem de aproximadamente 3 cm.



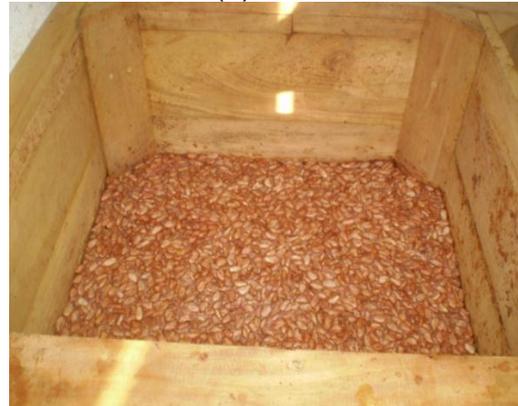
(a)



(b)



(c)



(d)



(e)



(f)



(g)

**Figura 4.** Casa de fermentação (a), cochos de madeira (b), cobertura de folhas de bananeira (c), massa fermentada (d), PH16 (e), SR162 (f) e Convencional (g)



**Figura 5.** Secagem natural ao sol, em barcaças

### **2.4.1 Avaliação do processo fermentativo**

Ao início da fermentação determinou-se o teor de sólidos solúveis da polpa (°Brix) de cada material com refratômetro portátil INSTRUTHERM, modelo RT-30 ATC (0-32%), no decorrer desta etapa, foram tomadas, diariamente a cada 12 horas, medidas de temperatura por imersão, com um termômetro digital MINIPA, modelo MT-450, pH, com pHmetro digital portátil, marca PHtek e acidez titulável determinada de acordo com INSTITUTO ADOLFO LUTZ (2008).

A cada 12 horas foram coletadas amostras dos materiais as quais foram determinadas as seguintes análises:

#### **2.4.1.1. Umidade**

O teor de umidade foi determinado por gravimetria, utilizando estufa com circulação de ar a temperatura de 105°C até peso constante de acordo com o INSTITUTO ADOLFO LUTZ (2008).

#### **2.4.1.2. Acidez titulável**

A acidez titulável foi determinada através da titulação com NaOH 0,1M, de acordo com o INSTITUTO ADOLFO LUTZ (2008).

#### **2.4.1.3. Atividade de água**

A atividade de água foi determinada através da quantificação da fugacidade de água através da constante dielétrica em equipamento AQUALAB Lite, com exatidão  $\pm 0,015$  e resolução 0,001.

#### **2.4.1.4. pH**

A análise de pH foi feita através de leitura direta em pHmetro digital PHTEK de acordo com as instruções do INSTITUTO ADOLFO LUTZ (2008).

#### **2.4.1.5. Cinzas**

O teor de cinzas foi determinado de acordo com o INSTITUTO ADOLFO LUTZ (2008), usando forno mufla a 550°C.

#### **2.4.1.6. Proteínas**

A determinação de proteínas foi realizada através do método de micro-Kjeldahl, segundo o INSTITUTO ADOLFO LUTZ (2008).

#### **2.4.1.7. Lipídios**

Os lipídios totais foram extraídos de acordo com o INSTITUTO ADOLFO LUTZ (2008), com refluxo de éter etílico por 48 horas para maior eficiência na extração da gordura, em uma bateria de extração Soxhlet.

#### **2.4.1.8. Identificação e quantificação dos ácidos orgânicos**

As determinações dos ácidos orgânicos (oxálico, láctico e acético) foi realizada de acordo com o procedimento estabelecido pelo Jinap e Dimick (1990). Foram pesadas 5g de amêndoas de cacau e misturadas com 25 mL de água deionizada, logo após foi homogeneizada no vórtex durante 20 segundos e centrifugada (BioResearch, centrífuga 5702R) a 8000 × g durante 45 min a 25 ° C. Foi retirado do sobrenadante 10 ml, que foi ajustado para o pH 8-9 com solução 5N de NH<sub>4</sub>OH. Desta solução foram retirados 2 mL que foram aplicados a uma coluna (seringa de 5ml) contendo 2 g de resina aniônica da Sigma Dowex 1X8 Ion Exchange Resin chloride form, 100-200 mesh. A coluna foi eluída com água deionizada até se obter um volume final de 10 mL.

O eluato recolhido continha os compostos naturais. A solução de ácido sulfúrico solução (1ml a 10% v / v) foi adicionado à coluna e subsequentemente 25 mL de água deionizada foram passados através da coluna para se obter a fração dos ácidos. Antes da determinação por cromatografia líquida de alta eficiência

(CLAE), cada extrato foi filtrado através de uma membrana de 0,45 (Millipore ®) e em seguida analisado.

Para a CLAE, os solventes utilizados foram: 99% (v / v) de solvente (A); 0,02M de fosfato de sódio monobásico ajustada para pH 2 com ácido fosfórico e 1% (v / v) de acetonitrila (B). Dez microlitros de cada amostra foram analisadas por sistema CLAE (Perkin Elmer Model Flexar) equipado com injetor VI Flow, coluna C18 (100 mm x 4.6 mm O.D.S.-2, 3 µm). O fluxo foi de 0,3 ml/min em eluição isocrática. A absorbância da amostra eluída foi monitorizada a 210 nm. Todos os padrões utilizados para as determinações quantitativas foram Sigma-Algrich, St. Louis, MO.

Outras amostras foram congeladas e em seguida liofilizadas em liofilizador LIOTOP, modelo L108, para serem realizadas as seguintes análises posteriormente:

#### **2.4.1.9. Taninos totais**

Os taninos foram determinados espectrofotometricamente pelo método da Vanilina-HCl como descrito por Price *et al* (1977), utilizando a catequina como padrão.

#### **2.4.1.10. Fenólicos totais**

As amostras de cacau foram trituradas e desengorduradas com éter de petróleo na proporção 1:10 (amostra:solvente) durante 30 minutos por três vezes de acordo com Fantozzi e Montedoro (1978). A quantificação de compostos fenólicos foi realizada por Folin-Ciocalteu, método que envolve a redução do reagente pelos compostos fenólicos das amostras com concomitante formação de um complexo azul cuja intensidade aumenta linearmente a 760 nm, conforme descrito por Gutfinger (1981).

Para a extração dos fenólicos, foram pesados 2,5 g de amostra desengordurada onde foram acrescentados 100 mL da mistura metanol:água (80:20). Os erlenmeyers vedados foram agitados em agitador tipo shaker por 1 hora, seguido de filtração. O extrato foi armazenado em frasco âmbar sob

atmosfera inerte (N<sub>2</sub>). A quantidade total de fenóis de cada extrato foi quantificada por meio de uma curva padrão preparada com catequina. Para a reação colorimétrica, uma alíquota de 0,1 mL da solução aquosa de extrato (concentração 10 mg.mL<sup>-1</sup>) foi adicionada de 0,5 mL de solução aquosa do reagente Folin-Ciocalteu e 1,0 mL de carbonato de sódio a 35%. A mistura foi incubada ao abrigo da luz durante 1 hora, posteriormente, a absorbância foi medida a 725 nm usando-se o branco como referência. A quantificação dos compostos fenólicos nos extratos das amostras foi realizada em triplicata.

#### 2.4.1.11. Identificação e quantificação dos compostos fenólicos e metilxantinas

As determinações dos compostos fenólicos monoméricos (ácido gálico, catequina, ácido cafeíco e epicatequina) foram realizadas de acordo com o método descrito por Elwers et al. (2009). Dez microlitros de cada amostra em solução metanólica foram analisadas por sistema CLAE (Perkin Elmer Model Flexar) equipado com injetor VI Flow, coluna C<sub>18</sub> (100 mm x 4.6 mm O.D.S.-2, 3 µm). Os solventes utilizados foram: (A): ácido acético 2% em água e (B): mistura de acetonitrila, água e ácido acético concentrado (400:90:10 v/v/v). A eluição feita em gradiente está mostrada na Tabela 1. Os componentes foram monitorados por detector UV no comprimento de onda de 280nm, o que facilitou a determinação simultânea de todos os analitos. O tempo total de execução da corrida foi de 20 minutos e a temperatura de 26°C. Todos os padrões utilizados para as determinações quantitativas foram Sigma-Algrich, St. Louis, MO.

**Tabela 1.** Gradiente utilizado para separação de compostos fenólicos e metilxantinas por HPLC.

Tempo (min)	Fluxo (mL.min <sup>-1</sup> )	A (%)	B (%)
2	0,4	90	10
3	0,3	88	12
3	0,4	86	14
2	0,4	84	16
2	0,5	82	18
10	0,5	90	10

## 2.4.2 Avaliação da qualidade das amêndoas fermentadas e secas

Para a classificação das amêndoas foi utilizada a Instrução Normativa 38/2008 (MAPA, 2008) descrita na Tabela 2 que define o padrão oficial de amêndoa de cacau, considerando seus requisitos de identidade e qualidade, amostragem, o modo de apresentação, marcação e rotulagem, nos aspectos referentes à classificação do produto.

**Tabela 2.** Regulamento Técnico da Amêndoa de Cacau: Instrução Normativa nº 38/ 2008.

Enquadramento do Produto	Defeitos					
	Mofadas	Fumaça	Danificadas por insetos	Ardósia	Germinadas	Achatadas
<b>Tipo 1</b>	De zero até 4,0%	De zero até 1,0%	De zero até 4,0%	De zero até 5,0%	De zero até 5,0%	De zero até 5,0%
<b>Tipo 2</b>	Acima de 4,0% até 6,0%	Acima de 1,0% até 4,0%	Acima de 4,0% até 6,0%	Acima de 5,0% até 10,0%	Acima de 5,0% até 6,0%	Acima de 5,0% até 6,0%
<b>Tipo 3</b>	Acima de 6,0% até 12,0%	Acima de 4,0% até 6,0%	Acima de 6,0% até 8,0%	Acima de 10,0% até 15,0%	Acima de 6,0% até 7,0%	Acima de 6,0% até 7,0%
<b>Fora do tipo</b>	Acima de 12,0% até 25,0%	Acima de 6,0%	Acima de 8,0%	Acima de 15,0%	Acima de 7,0%	Acima de 7,0%

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Caracterização física dos frutos e sementes

As Tabelas 3a e 3b apresentam os resultados da caracterização dos dez frutos dos materiais estudados e de suas sementes.

**Tabela 3a.** Caracterização física dos frutos e sementes das três variedades de cacau.

Variedades	Massa(g)			
	Fruto	Sementes	Casca	Placenta
<b>SR 162</b>	524,90±127,99 <sup>b</sup>	59,50±17,76 <sup>c</sup>	453,50±111,67 <sup>a</sup>	7,60±3,10 <sup>b</sup>
<b>PH16</b>	654,60±132,89 <sup>a</sup>	148,40±30,38 <sup>a</sup>	475,80±108,81 <sup>a</sup>	27,0±8,98 <sup>a</sup>
<b>Convenc.</b>	401,10±26,33 <sup>c</sup>	103,80±22,16 <sup>b</sup>	286,80±15,16 <sup>b</sup>	9,70±2,63 <sup>b</sup>

Resultados expressos como Média±Desvio padrão. Letras diferentes em uma mesma coluna indicam diferença significativa pelo teste Tukey em nível de 5% de confiança.

**Tabela 3b.** Continuação da caracterização física das sementes das variedades de cacau.

Variedades	Sementes				Teor de Sólidos Solúveis (°Brix)*
	Quantidade p/ fruto	Comp. (mm)	Largura (mm)	Espessura (mm)	
<b>SR 162</b>	30,6 0±7,92 <sup>b</sup>	24,54±1,77 <sup>a</sup>	11,31±1,07 <sup>b</sup>	9,14±0,54 <sup>a</sup>	16,12±1,77 <sup>a</sup>
<b>PH16</b>	42,70±9,07 <sup>a</sup>	23,90±2,24 <sup>a</sup>	14,28±0,77 <sup>a</sup>	9,57±0,97 <sup>a</sup>	17,47±0,75 <sup>a</sup>
<b>Convenc.</b>	42,20±6,81 <sup>a</sup>	24,54±1,83 <sup>a</sup>	13,45±1,69 <sup>a</sup>	8,12±0,75 <sup>b</sup>	17,00±0,92 <sup>a</sup>

\*valores corrigidos para 27°C. Resultados expressos como Média ± Desvio padrão. Letras diferentes em uma mesma coluna indicam diferença significativa pelo teste Tukey em nível de 5% de confiança.

De acordo com a Tabela 3a, não houve diferença significativa entre peso dos frutos e sementes das três variedades estudadas, já a casca não houve diferença entre o SR162 e o PH16, existindo diferença apenas com o Convencional, já a massa da placenta apenas diferiu para o PH16.

Na Tabela 3b, verifica-se que a quantidade de sementes por fruto e largura das sementes não apresentou diferença significativa entre o PH16 e o Convencional, quanto ao comprimento das sementes e o teor de °Brix não houve diferença entre as três variedades, para a espessura das sementes apenas o Convencional se diferiu das outras amostras.

Possivelmente essas características físicas das variedades estudadas podem exercer influência durante a fermentação e secagem, já que o tamanho e o número de sementes por frutos foram distintos, foi percebido que o PH16 teve um tempo maior durante a fermentação e o mesmo apresentou maiores rendimentos de polpa e sementes, seguidos pelo SR162 e por último o Convencional. Outro motivo que deve ser levado em consideração para o Convencional é a presença de sementes doentes o que levou há um aumento na temperatura de fermentação e conseqüentemente um tempo menor na realização do processo.

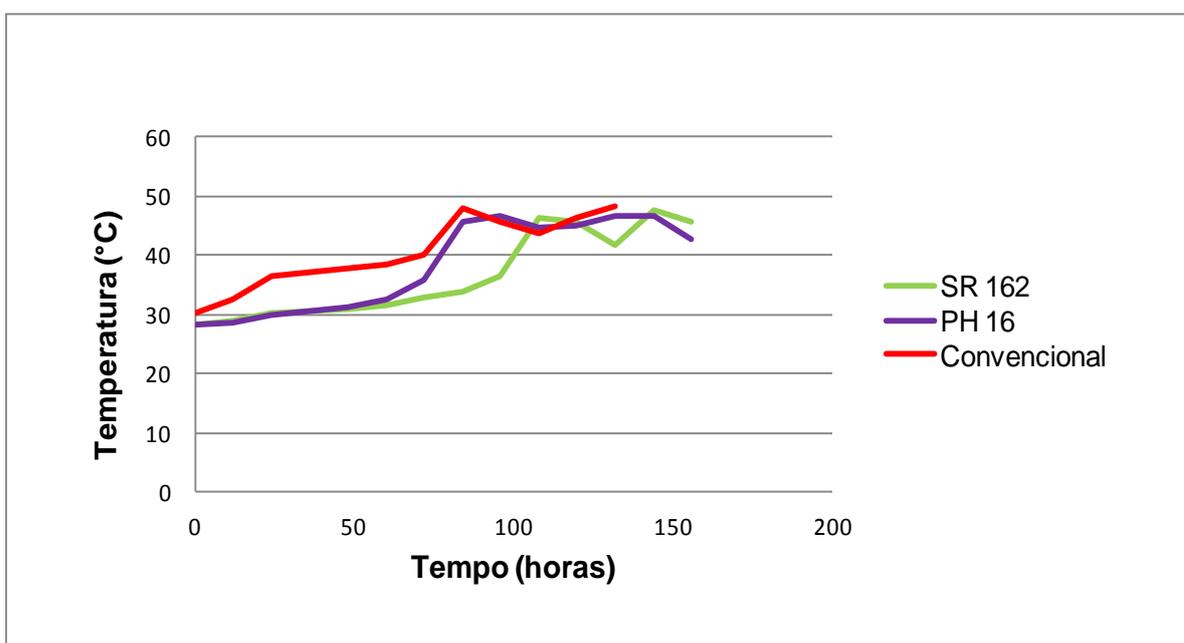
Verificou-se que o teor de sólidos solúveis da polpa dos diferentes materiais variou de 17,00 (variedade PH16) a 17,47 °Brix (variedade Convencional). Cabe destacar que o alto teor de açúcares e o baixo pH da polpa, associados à ausência de oxigênio, permitem que leveduras proliferam rapidamente no início da fermentação e transformem os açúcares em álcool e CO<sub>2</sub>, além de ativar enzimas pectinolíticas que hidrolisam os polissacarídeos presentes na polpa (THOMPSON et al., 2001).

As sementes de cacau, como qualquer material biológico, apresentam variações em suas características físicas, químicas e físico-químicas, dependendo das condições edafoclimáticas durante a maturação do fruto e também pós-colheita, inclusive nas etapas de fermentação e secagem (SHRIPAT et al., 1996).

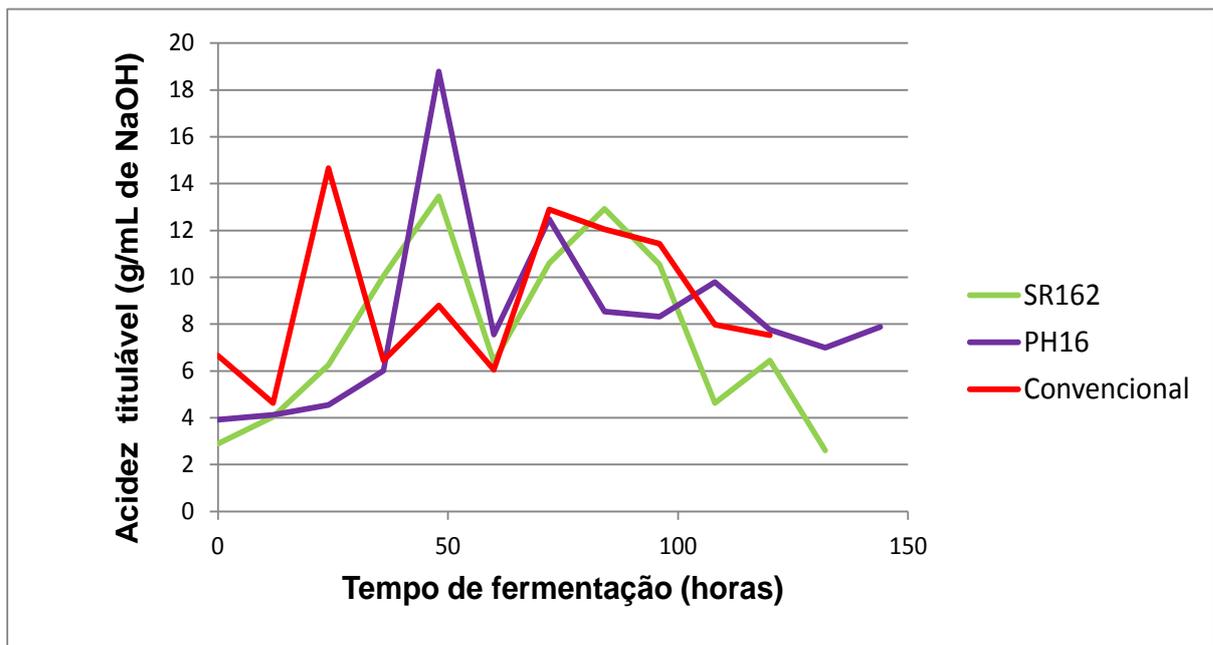
## 3.2. Processo fermentativo das variedades de cacau

### 3.2.1 Monitoramento da temperatura, pH e acidez titulável da fermentação

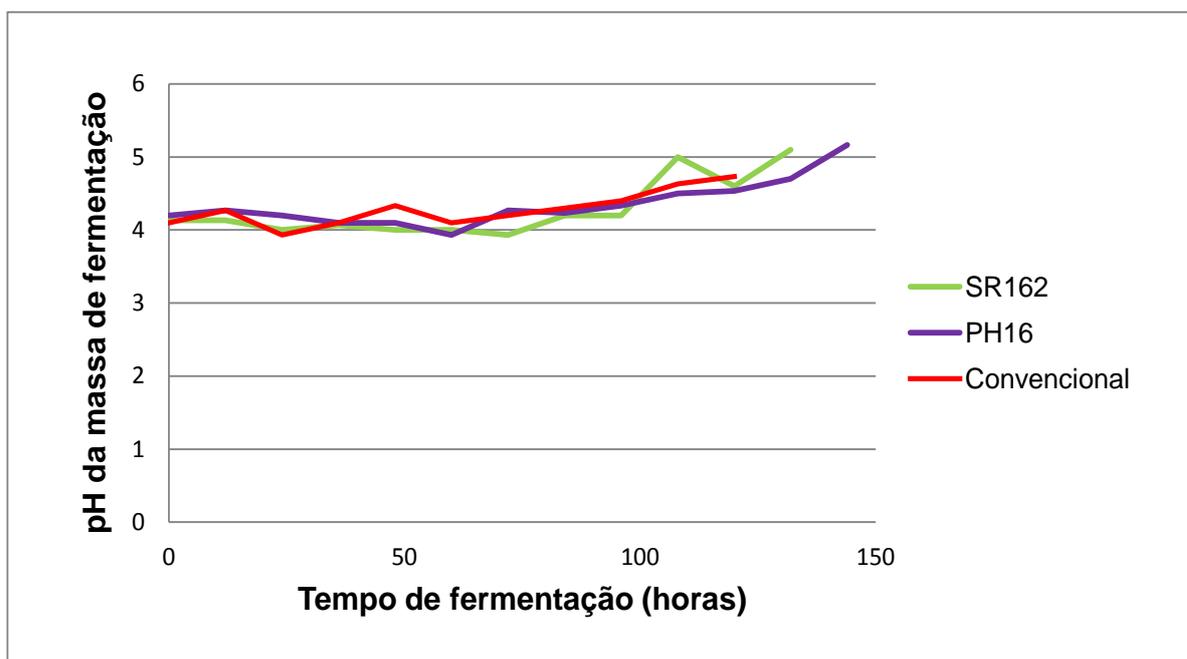
Nas Figuras 6, 7 e 8 são apresentadas, respectivamente, as curvas de variação de temperatura, de acidez titulável e pH da massa de sementes com polpa durante a fermentação para os diferentes materiais estudados.



**Figura 6.** Variação da temperatura da massa de sementes de cacau durante a fermentação das três variedades de cacau. Os valores apresentados são a média de 2 replicatas de fermentação e de 3 medidas de temperatura tomadas na parte superior, mediana e inferior dos cochos de fermentação.



**Figura 7.**Variação da acidez titulável da massa de sementes de cacau durante a fermentação das três variedades de cacau. Os valores apresentados são a média de 2 replicatas de fermentação.



**Figura 8.** Controle do pH da polpa nos cochos durante a fermentação das três variedades de cacau. Os valores apresentados são a média de 2 replicatas de fermentação.

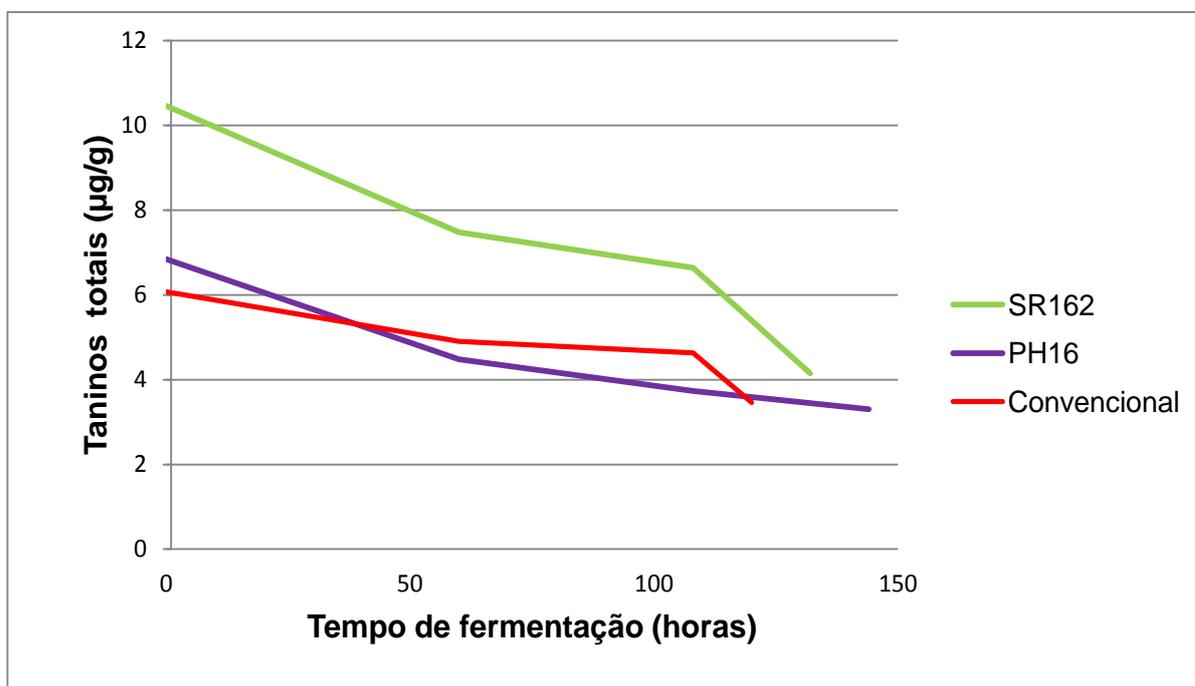
Observando a figura 6, durante o processo de fermentação a temperatura variou, chegando a valores próximos a 50°C para as variedades em estudo, principalmente o Convencional e o PH16. Durante a fermentação, a temperatura de quase todos os materiais alcançou valor máximo entre 48 e 72 horas conforme

deve-se observar em boas fermentações comerciais (ZAMALLOA, 1994). Apenas a variedade SR162 não apresentou tal evolução, possivelmente podendo estar relacionada às características físicas do fruto, apresentando sementes pequenas, em torno de 24mm de comprimento e 11mm de largura (Tabela 3b) que poderiam dificultar a uma manutenção de temperatura como apresentada pelas outras variedades.

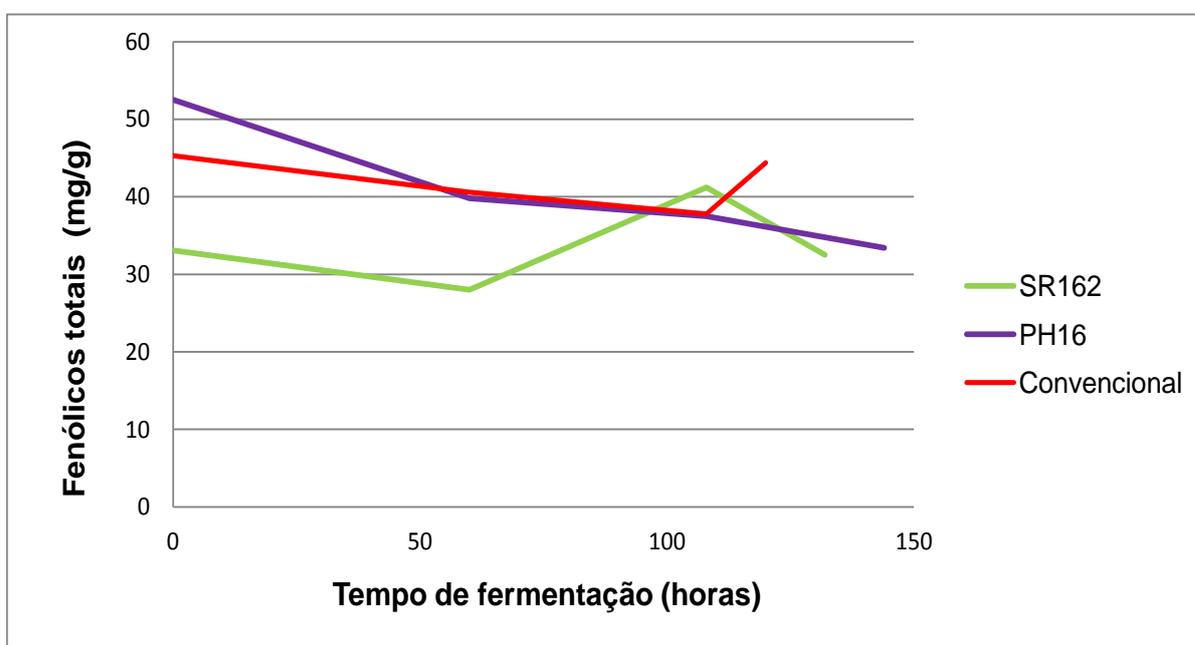
O tempo final da fermentação das três variedades estudadas foi diferente, o SR162 132 horas, Convencional 120 horas e o PH16 144 horas (figura 5). Observou-se que o pH inicial da massa das três variedades foram semelhantes em torno de 4,1 e no final do processo da fermentação obtiveram um pH final de aproximadamente 5,0. Quando o cacau em fermentação atinge temperaturas de 50-52°C e em meio ácido, facilitado pela presença de ácido acético, a semente não só perde a sua capacidade de germinar, mas também as paredes celulares aumentam a permeabilidade, permitindo assim a passagem de substâncias do interior das sementes para o meio (FERRÃO, 2000). Estudos realizados por Voigt e Biehl (1995), Amin et al.(2002) citados por Possignolo (2010), o alto potencial de sabor pode ser correlacionado com moderada acidificação (pH 5,5 - 5,0) durante a fermentação.

A variação da acidez titulável foi distinta para as três variedades (figura 6). Durante a fermentação e ao término da secagem, as diferenças entre os materiais se acentuaram, de forma que os valores, em cada tempo avaliado, foram bastante distintos entre os materiais. Com relação à acidez titulável houve uma grande variação durante todo processo fermentativo. Em estudos do monitoramento das etapas de fermentação de diferentes variedades de cacau realizados por Efraim (2009) verificou-se que a acidez total titulável das sementes dos diferentes materiais, no início da fermentação, apresentou valores próximos entre si. Sabe-se que as amêndoas de cacau ao adquirirem acidez elevada durante a fermentação levam ao comprometimento dos produtos, sem o aroma característico de chocolate. O que também pode acarretar ativação ou não das enzimas, a depender das condições do meio, levando por consequência a hidrólise de compostos durante a fermentação.

### 3.2.2 Análises dos compostos fenólicos e taninos totais durante fermentação



**Figura 9.** Teores de taninos totais durante a fermentação das três variedades de cacau. Os valores apresentados são a média de 2 replicatas de fermentação.



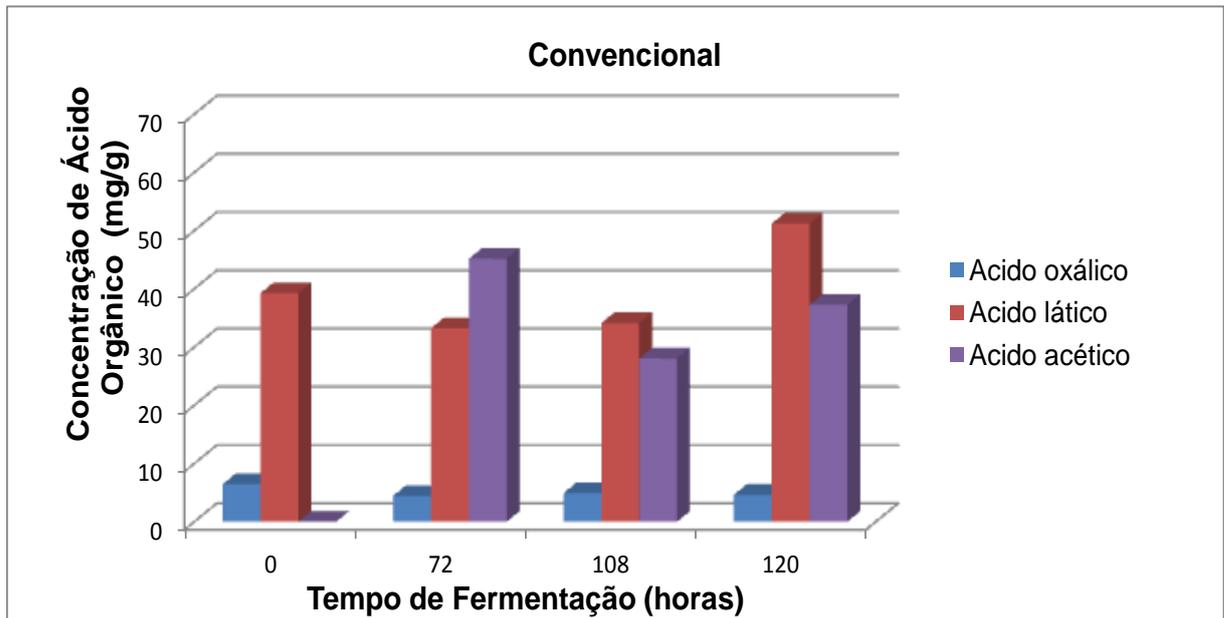
**Figura 10.** Teores de fenólicos totais durante a fermentação das três variedades de cacau. Os valores apresentados são a média de 2 replicatas de fermentação.

Por se tratar de materiais genéticos distintos, observa-se que os teores de compostos fenólicos totais dos três cultivares diferem entre si (figura 10), sendo que o variedade SR162 apresenta teores inferiores ao PH16 e Convencional, sendo  $33,1\text{mg.g}^{-1}$ ,  $52,5\text{mg.g}^{-1}$  e  $45,3\text{mg.g}^{-1}$ , respectivamente. Isso ocorre devido despigmentação produzida pela ausência de antocianinas do cultivar SR162, que são flavonoides que se encontram largamente distribuídos na natureza e são responsáveis pela maioria das cores azul, violeta e todas as tonalidades de vermelho que aparecem em flores, frutos, algumas folhas, caules e raízes de plantas (MARKAKIS, 1982).

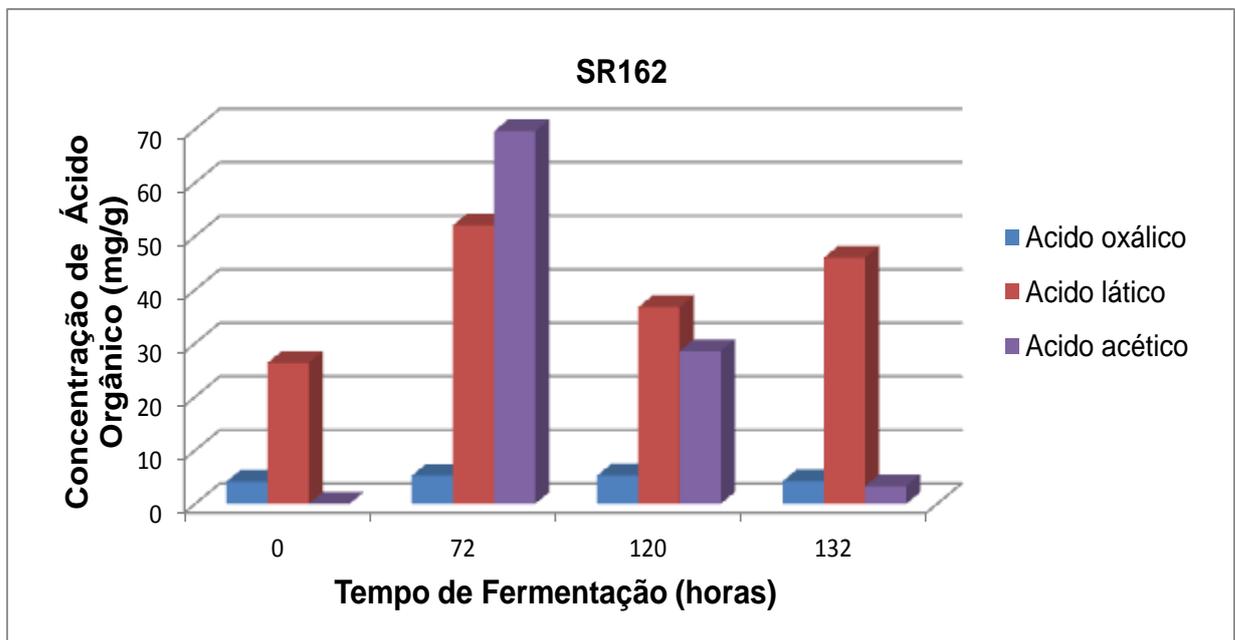
Embora houvesse uma variação do teor de compostos fenólicos durante o processo de fermentação, as concentrações finais das variedades SR162 de  $32,5\text{mg.g}^{-1}$  e Convencional de  $44,4\text{mg.g}^{-1}$  foram próximas das iniciais, enquanto que no PH16 houve uma redução de 36,5%. Já para os teores de taninos (figura 9) observou-se que a variedade SR162 apresentou teores mais elevados em relação aos cultivares PH16 e o Convencional, sendo  $10,46\mu\text{g.g}^{-1}$ ;  $6,84\mu\text{g.g}^{-1}$  e  $6,07\mu\text{g.g}^{-1}$ , respectivamente. Após a fermentação foi observada uma redução dos teores de taninos, sendo que para o variedade SR162 observou-se maior redução (60,3%), enquanto que para o PH16 foi de 51,7% e para Convencional de 43%. Diante disso, pressupõe-se que as enzimas responsáveis pela oxidação dos polifenóis nas variedades SR162 e PH16 foram mais efetivas do que no Convencional, pois os produtos da hidrólise dos taninos serviram como substrato para as enzimas responsáveis pela oxidação, já que não houve aumento dos fenólicos totais.

Com isso, pode existir uma diferença na atividade dessas oxidases em relação às variedades estudadas e conseqüentemente uma diferença na concentração dos produtos dessas reações, ocasionando diferenças na composição da matéria-prima para a produção do chocolate, já que esses compostos são responsáveis pelo desenvolvimento dos precursores de sabor (HANSEN et al., 1998).

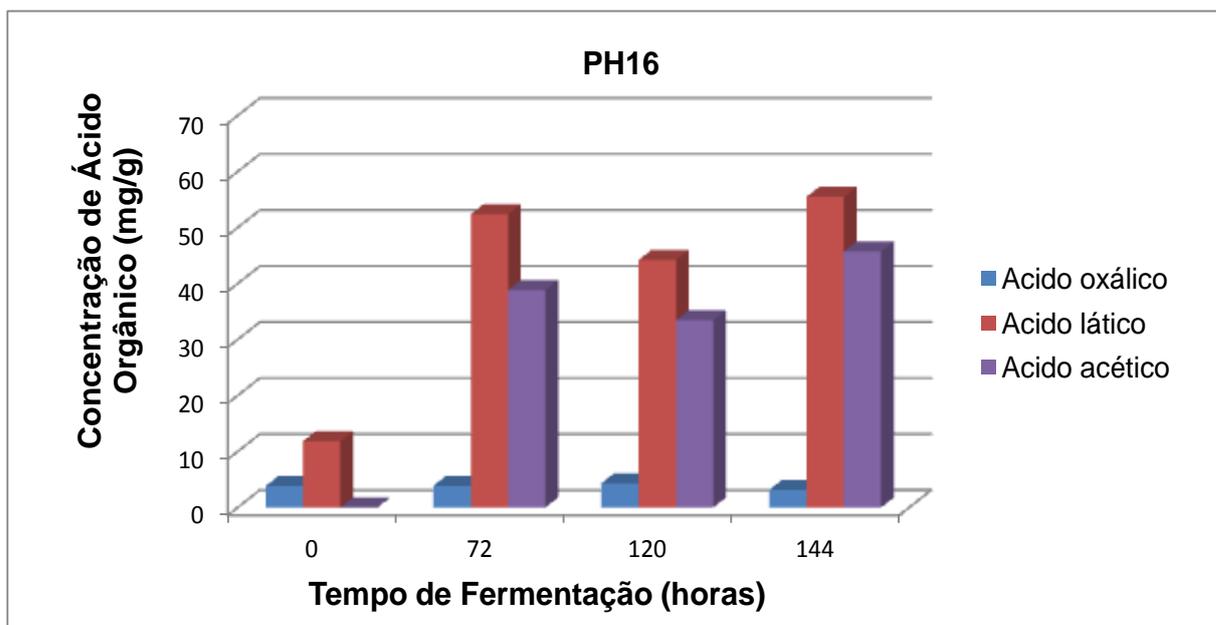
### 3.2.3 Identificação e quantificação de ácidos orgânicos das sementes e amêndoas de cacau durante a fermentação e secas.



(a)



(b)



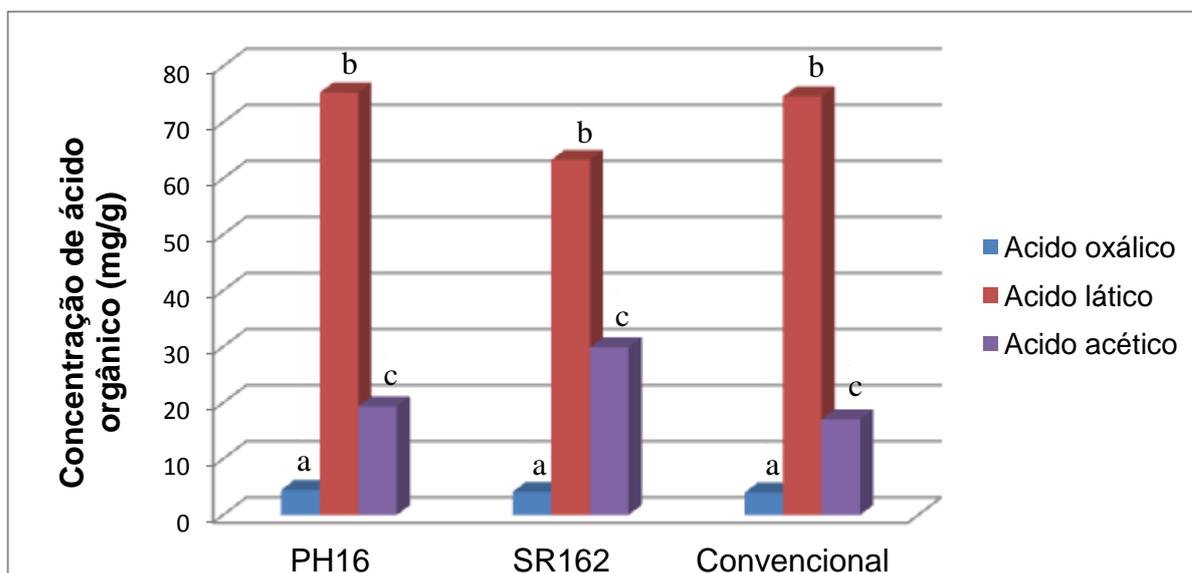
(c)

**Figura 11.** Teores de ácidos orgânicos durante a fermentação das três variedades de cacau, Convencional (a), SR162 (b) e PH16 (c). Os valores apresentados são a média de 2 replicatas de fermentação.

Na determinação de ácidos orgânicos em sementes e amêndoas de cacau durante o processo de fermentação percebeu-se que na fase inicial para as três variedades estudadas houve uma predominância do ácido láctico, apresentando maior valor para o Convencional com  $39,27 \text{ mg.g}^{-1}$  (figura 11a). Outro fator a ser destacado é que em todos os tempos das três variedades, o ácido láctico está presente ao final do processo, para o Convencional, SR162 e PH16 atinge concentrações de  $51,20 \text{ mg.g}^{-1}$ ,  $45,98 \text{ mg.g}^{-1}$  e  $55,49 \text{ mg.g}^{-1}$ , respectivamente. De acordo com Beckett (2009) as bactérias lácticas estão presentes desde o início da fermentação, mas só se torna dominante entre 48 e 96 h, convertendo açúcares em ácido láctico. Enquanto, Lagunes-Galvez et al. (2007) relatou que o máximo desenvolvimento de bactérias de ácido láctico foi encontrada após 24h, com maior população em menos de dois dias. Alta concentração de ácido láctico não é favorável para a qualidade do cacau, por produzir acidez excessiva que pode mascarar o sabor do chocolate em produtos manufacturados (THOMPSON et al, 2001).

Já o ácido oxálico durante a fermentação não apresentou variação entre os diferentes tempos. No entanto, o Convencional apresentou na fase inicial um teor de  $6,44\text{mg.g}^{-1}$  e na fase final  $4,61\text{mg.g}^{-1}$ ; o SR162 inicialmente apresentou um teor de  $4,11\text{mg.g}^{-1}$  e final  $4,21\text{mg.g}^{-1}$  e o PH16 iniciou com concentração de  $3,84\text{mg.g}^{-1}$  e finalizou com  $3,15\text{mg.g}^{-1}$ .

Com relação ao ácido acético não foi constatado sua presença na fase inicial do processo, o que só acontece a partir das 48 horas, tempo em que foi realizado o primeiro revolvimento das sementes de cacau, assim nas três variedades durante as 72 horas já se mostrava presente, para o Convencional  $45,14\text{mg.g}^{-1}$ , SR162  $69,63\text{mg.g}^{-1}$  e PH16  $38,85\text{mg.g}^{-1}$ . Observa-se que para a variedade SR162 (figura 11b) houve um decréscimo da concentração a medida que se realizaram os revolvimentos, enquanto que para o Convencional (figura 9a) e o PH16 (figura 11c) não ocorreu, apresentando altos teores ao final do processo,  $37,24\text{mg.g}^{-1}$  para o Convencional e  $45,73\text{mg.g}^{-1}$  para o PH16. De acordo com Beckett (2009) as bactérias do ácido acético estão presentes em toda fermentação, porém é mais significativo no final, quando se aumenta a aeração das sementes fermentadas.



**Figura 12.** Teores de ácidos orgânicos das amêndoas fermentadas e secas das três variedades de cacau. Os valores apresentados são a média de 2 replicatas de fermentação. Valores assinalados com a mesma letra não diferem significativamente ( $p < 0,05$ ), segundo o teste de Tukey

Nas amostras fermentadas e secas o ácido láctico também se mostrou majoritário nas três variedades (figura 12), indicando a predominância da

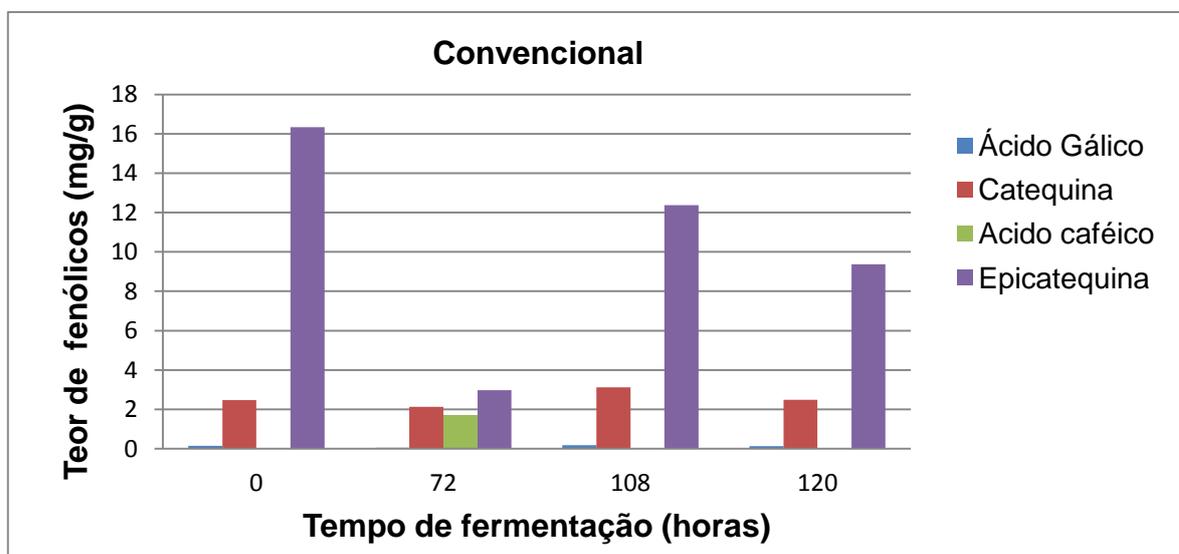
fermentação láctica sobre a acética, o que implica no comprometimento da formação dos precursores de sabor do cacau. Nas amêndoas fermentadas o SR162 apresentou decréscimo de ácido acético ao final da fermentação, após a secagem houve aumento considerável de  $26,6\text{mg.g}^{-1}$ , o que não era esperado. Outro comportamento comum ao SR162 e o PH16 foi à diminuição do teor de ácido acético, isto se deve aos revolvimentos durante a fermentação e a intensa circulação de ar durante a secagem.

Apesar dessa variação de acordo com análise estatística os valores encontrados para os ácidos orgânicos identificados nas três variedades das amêndoas fermentadas e secas não apresentaram diferença significativa ao nível de 5%.

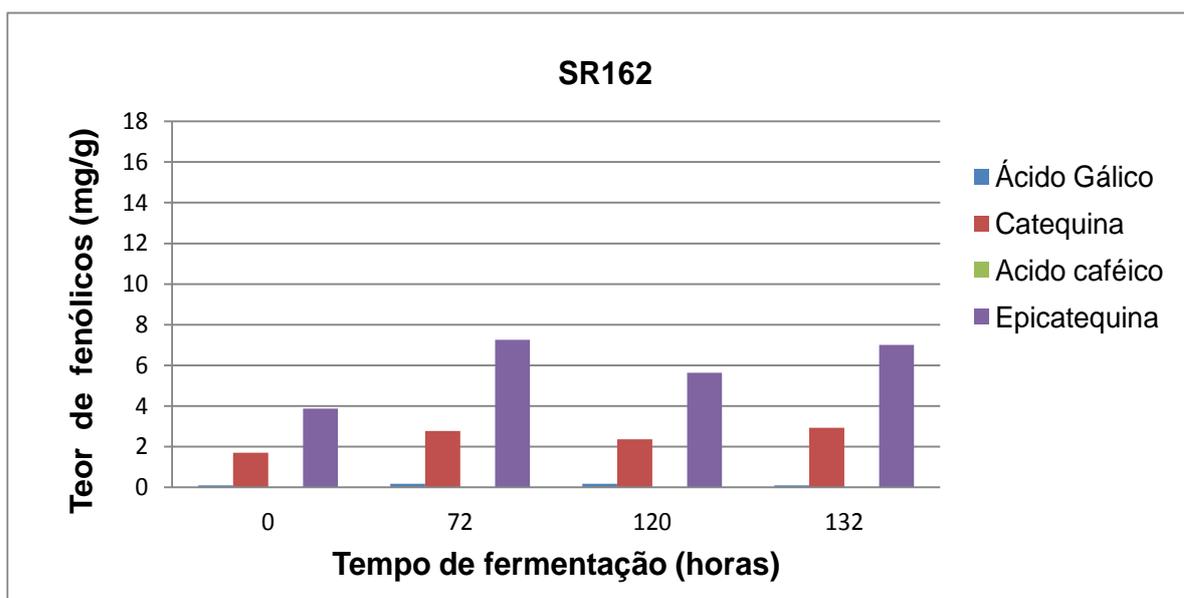
O ácido oxálico se manteve constante desde o final da fermentação até após a secagem para as três variedades, com valores de aproximadamente 4%.

Deve-se levar em consideração que os fatores climáticos, local da quebra do cacau bem como o material do cocho de fermentação influenciam na população microbiana durante o processo fermentativo, levando a produção de diferentes compostos orgânicos e exercendo mudanças nas características bioquímicas das amêndoas.

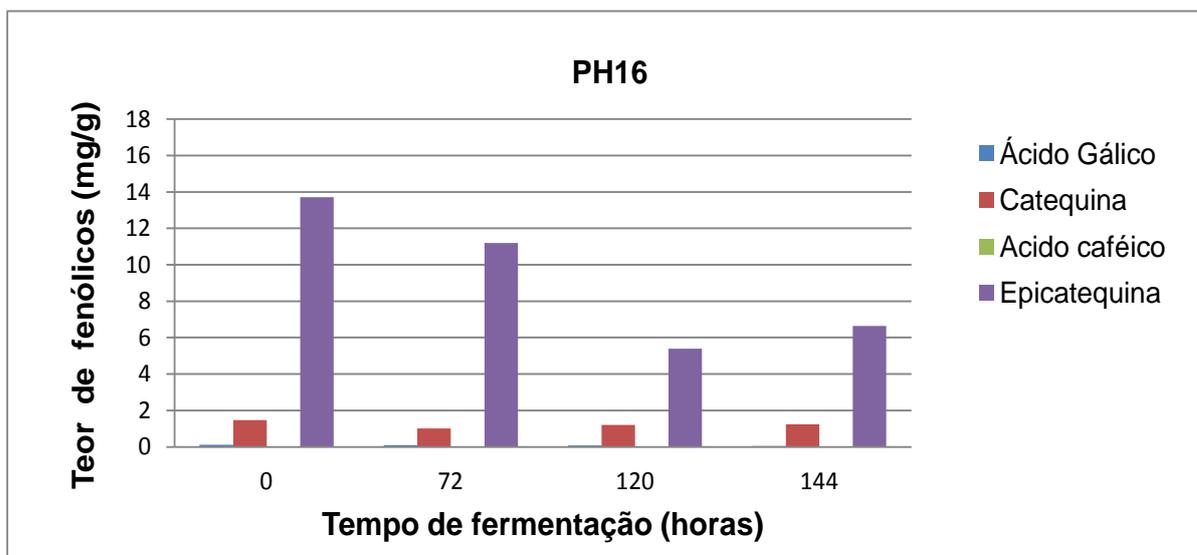
### 3.2.4 Identificação e quantificação de compostos fenólicos das sementes e amêndoas de cacau durante a fermentação.



(a)



(b)



(c)

**Figura 13.** Teores de compostos fenólicos durante a fermentação das três variedades de cacau, Convencional (a), SR162 (b) e PH16 (c). Os valores apresentados são a média de 2 replicatas de fermentação.

Verifica-se que houve uma variação no teor dos compostos fenólicos das três variedades estudadas. A epicatequina foi o composto fenólico predominante. Para o Convencional foram encontrados teores máximos de aproximadamente  $16\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$  (figura 13a), o PH16 de  $14\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$  (figura 13c), enquanto o SR162 em torno de  $7\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$  (figura 13b). Segundo Brito (2000) durante a fermentação, há uma diminuição do teor fenólico de 70%, sendo que a degradação da (-)-epicatequina, principal substrato da polifenoloxidase existente, provoca diminuição de 90% em sua concentração.

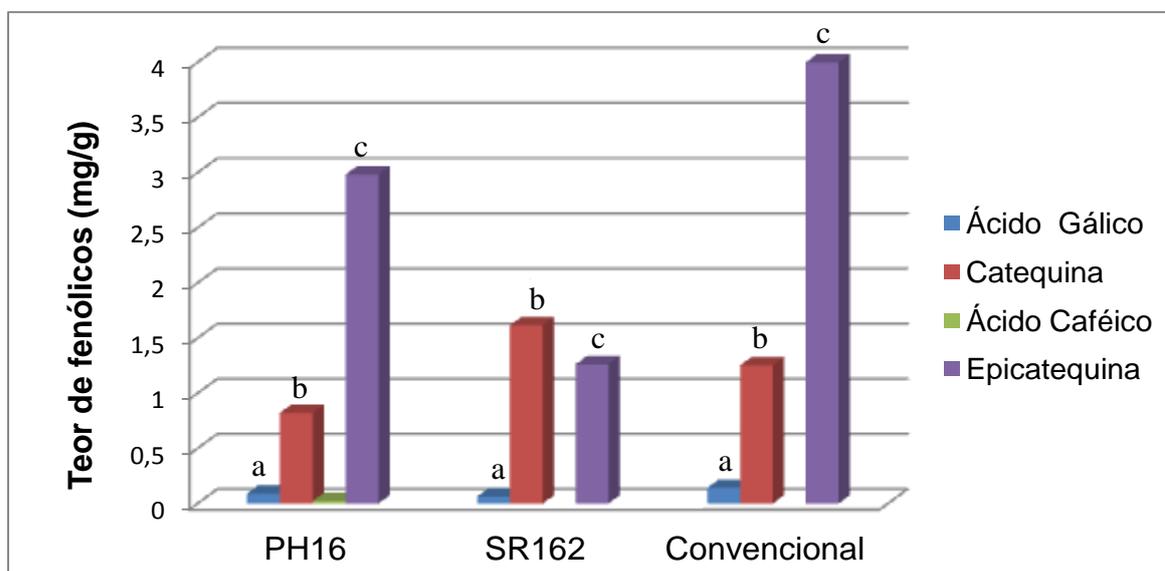
O teor reduzido da epicatequina para o SR162, possivelmente deve estar relacionado às sementes despigmentadas do cacauzeiro (cotilédones brancos) que segundo Lange e Fincke (1970) citados por Wollgast e Anklam (2000), apresentam teor 33% mais baixo de compostos fenólicos em relação às sementes pigmentadas (coloração violácea intensa). Outro fator é a atividade enzimática reduzida no SR162, já que observando os diferentes tempos de fermentação houve uma pequena variação comparada às outras, sendo necessários estudos complementares da atividade enzimática.

Durante a fermentação não foi detectado ácido caféico na variedade PH16, enquanto que o Convencional apenas apresentou um teor de aproximadamente 1,7 mg.g<sup>-1</sup> nas primeiras 72 horas, não sendo detectada nos tempos seguintes, já o SR162 apenas foi detectado na fase inicial e final da fermentação, apresentando 0,021 mg.g<sup>-1</sup> e 0,0236 mg.g<sup>-1</sup>, respectivamente.

O ácido gálico apresentou teores reduzidos, sendo detectado apenas 0,1765 mg.g<sup>-1</sup> para o Convencional, 0,178 mg.g<sup>-1</sup> para o SR162 e 0,1134 mg.g<sup>-1</sup> para o PH16.

Dos resultados obtidos dos fenólicos totais ao final do processo fermentativo as amostras SR162, Convencional e PH16, equivalem a 30,7%, 27%, 23,7%, respectivamente, dos monômeros presentes nas amostras.

### 3.2.5 Identificação e quantificação dos compostos fenólicos das amêndoas fermentadas e secas



**Figura 14.** Teores de compostos fenólicos das amêndoas fermentadas e secas das três variedades de cacau. Os valores apresentados são a média de 2 replicatas de fermentação. Valores assinalados com a mesma letra não diferem significativamente ( $p < 0,05$ ), segundo o teste de Tukey.

As amostras fermentadas e secas das três variedades também apresentaram a predominância da epicatequina e catequina (figura 14), não sendo detectada a presença do ácido caféico para o SR162 e o Convencional, apenas para o PH16, em torno de 0,022 mg.g<sup>-1</sup>.

O SR162 apresentou maior redução de ácido gálico, aproximadamente 40%. Enquanto no Convencional e PH16 houve um aumento, sendo este de aproximadamente 10%

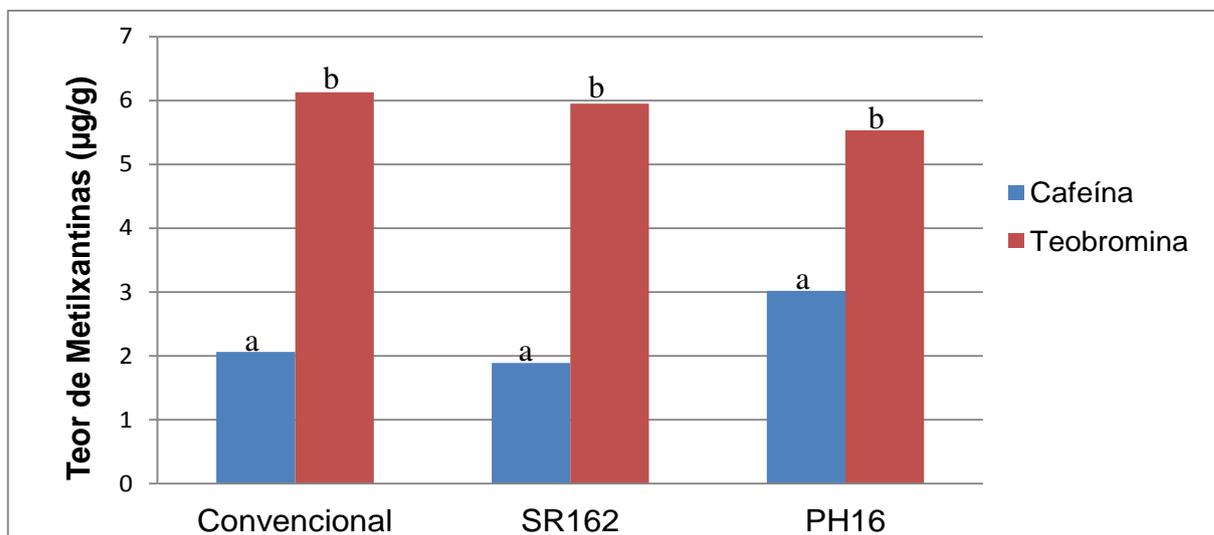
Dos fenólicos totais presentes nas amostras secas o SR162 apresentou em torno de 8,83%, o Convencional 12,8% e o PH16 11,7%, dos monômeros estudados.

De acordo com a análise estatística os valores encontrados para os compostos fenólicos identificados nas três variedades não apresentaram diferença significativa ao nível de 5%.

Segundo Brito (2000) a redução do teor de polifenóis na secagem é atribuída ao escurecimento enzimático causado pela polifenoloxidase, seguido de escurecimento não enzimático decorrente da polimerização das quinonas resultantes e da acumulação de compostos insolúveis. Desta forma, é percebido que algumas variedades apresentaram comportamentos contrários, o que segundo Hansen *et al* (1998) é devido as diferenças genotípicas, geográficas, métodos de fermentação e de secagem empregados, fatores complexos para se quantificar e comparar.

### 3.2.6 Identificação e quantificação das metilxantinas nas amêndoas fermentadas e secas

Na Figura 15 são apresentados os resultados da identificação e quantificação das metilxantinas.



**Figura 15.** Teores de metilxantinas das amêndoas secas e fermentadas das três variedades de cacau, Convencional, SR162 e PH16. Os valores apresentados são a média de 2 replicatas de fermentação. Valores assinalados com a mesma letra não diferem significativamente ( $p < 0,05$ ), segundo o teste de Tukey.

Os teores de teobromina nas três variedades encontrados apresentaram-se próximos, aproximadamente de  $6 \mu\text{g.g}^{-1}$ . Já os teores de cafeína para o Convencional, SR162 e PH16, apresentaram  $2,06 \mu\text{g.g}^{-1}$ ,  $1,90 \mu\text{g.g}^{-1}$  e  $3,02 \mu\text{g.g}^{-1}$ , respectivamente. De acordo com a análise estatística os valores encontrados tanto para cafeína quanto para a teobromina das três variedades não apresentaram diferença significativa ao nível de 5%.

Valores inferiores foram encontrados em estudos realizados por Nuñez, Macías (2011) no México, ao analisar duas amostras de sementes de cacau, duas de casca de cacau e duas de cacau em pó comercial quantificou a concentração de teobromina e cafeína. Nas amostras das sementes de cacau foram detectadas  $0,021 \mu\text{g.g}^{-1}$  de teobromina e  $0,020 \mu\text{g.g}^{-1}$  de cafeína, nas amostras da casca de cacau foram detectadas  $0,008 \mu\text{g.g}^{-1}$  de teobromina e  $0,007 \mu\text{g.g}^{-1}$  de cafeína, e, nas

amostras de cacau em pó comerciais  $0,022\mu\text{g.g}^{-1}$  de teobromina e  $0,022\mu\text{g.g}^{-1}$  de cafeína.

Já para as variedades estudadas a relação teobromina/cafeína foi maior para o SR162 (3,20), para o Convencional (2,90) e o menor valor para o PH16 (1,83). Efraim (2009) analisando *liquors* de diferentes variedades de cacau, obteve teores diferenciados de 3,61 a  $6,23\text{ mg.g}^{-1}$  de teobromina e de 0,51 a  $1,16\text{ mg.g}^{-1}$  de cafeína. Quando comparados os valores da relação teobromina/cafeína entre os *liquors* dos materiais estudados, foram verificados menores diferenças, sendo que TSH 1188 apresentou o menor valor (4,60) e o TSA 654 o maior valor (7,09).

### 3.3 Composição centesimal das sementes e amêndoas de cacau

A Tabela 4 apresenta os resultados de proteínas das sementes fermentadas das três variedades. O SR162 apresentou valores constantes durante os tempos 1°(inicial), 2°(72 horas), 3°(120 horas) e 4°(132 horas). Enquanto que o PH16 durante o 1°(inicial), 2° (72 horas), 3° (120 horas) permaneceu constante e no 4° tempo (144 horas) houve uma pequena redução para 11,92g/100g. Para o Convencional apresentou mudança a partir do 3°(108 horas).

**Tabela 4.** Teor de proteínas das sementes fermentadas de cacau em base seca (g/100g).

Variedades de cacau	Tempos de fermentação			
	1°	2°	3°	4°
<b>SR162</b>	14,14±0,58	14,43±1,05	14,08±0,40	14,05±1,84
<b>PH16</b>	12,94±0,95	12,71±1,08	12,41±0,47	11,92±1,57
<b>Convencional</b>	15,16±0,69	15,80±0,35	13,85±0,11	13,71±0,12

Resultados expressos como Média ± Desvio padrão.

Com relação ao teor protéico não apresentou grande variação para as três variedades estando entre 13,75 a 14,38g/100g.

**Tabela 5.** Valores de cinzas e lipídios das sementes do primeiro tempo de fermentação do cacau em base seca (g/100g).

Variedades de cacau	Cinzas	Lipídios
<b>SR162</b>	4,46± 0,09 <sup>a</sup>	36,80±0,08 <sup>b</sup>
<b>PH16</b>	3,85±0,06 <sup>b</sup>	25,92±0,09 <sup>c</sup>
<b>Convencional</b>	3,48±0,11 <sup>b</sup>	41,82±0,07 <sup>a</sup>

Resultados expressos como Média ± Desvio padrão. \*Valores assinalados com a mesma letra na mesma linha entre as médias não diferem significativamente (p<0,05), segundo o teste de Tukey.

Dos resultados apresentados para os valores de cinzas as amostras do PH16 e do Convencional do início do processo fermentativo não apresentaram diferença significativa, existindo diferença apenas para amostra do SR162, enquanto os valores de lipídios todas as três variedades diferiram entre si.

**Tabela 6.** Composição centesimal das amêndoas de cacau secas em base seca (g/100g).

<b>Variedades</b>	<b>Umidade %</b>	<b>Cinzas</b>	<b>Proteínas</b>	<b>Lipídios</b>	<b>Carboidratos*</b>
<b>SR162</b>	7,27 ± 0,17 <sup>b</sup>	3,50 ± 0,18 <sup>b</sup>	14,38 ± 0,31 <sup>a</sup>	48,68 ± 0,37 <sup>a</sup>	26,17 <sup>a</sup>
<b>PH16</b>	8,21 ± 0,25 <sup>a</sup>	4,31 ± 0,18 <sup>a</sup>	13,75±0,28 <sup>b</sup>	45,75 ±0,50 <sup>a</sup>	27,98 <sup>a</sup>
<b>Convencional</b>	6,30 ± 0,47 <sup>c</sup>	3,52 ± 0,07 <sup>a,b</sup>	13,62±0,02 <sup>b</sup>	48,30 ± 0,04 <sup>a</sup>	28,26 <sup>a</sup>

\* Nifext. Resultados expressos como Média±Desvio padrão. Letras diferentes em uma mesma linha indicam diferença significativa pelo teste Tukey em nível de 5% de confiança.\*Os carboidratos totais foram calculados por diferença: 100-(% umidade +% cinzas + % proteína bruta + % L.T.).

As amostras secas e fermentadas do Convencional e do SR162 estão dentro dos padrões com relação à umidade, máximo 8%, apenas o PH16 apresentou um valor acima, de 8,21% (Tabela 6), de acordo com a análise estatística as três apresentaram diferença significativa. Com relação aos valores de cinzas a amostra do Convencional não apresentou diferença entre o PH16 e o SR162, para as proteínas apenas diferiu a amostra do SR162, enquanto os lipídios e carboidratos não houve diferença.

**Tabela 7.** Atividade de água das amostras de amêndoas de cacau fermentadas e secas.

<b>Variedades de cacau</b>	<b>Atividade de água</b>
<b>SR162</b>	0,490±0,032 <sup>a,b</sup>
<b>PH16</b>	0,468±0,001 <sup>a</sup>
<b>Convencional</b>	0,449±0,007 <sup>b</sup>

Resultados expressos como Média ± Desvio padrão.  
\*Valores assinalados com a mesma letra na mesma linha entre as médias não diferem significativamente ( $p < 0,05$ ), segundo o teste de Tukey.

Na Tabela 7 os valores encontrados para atividade de água apenas se diferiram ao nível de 5% para as amostras do PH16 e do Convencional. Percebendo que a secagem natural realizada permitiu que a umidade fosse reduzida uniformemente do interior à parte externa das amêndoas, favorecendo a redução da atividade de água até valores adequados que não permitiram o desenvolvimento de fungos produtores de toxinas.

### **3.4 Avaliação da qualidade das amêndoas fermentadas e secas**

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. Na Tabela 8 de acordo com a Instrução Normativa 38/2008 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento se encontra os resultados desta avaliação. Considerando as ardósias (amêndoas não fermentadas), foram verificadas no PH16 14,60%; SR162 37,67% e Convencional 19,30%. Com relação, as infestadas o PH16 e o Convencional apresentaram 0,33%, e ausência no SR162. Já nos requisitos para germinadas, mofadas e fumaça todas apresentaram ausência, e apenas o SR162 apresentou 1% de achatadas. De acordo com os resultados as amostras se encontram fora do padrão, já que os valores das amêndoas ardósias estão acima de 15%.

**Tabela 8.** Resultados da prova de corte efetuada nas amêndoas fermentadas e secas das três variedades de cacau.

<b>Variedades de Cacau</b>	<b>Ardósias</b>	<b>Infestadas</b>	<b>Germinadas</b>	<b>Mofadas</b>	<b>Fumaça</b>	<b>Achatadas</b>
<b>SR162</b>	37,67%	----	-----	----	----	1%
<b>PH16</b>	14,60%	0,33%	-----	----	----	----
<b>Convencional</b>	19,30%	0,33%	-----	----	----	----

A qualidade do cacau é fortemente dependente do grau e o tempo de curso de acidificação dos cotilédones durante o processo de fermentação. As amêndoas ardósias são indicativas de falhas no processo fermentativo, resultado de revolvimento inadequado, no qual as amêndoas da superfície dos cochos sofrem desidratação e não participam do processo (SERRA,2004).Na realização deste experimento foram feitos quatro revolvimentos, no tempo de fermentação de 144 horas para PH16, 132 horas para o SR162 e 120 horas para o Convencional, diante da presença de um maior número de amêndoas ardósias percebe-se que um dos fatores que podem ter influenciado seria a quantidade insuficiente de revolvimentos realizados.

#### 4. Conclusões

- As caracterizações físico-químicas e químicas das variedades estudadas comprovam que cada uma destas apresentam composições distintas, e que através da fermentação monoclonal se tem um maior controle de processo.
- A realização da fermentação em cochos de madeira, e em condições próprias de local e volume de frutos a ser trabalhado permitiu uma proximidade com a prática real do processamento de cacau.
- Em relação às características físicas das variedades estudadas, verificou-se que o PH16 se destacou perante o SR162 e o Convencional quanto a: massa do fruto, sementes, casca, placenta, quantidade de sementes por fruto, largura e espessura, além de maior teor de sólidos solúveis. Esses aspectos devem ser levados em consideração tanto no processo fermentativo quanto na secagem.
- A variedade PH16 apresentou acima do limite máximo permitido da umidade, necessitando um maior monitoramento durante o processo de secagem.
- Verificou-se que o acompanhamento da temperatura, da acidez titulável e do pH durante a fermentação como forma de avaliar e monitorar a sua evolução, foram parâmetros importantes para o desenvolvimento do processo, mas não definitiva na decisão do tempo ideal de fermentação para cada material. Vale destacar que com o monitoramento realizado nos intervalos de 12 horas permitiu uma visão maior do processo.
- Percebe-se pela prova de corte que houve uma deficiência no processo fermentativo, possivelmente devido a poucos revolvimentos da massa ou devido à distância do local da quebra dos frutos até a casa de fermentação, que levou a uma predominância do ácido láctico durante todo o processo fermentativo.

## REFERÊNCIAS

AFOAKWA, E. O. **Chocolate Science and Technology**. England: Wiley-Blackwell, 2010, 234 p.

AMIN, I.; JINAP, S.; JAMILAH, B.; HARIKRISNA, K.; BIEHL, B. Analysis of vicilin (7S)- class globulin in cocoa cotyledons from various genetic origins. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 82, p. 28-732, 2002.

APG II (2003) An update of the angiosperm phylogeny group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. The Linnean Society of London. **Botanical Journal of the Linnean Society** 141: 399-436, 2003.

BARTLEY BG. The genetic diversity of cacao and its utilization. CABI Publishing, Massachusetts, p.341, 2005.

BECKETT, S. T. Industrial chocolate manufacture and use. 4 ed. London: Chapman and Hall, p. 20-23, 2009.

BONVEHI, J.S.; COLL, F.V., Evaluation of purine alkaloids and diketopiperazines contents in processed cocoa powder. **European Food Research Technology**, v.210, p.189-195, 2000.

BRASIL. Instrução Normativa 57/2008/MAPA, de 23 de junho de 2008. Especificando padrão oficial de classificação das amêndoas de cacau (*Theobroma cacao* L.), com os requisitos de identidade e qualidade, a amostragem, o modo de apresentação e a marcação ou rotulagem.

BRITO, E.S. **Estudo de mudanças estruturais e químicas produzidas durante fermentação, secagem e torração do cacau (*Theobroma cacao* L.); e propostas de tratamento para o melhoramento de sabor**. 2000. 176p. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2000.

CEPLAC (Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira). **Indicação de variedades de cacau para cultivo comercial** – Rede de avaliação de clones em larga escala. Material cedido pela CEPLAC, 2010.

CEPLAC. Salão de Chocolate de Paris: Cacau brasileiro entre os melhores do mundo. Disponível em: <http://www.ceplac.gov.br/paginas/jornaldocacau/jornaldocacau02.pdf>. Acesso em: 15 de dezembro de 2011.

CUATRECASAS J (1964) Cacao and its allies: a taxonomic revision of the genus *Theobroma*. **Contributions of the U.S. National Herbarium** 35:p. 379-614, 1964.

EFRAIM, P. **Contribuição à melhoria de qualidade de produtos de cacau no Brasil, através da caracterização de derivados de cultivares resistentes à vassoura de bruxa e de sementes danificadas pelo fungo**. 2009. 226p. Tese (Doutor em Tecnologia de Alimentos). Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP.2009.

ELWERS, S., ZAMBRANO, A., ROHSIUS, C., LIEBERIE, R. (2009). Differences between the content of phenolic compounds in Criollo, Forastero and Trinitario cocoa seed. *Eur. Food Res. Technol*, 229, 937-948.

FADINI, A. L. **Comparação da eficiência do processo convencional de torra o do cacau frente ao processo por microondas.** 1998. 139p. Disserta o (Mestrado em Tecnologia de Alimentos). Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos. Campinas, SP.

FANTOZZI, P.; MONTEDORO, G. Dosage d s composés ph noliques dans drupes d'olives r colt s   differents stades de maturation. **Industries alimentaires et agricoles**, p. 1335-1339, 1978.

FERR O, J. E. M. A morte da semente sua importância na tecnologia pós-colheita do cacau. **6  Jornada de Engenharia dos Países de Língua Oficial Portuguesa.** Rio de Janeiro. 2000, 262-267.

GUTFINGER, T. Polyphenols in Olive Oils. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, p. 966-968, 1981.

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, 273-281, 1998.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Anal ticas do Instituto Adolfo Lutz. Métodos químicos e físicos para análise de alimentos**, v. 1, 3. ed. São Paulo: IMESP, 2008.

JINAP, S.; DIMICK, P.S. Acidic characteristics of fermented and dried cocoa beans from different countries of origin. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 55, n. 2, p. 547-550, 1990.

LAGUNES-GALVEZ, S., LOISEAU, G., PAREDES, J. L., BAREL, M., & GUIRAUD, J. P. (2007). Study on the microflora and biochemistry of cocoa fermentation in the Dominican Republic. **International Journal of Food Microbiology**, p. 124-130, 2007.

LOPES, U. V.; MONTEIRO, W. R.; PIRES, J. L.; CLEMENT, D.; YAMADA, M. M.; GRAMACHO, K. P. Cacao breeding in Bahia, Brazil - strategies and results. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 1, p. 73-81, 2011.

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.

MARITA JM, NIENHUIS J, PIRES JL AND AITKEN WM. Analysis of genetic diversity in Theobroma cacao with emphasis on witches' broom disease resistance. **Crop Science** 41:p. 1305-1316, 2001.

MARTINI, M. H. **Caracterização das sementes de seis espécies de *Theobroma* em relação ao *Theobroma cacao* L.** 2004. Tese (Doutorado em Alimentos e Nutrição). Faculdade de Engenharia de Alimentos. Universidade Estadual de Campinas. Campinas – SP, 2004.

MINIFIE, B.W. Chocolate, cocoa, and confectionery. Science and Technology, 3a ed., Chapman & Hall, New York, London, 1989.

MOTAMAYOR JC, LACHENAUD P, MOTA J.W.S., LOOR R, KUHN D. N., BROWN J. S.; SCHNELL R.J. (2008) Geographic and genetic population differentiation of the Amazonian chocolate tree (*Theobroma cacao* L). p 1-8, 2008.

NUÑEZ, L. N. G.; MACÍAS, M. P. C. Focused microwaves-assisted extraction of theobromine and caffeine from cacao. **Food Chemistry**, v.129, p. 1819–1824, 2011.

OLIVEIRA, M. L.; LUZ, E.D.M.N. Identificação e manejo das principais doenças do cacauero no Brasil. Ilhéus, CEPLAC/ CEPEC/SEFIT, p.132, 2005.

PIRES, J.L. **Avaliação quantitativa e molecular de germoplasma para o melhoramento de cacauero com ênfase na produtividade, qualidade dos frutos e resistência à doenças.** 226p. 2003. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2003.

POSSIGNOLO, A. A. **Perfil protéico de sementes de acessos de cacauero no desenvolvimento do sabor de chocolate.** 2010. 116 p. Dissertação (Mestrado em Ciências). Universidade de São Paulo. Centro de Energia Nuclear na Agricultura. Piracicaba – SP, 2010.

PRICE, M.L.; BUTLER, L.G. Rapid visual estimation and spectrophotometric determination of tannin content of sorghum grain. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.25, n.6, 1268-1273, 1977

SERRA, W. S. Manual do Cacaucultor: com perguntas e respostas. p177-207, 2004.

SHRIPAT; C.; SUKHA, D.; SPENCE, J.; COMMISSIONG, E. A preliminary evaluation of three fermentation regimes on the quality of Trinidad & Tobago cocoa assessed via the Cut Test, **Proceedings of 12th International Cocoa Research Conference, Salvador**, Brasil, p. 1-13, 1996.

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**. ASM Press, Washington, D.C., p. 721–733, 2001.

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

VOIGT, J.; BIEHL, B. Precursors of the Cocoa-Specific Aroma Components are derived from the Vicilin-Class (7S) Globulin of the Cocoa seeds by Proteolytic Processing. **Botanica Acta**, Stuttgart, v. 108 p. 283-289, 1995.

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. 111p. 1992. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1994.

## CONCLUSÕES FINAIS

- A realização da fermentação monoclonal permite um acompanhamento individualizado das variedades, reafirmando que cada uma apresenta características distintas. Desta forma, agrega-se valor as amêndoas de cacau através da produção de chocolates varietais, com aromas e sabores peculiares.
- A utilização dos parâmetros de pH, acidez titulável e temperatura permitem ter um acompanhamento maior da fermentação, relacionando também os aspectos físicos e sensoriais (odor) produzidos durante o processo.
- As variedades SR162 e PH16 apresentam características físicas, físico-química e química distintas durante o processo de fermentação. Ao se comparar com o Convencional não foi diferente, pois deve-se levar em consideração que o mesmo é uma mistura de variedades e de sementes sadias e doentes, o que com certeza influenciou na sua caracterização.

## SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- O estudo das propriedades tecnológicas de outras variedades de cacau resistentes à vassoura de bruxa faz-se necessário para a continuidade da contribuição ao Programa Brasileiro de Melhoramento Genético de cacau.
- Sugere-se análises físico-química e química nos intervalos de 12 horas durante o monitoramento da fermentação monoclonal, para uma melhor compreensão das reações bioquímicas envolvidas em cada variedade de cacau.
- A partir dos resultados obtidos das variedades estudadas, faz-se necessário uma otimização das etapas de pós-colheita para a obtenção de frutos com maior qualidade.
- Monitoramento da atividade enzimática e microbiológica das variedades para melhor acompanhamento do processo.