

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

DEPARTAMENTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

**Contribuição à melhoria de qualidade de produtos de cacau no
Brasil, por meio da caracterização de derivados de cultivares
resistentes à vassoura-de-bruxa e de sementes danificadas pelo fungo**

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia
de Alimentos, da Universidade Estadual de
Campinas, para obtenção do título de Doutor
em Tecnologia de Alimentos

Priscilla Efraim

Mestre em Tecnologia de Alimentos
Engenheira de Alimentos

Prof. Dr. Nelson Horacio Pezoa-García

Orientador

CAMPINAS / SP

2009

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FEA – UNICAMP

Efraim, Priscilla
Ef77c Contribuição à melhoria de qualidade de produtos de cacau no Brasil, por meio da caracterização de derivados de cultivares resistentes à vassoura-de-bruxa e de sementes danificadas pelo fungo / Priscila Efraim. -- Campinas, SP: [s.n.], 2009.

Orientador: Nelson Horacio Pezoa García
Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Campinas.Faculdade de Engenharia de Alimentos

1. Theobroma cacao L. 2. Chocolate. 3. Vassoura-de-bruxa. 4. Cacau - Derivados. I. Pezoa García, Nelson Horacio. II. Universidade Estadual de Campinas.Faculdade de Engenharia de Alimentos. III. Título.

Titulo em inglês: Contribution to the improvement of the quality of cocoa derived products in Brazil, through characterization of products from cultivars resistant to “witches’ broom” and from seeds damaged by the fungus.

Palavras-chave em inglês (Keywords): Theobroma cacao L., Chocolate, “Withces’ broom”, Cocoa Products

Titulação: Doutor em Tecnologia de Alimentos

Banca examinadora: Denise Calil Pereira Jardim

Eliete da Silva Bispo

José Luis Pires

Maria Luiza Sant’ Anna Tucci

Data de defesa: 28/01/2009

Programa de Pós Graduação: Programa em Tecnologia de Alimentos

Campinas, _____ de _____ de 2009

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Nelson Horacio Pezoa García
Universidade Estadual de Campinas
Orientador

Dra. Dense Calil Pereira Jardim
Instituto de Tecnologia de Alimentos

Prof^a. Dra. Eliete da Silva Bispo
Universidade Federal da Bahia

Dra. Eliete Vaz de Faria
Instituto de Tecnologia de Alimentos

Prof. Dr. Flávio Luis Shmidt
Universidade Estadual de Campinas

Dr. José Luis Pires
CEPEC / CEPLAC

Dra. Maria Luiza Sant'Anna Tucci
Instituto Agronômico de Campinas

Dr. Valdecir Luccas
Instituto de Tecnologia de Alimentos

AGRADECIMENTO

À todos que contribuíram para a realização deste trabalho, meu agradecimento.

RESUMO

Este trabalho buscou contribuir com o Programa Brasileiro de Melhoramento Genético de Cacau por meio do processamento e caracterização dos principais derivados de nove clones estudados e utilizados comercialmente na Bahia por sua resistência à vassoura-de-bruxa: CEPEC 42, EET 397, TSA 654, TSA 656, TSAN 792, TSH 516, TSH 565, TSH 774, TSH 1188 e do cacau Comum, tradicional na região e suscetível à doença. Os frutos foram colhidos em um mesmo período, fermentados simultaneamente em lotes de 50 Kg e secos naturalmente ao sol. As amêndoas obtidas foram quebradas em *nibs*, que foram torrados em 3 diferentes tempos em forno elétrico rotativo a 150 °C e moídos até 25 µm para obtenção dos *liquors*. A análise sensorial de preferência definiu o tempo de torração de cada material. A manteiga de cacau foi obtida por prensagem hidráulica dos *liquors*. Chocolates amargos foram produzidos pelo método convencional. A caracterização física dos frutos e sementes demonstrou diferenças entre os materiais quanto ao peso total dos frutos e rendimento de sementes com polpa por fruto. O monitoramento de temperatura e pH da massa em fermentação e a avaliação dos teores de umidade, atividade de água, pH, acidez total titulável, açúcares, ácidos orgânicos, proteínas, compostos fenólicos totais e da contagem microbiológica, durante a fermentação e ao término da secagem, demonstraram que a evolução do processo fermentativo foi distinta para cada material. A caracterização da manteiga de cacau quanto à composição em triacilgliceróis e curva de sólidos indicou que os todos os cultivares estudados, exceto o TSH 774, apresentaram melhorias em relação ao cacau Comum. A análise sensorial descritiva quantitativa dos *liquors* por duas equipes treinadas e de aceitação dos chocolates, por painel não treinado de consumidores, indicaram diferenças entre os materiais para alguns atributos avaliados de acordo com sua ascendência genética, sendo que os materiais descendentes dos grupos Trinitário e *Forastero* apresentaram maior preferência em relação aos descendentes apenas do grupo *Forastero*.

Apesar das diferenças físicas e químicas verificadas nos *liquors* e chocolates, observou-se a viabilidade industrial de todos dos materiais estudados. Estudou-se ainda a influência da mistura de 0, 30, 50 e 100% de sementes danificadas pela vassoura-de-bruxa com sementes sadias na fermentação às características de amêndoas, *liquors*, manteiga e pó de cacau obtidos. Os perfis de temperatura e pH da massa em fermentação, os teores de açúcares e ácidos orgânicos e a análise da fração volátil demonstraram que reações que normalmente ocorrem na fermentação podem ter se iniciado nos frutos, antes da colheita. O teor de polifenóis totais das sementes danificadas foi maior que o de sementes sadias, porém, as perdas na fermentação foram maiores. Os teores de lipídios e proteínas das amêndoas e *liquors* foram menores quanto maior a proporção de sementes danificadas. A vassoura-de-bruxa não causou alterações nas propriedades físicas e químicas avaliadas nas manteigas de cacau. A análise da fração volátil das sementes, amêndoas e *liquors* indicou que o aumento do teor de sementes danificadas levou à diminuição ou ausência de importantes alquilpirazinas, indicando que o uso destas, nas porcentagens estudadas, pode prejudicar a qualidade sensorial dos derivados de cacau.

Palavras-chave: *Theobroma cacao* L.; chocolate, vassoura-de-bruxa, derivados de cacau

ABSTRACT

The aim of this study was to contribute with the Brazilian Genetic Improvement Program of cocoa by processing and characterizing the main cocoa-derived products from nine clones studied and used commercially in Bahia due to their resistance to “witches’ broom”: CEPEC 42, EET 397, TSA 654, TSA 656, TSAN 792, TSH 516, TSH 565, TSH 774, TSH 1188 and Comum cocoa, traditional in the area and susceptible to the disease. The fruits were harvested in the same period, fermented in 50 kg batches and sun-dried. The cocoa beans obtained were broken into nibs, roasted during 3 different times in a rotative electric oven at 150°C and milled to 25 µm to obtain the liquors. A preference sensory evaluation defined the specific roasting time for each material. Cocoa butter was obtained by hydraulic pressing of the liquors. Bitter chocolates were produced by the conventional method. The physical characterization of the fruits and seeds demonstrated differences among the materials regarding total weight of the fruits and yield of seeds with pulp per fruit. Temperature and pH monitoring of the mass during fermentation and evaluation of moisture content, water activity, pH, total acidity, sugars, organic acids, proteins, total phenolic compounds and microbiological count during fermentation and at the end of drying demonstrated that the evolution of the fermentation process was different for each material. The triacylglycerol composition and the solid fat content of the cocoa butters from all the cultivars studied, except TSH 774, presented improvements compared to Comum cocoa. The quantitative descriptive analysis of the liquors carried out by two trained panels and the acceptance of the chocolates by an untrained consumer panel indicated differences for some of the parameters evaluated among the materials studied according to their genetic ascendance. The cultivars descending from Trinitario and Forastero groups presented greater preference in relation to the descendants of the Forastero group only. The physical and chemical characterization of the liquors and chocolates demonstrated differences

among the materials studied; however, it also showed their industrial viability. The influence of the mixture of 0, 30, 50 and 100% of seeds damaged by “witches’ broom” with healthy seeds during the fermentation process on the characteristics of cocoa beans, liquors, cocoa butter and powder was also studied. The temperature and pH profiles of the mass during fermentation, the amounts of sugars and organic acids and the analysis of volatile compounds demonstrated that some reactions that usually occur during fermentation might have been initiated in the fruits before harvesting. The total content of polyphenols in the damaged seeds was higher than in the healthy seeds; however, losses during fermentation were also greater. Lipid and protein contents of cocoa beans and liquors decreased with the increase of the proportion of damaged seeds. “Witches’ broom” did not cause changes in the physical and chemical properties evaluated in the cocoa butters. The analysis of the volatile compounds of the seeds, beans and liquors showed that the increase of the content of damaged seeds led to the decrease or absence of the main alkylpyrazines, indicating that their use in the percentages studied may negatively affect the sensory quality of cocoa-derived products.

Key-words: *Theobroma cacao* L.; chocolate; “witches’ broom”; cocoa products

ÍNDICE GERAL

INTRODUÇÃO	1
-------------------------	----------

CAPÍTULO 1 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	5
---	----------

1. ASPECTOS GERAIS.....	5
2. PRODUÇÃO MUNDIAL DE CACAU	6
3. VASSOURA-DE-BRUXA.....	7
3.1 Modificações no cacauero causadas pela vassoura-de-bruxa	8
4. SELEÇÃO DE CULTIVARES DE CACAUEIRO.....	11
5. PESQUISAS SOBRE A INFLUÊNCIA GENÉTICA NA QUALIDADE DO CACAU.....	12
6. PRÉ-PROCESSAMENTO DO CACAU	16
6.1 Fermentação.....	16
6.2 Secagem.....	19
7. OBTENÇÃO DE PRODUTOS DE CACAU.....	21
7.1 Etapa de limpeza e classificação.....	21
7.2 Torração.....	21
7.3 <i>Liquor</i> ou massa de cacau	22
7.4 Manteiga de cacau	23
7.5 Cacau em pó	24
7.6 Chocolate	24
8. FORMAÇÃO DO SABOR CARACTERÍSTICO DO CHOCOLATE.....	27
9. TENDÊNCIAS DO MERCADO DE CACAU E CHOCOLATE.....	29
9.1 Chocolates com alto teor de cacau e com apelo saudável.....	29
9.2 Chocolates de origem e variedades	29
10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	32

CAPÍTULO 2 - MONITORAMENTO DAS ETAPAS DE FERMENTAÇÃO E SECAGEM E CARACTERIZAÇÃO DE SEMENTES DE CULTIVARES DE CACAU RESISTENTES À VASSOURA-DE-BRUXA.....	39
--	-----------

1. INTRODUÇÃO.....	39
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	40

2.1 Material vegetal	40
2.2 Processamento	41
2.2.1 Colheita, abertura dos frutos, fermentação e secagem	42
2.3 Caracterização dos frutos e sementes <i>in natura</i> , após a colheita	42
2.4 Fermentação e secagem	43
2.4.1 Avaliação da evolução dos processos de fermentação e secagem.....	44
2.5 Avaliação da qualidade das amêndoas fermentadas e secas	45
2.6 Análises estatísticas	46
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	47
3.1 Caracterização física dos frutos e sementes	47
3.2 Evolução do processo fermentativo	49
3.2.1 Avaliação da massa em fermentação.....	49
3.2.2 Avaliação das sementes e amêndoas de cacau durante a fermentação e ao término da secagem.	51
3.3 Avaliação da qualidade das amêndoas fermentadas e secas	71
4. CONCLUSÕES	74
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	76
ANEXO 1	81

CAPÍTULO 3 - OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE LIQUOR E MANTEIGA DE CACAU DE CLONES RESISTENTES À VASSOURA-DE-BRUXA 85

1. INTRODUÇÃO.....	85
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	89
2.1 Material.....	89
2.2 Processamento	89
2.2.1 Processamento para obtenção de <i>liquor</i> e manteiga de cacau	91
2.2.2 Escolha do tempo ideal de torração dos materiais.....	92
2.3 Caracterização dos <i>liquors</i>	94
2.3.1 Determinações químicas e físico-químicas	94
2.3.2 Determinações físicas.....	95
2.3.3 Análises microbiológicas	95
2.4 Caracterização da manteiga de cacau.....	95
2.4.1 Curva de sólidos	95
2.4.2 Composição triacilglicerólica.....	96
2.5 Análise sensorial dos <i>liquors</i>	96
2.6 Análises estatísticas	97
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	97
3.1 Escolha do tempo de torração	97
3.2 Caracterização dos <i>liquors</i>	99
3.3 Análise sensorial dos <i>liquors</i>	104
3.4 Caracterização da manteiga de cacau.....	109

4. CONCLUSÕES	114
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	116

CAPÍTULO 4 - OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE CHOCOLATES PRODUZIDOS A PARTIR DE CULTIVARES DE CACAU RESISTENTES À VASSOURA-DE-BRUXA 121

1. INTRODUÇÃO.....	121
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	123
2.1 Material.....	123
2.2 Processamento	124
2.3 Caracterização dos chocolates	127
2.3.1 Caracterização físico-química	127
2.3.2 Caracterização física	128
2.4 Análise sensorial	128
2.5 Análises estatísticas e tratamento de dados.....	130
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	131
3.1 Caracterização dos Chocolates	131
3.1.1 Caracterização físico-química	131
3.1.2 Caracterização física	133
3.2 Análise sensorial dos chocolates.....	137
3.2.1 Caracterização do grupo de consumidores	137
4. CONCLUSÕES.....	148
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	150

CAPÍTULO 5 - AVALIAÇÃO DOS NÍVEIS ACEITÁVEIS DE SEMENTES DE CACAU DANIFICADAS COM A VASSOURA-DE-BRUXA VISANDO O APROVEITAMENTO INDUSTRIAL..... 153

2.1 Processamento	158
2.2 Caracterização dos produtos obtidos.....	161
2.2.1 Amêndoas fermentadas e secas	161
2.2.2 <i>Nibs</i> não torrados.....	162
2.2.3 <i>Liquors</i>	162
2.2.4 Pós de cacau	162
2.2.5 Manteigas de cacau	163
2.3 Determinação do teor de compostos fenólicos totais	164
2.4 Análise da fração volátil dos materiais estudados.....	164
2.5 Teores de açúcares e ácidos orgânicos.....	165
2.6 Análises Estatísticas.....	165

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	166
3.1 Evolução do processo de fermentação	166
3.2 Caracterização das amêndoas fermentadas e secas	170
3.2.1 Avaliação microbiológica	170
3.2.2 Caracterização física	172
3.2.3 Prova de corte	174
3.3 Caracterização dos <i>nibs</i> não torrados.....	177
3.4 Caracterização dos <i>liquors</i>	178
3.3.1 Caracterização física e química.....	178
3.3.2 Avaliação microbiológica	180
3.5 Caracterização dos pós de cacau.....	181
3.6 Caracterização da manteiga de cacau.....	183
3.5.1 Curva de sólidos	183
3.5.2 Composição em ácidos graxos	184
3.7 Compostos fenólicos totais	188
3.8 Análise de compostos voláteis	189
4. CONCLUSÕES	196
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	198

CONCLUSÕES FINAIS	205
-------------------------	-----

SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	207
--	-----

ÍNDICE DE TABELAS

CAPÍTULO 2

Tabela 1a. Caracterização física dos frutos de dez cultivares de cacau.....	47
Tabela 1b. Continuação da caracterização física dos frutos e sementes de dez cultivares de cacau	47
Tabela 2. Umidade das sementes e amêndoas de dez cultivares de cacau coletadas no decorrer da fermentação e ao término da secagem.....	52
Tabela 3. Atividade de água das sementes e amêndoas de dez cultivares de cacau coletadas no decorrer da fermentação e ao término da secagem	52
Tabela 4. Valores de pH das sementes e amêndoas de dez cultivares de cacau durante a fermentação e término da secagem.....	54
Tabela 5. Valores de acidez total titulável das sementes e amêndoas de dez cultivares de cacau do início da fermentação ao término da secagem	54
Tabela 6. Teor de nitrogênio total de sementes e amêndoas de dez cultivares de cacau no decorrer da fermentação e ao término da secagem	64
Tabela 7. Teor de compostos fenólicos totais de sementes e amêndoas de dez cultivares de cacau no decorrer da fermentação e ao término da secagem.....	65
Tabela 8. Contagem de microrganismos mesófilos totais de sementes e amêndoas de dez cultivares de cacau durante a fermentação e ao término da secagem.....	68
Tabela 9. Contagem de bactérias lácticas de sementes e amêndoas de dez cultivares de cacau durante a fermentação e ao término da secagem	68
Tabela 10. Contagem de bolores e leveduras de sementes e amêndoas de dez cultivares de cacau durante a fermentação e ao término da secagem	69
Tabela 11. Contagem de bolores termorresistentes de sementes e amêndoas de cacau de dez cultivares de cacau durante a fermentação e ao término da secagem.....	69
Tabela 12. Caracterização física e composição em frações de amêndoas fermentadas e secas de dez cultivares de cacau	71
Tabela 13. Resultados da prova de corte efetuada nas amêndoas fermentadas e secas de dez cultivares de cacau	72

CAPÍTULO 3

Tabela 1. Resultados obtidos no teste de ordenação quanto à preferência de bebidas preparadas com os <i>liquors</i> obtidos de torrações em diferentes tempos	98
Tabela 2. Caracterização química dos <i>liquors</i> de dez cultivares de cacau (valores reportados em base seca) 99	

Tabela 3. Valores de pH, acidez total titulável e ácidos orgânicos dos <i>liquors</i> dos diferentes materiais estudados.....	101
Tabela 4. Caracterização físico-química dos <i>liquors</i>	103
Tabela 5. Atividade de água e caracterização microbiológica dos <i>liquors</i> estudados	104
Tabela 6. Médias das notas da avaliação sensorial da Equipe 1 para os <i>liquors</i> de dez cultivares de cacau .	107
Tabela 7. Médias das notas da avaliação sensorial da Equipe 2 para os <i>liquors</i> de dez cultivares de cacau .	107
Tabela 8. Teor de gordura sólida a 25 °C e diferença do teor de gordura sólida entre 25 e 35 °C obtidos a partir dos resultados apresentados na Figura 5.....	111
Tabela 9. Composição em triacilgliceróis que contenham pelo menos dois ácidos graxos saturados da manteiga de cacau de dez cultivares	112
Tabela 10. Composição em triacilgliceróis que contenham pelo menos dois ácidos graxos insaturados da manteiga de cacau de dez cultivares	112

CAPÍTULO 4

Tabela 1. Valores de umidade, atividade de água, pH, acidez titulável e proteínas dos chocolates produzidos com dez cultivares de cacau	131
Tabela 2. Tamanho máximo das partículas, viscosidade plástica e limite de escoamento de Casson e tensão de ruptura dos chocolates produzidos com dez cultivares de cacau	133
Tabela 3. Frequência das notas dadas pelos provadores na avaliação de chocolate amargo de dez cultivares de cacau	139
Tabela 4. Probabilidade de erro para a rejeição da hipótese nula (de igualdade) entre as amostras de chocolate dos materiais estudados com relação aos atributos sensoriais avaliados	143
Tabela 5. Probabilidade de erro para a rejeição da hipótese nula (de igualdade) entre os grupos de chocolate avaliados	144
Tabela 6. Valores das médias e desvio padrão das notas dos provadores para os atributos sensoriais avaliados	145

CAPÍTULO 5

Tabela 1. Teores de ácidos orgânicos e açúcares das sementes e amêndoas de cacau sadias e danificadas pela vassoura-de-bruxa não fermentadas	169
Tabela 2. Avaliação microbiológica dos <i>nibs</i> não torrados, provenientes de diferentes proporções de sementes danificadas com vassoura-de-bruxa	171
Tabela 3. Características físicas das amêndoas fermentadas e secas provenientes de diferentes proporções de sementes danificadas com vassoura-de-bruxa.....	173

Tabela 4. Prova de corte das amêndoas secas provenientes da fermentação de misturas de sementes de cacau danificadas pela vassoura-de-bruxa com sementes sadias	175
Tabela 5. Caracterização dos <i>nibs</i> não torrados provenientes de misturas de sementes de cacau danificadas pela vassoura-de-bruxa com sementes sadias	177
Tabela 6. Caracterização dos <i>liquors</i> obtidos de misturas de sementes de cacau danificadas pela vassoura-de-bruxa com sementes sadias	179
Tabela 7. Avaliação microbiológica dos <i>liquors obtidos</i> de misturas de sementes de cacau danificadas pela vassoura-de-bruxa com sementes sadias	181
Tabela 8. Caracterização físico-química dos pós de cacau obtidos de misturas de sementes de cacau danificadas pela vassoura-de-bruxa com sementes sadias	182
Tabela 9. Composição em ácidos graxos da manteiga de cacau extraída de materiais danificados e não danificados pela vassoura-de-bruxa	185
Tabela 10. Composição em triacilgliceróis da manteiga de cacau extraída de liquor de sementes de cacau sadias (VB 0) e 100% danificadas pela vassoura-de-bruxa (VB 100)	187
Tabela 11. Teor de compostos fenólicos totais de sementes de cacaueiro sadias e danificadas pela vassoura-de-bruxa e de <i>nibs</i> não torrados e <i>liquors</i> obtidos de sua mistura em diferentes proporções.....	188
Tabela 12. Compostos identificados na fração volátil de sementes não fermentadas sadias e de danificadas pela vassoura-de-bruxa	190
Tabela 13. Compostos identificados na fração volátil de amêndoas de cacau fermentadas e secas obtidas de misturas de sementes sadias e danificadas pela vassoura-de-bruxa em diferentes proporções.....	191
Tabela 14. Compostos identificados na fração volátil dos <i>liquors</i> obtidos de misturas de sementes sadias e danificadas pela vassoura-de-bruxa em diferentes proporções	192

ÍNDICE DE FIGURAS

CAPÍTULO 2

Figura 1. Fluxograma de processamento dos frutos (a) e processamento das amêndoas de cacau até a obtenção dos <i>nibs</i> (b) de dez cultivares de cacau.....	41
Figura 2. Frutos de dez cultivares de cacau.....	42
Figura 3. Fermentação de sementes de dez cultivares de cacau: (a) detalhe da massa em fermentação; (b) caixas de madeira com divisões de 125 L.....	43
Figura 4. Secagem em barcaça, de forma natural, ao sol, das amêndoas fermentadas de dez cultivares de cacau	43
Figura 5. Variação da temperatura da massa de sementes de cacau durante a fermentação de dez cultivares de cacau	50
Figura 6. Controle do pH da polpa nas caixas durante a fermentação de dez cultivares de cacau	50
Figura 7. Teores, em base seca, de ácidos orgânicos, açúcares e etanol monitorados durante a etapa de fermentação e ao término da secagem de sementes de cacau de dez cultivares.....	60

CAPÍTULO 3

Figura 1. Fluxograma de processamento das amêndoas de cacau de dez cultivares até a obtenção dos <i>liquors</i> e manteiga de cacau	90
Figura 2. Modelo da ficha de avaliação utilizada no teste de preferência dos <i>liquors</i> de dez cultivares de cacau para avaliação do tempo de torração de cada material	93
Figura 3. Evolução das temperaturas da camisa do equipamento e dos gases no interior do tambor rotativo durante a torração dos <i>nibs</i> de cacau do cultivar TSAN 792 torrados durante 38 minutos.....	97
Figura 4. Resultados da análise sensorial realizada por equipe de provadores treinada (Equipe 1) nos <i>liquors</i> de dez cultivares de cacau.....	105
Figura 5. Resultados da análise sensorial realizada por equipe de provadores treinada (Equipe 2) nos <i>liquors</i> de dez cultivares de cacau.....	106
Figura 6. Curva de sólidos da manteiga de cacau de dez cultivares de cacau	109

CAPÍTULO 4

Figura 1. Fluxograma de processamento dos chocolates de dez cultivares de cacau	124
Figura 2. Ficha utilizada para a avaliação sensorial dos chocolates de dez cultivares de cacau.....	130

Figura 3. Faixa etária (a) e frequência de consumo de chocolate (b) do grupo de consumidores recrutado para avaliação das amostras de chocolate amargo	137
Figura 4. Tipos de chocolate preferidos pelo grupo de consumidores recrutado para avaliação das amostras de chocolate amargo de dez cultivares de cacau.....	138

CAPÍTULO 5

Figura 1. Sintomas verificados em cacaueiros contaminados pela vassoura-de-bruxa: (a) folhas retorcidas; (b) frutos com formato de “morango” ou “cenoura”; (c) frutos com mancha dura e escura; (d) sementes compactadas no interior do fruto	155
Figura 2. Frutos sadios (a) e frutos desenvolvidos infectados pela vassoura-de-bruxa (b e c).....	158
Figura 3. Fluxograma de processamento do cacau para obtenção de <i>liquor</i> , manteiga e pó de cacau.	159
Figura 4. Sementes de cacau sadias misturadas com sementes danificadas pela vassoura-de-bruxa no início da fermentação.....	166
Figura 5. Controle da temperatura durante a fermentação de misturas de sementes de cacau danificadas pela vassoura-de-bruxa com sementes sadias	167
Figura 6. Controle do pH durante a fermentação de misturas de sementes de cacau danificadas pela vassoura-de-bruxa com sementes sadias	168
Figura 7. Amêndoas de cacau fermentadas e secas com diferentes proporções de sementes danificadas pela vassoura-de-bruxa: (a) VB 0, (b) VB 30, (c) VB 50 e (d) VB100	172
Figura 8. Curva de sólidos da manteiga de cacau extraída de <i>liquor</i> obtido de misturas de sementes de cacau danificadas pela vassoura-de-bruxa com sementes sadias	184

INTRODUÇÃO

O chocolate é o principal produto obtido a partir do cacau, além de ser um dos alimentos mais apreciados mundialmente. O Brasil sempre esteve entre os maiores produtores de cacau, sendo este um produto agrícola importante ao país. Nos últimos dez anos, o Brasil tem ocupado a quarta ou quinta posição mundial na produção de chocolates, sendo esse um mercado que vem buscando a diferenciação e que está cada vez mais preocupado com a qualidade.

O setor cacauero no Brasil, especialmente no Estado da Bahia, maior produtor nacional, vem atravessando, desde o final da década de 80, uma grave crise ocasionada, entre outros fatores, pela introdução do fungo *Moniliophthora perniciosa*, causador da doença denominada vassoura-de-bruxa. Como consequência, houve uma queda expressiva na produção nacional. Essa situação tem levado inclusive à prática de mistura de sementes de cacau danificadas pela vassoura-de-bruxa com sementes sadias, para a fermentação.

Entre os esforços concentrados no controle da vassoura-de-bruxa no Brasil, destacam-se as pesquisas sobre novos cultivares de cacau resistentes, produtivos e que originem matérias-primas de qualidade industrial, além de estudos genômicos e de agentes químicos ou biológicos capazes de controlar a doença. Uma das formas mais eficientes encontradas para a recuperação da lavoura cacauera baiana tem sido a seleção e utilização de clones de cacau provenientes de materiais resistentes à doença, trabalho que tem sido realizado com o apoio de instituições de pesquisa, como o Centro de Pesquisas do Cacau - CEPEC, da Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira – CEPLAC, e dos próprios cacauicultores com orientação técnica do CEPEC.

O fungo responsável pela doença vassoura-de-bruxa tem apresentado grande poder de adaptação e enorme variabilidade, sendo recentemente verificada sua capacidade de infectar clones que anteriormente apresentavam resistência. Assim, o setor cacauero no Brasil deve não apenas expandir a base genética da lavoura colocando nos programas de melhoramento o maior número possível de diferentes clones já testados, como também continuar os estudos sobre novos materiais, assumindo por enquanto, que será necessário conviver com o fungo.

A substituição das lavouras baianas por materiais resistentes à vassoura-de-bruxa se iniciou em 1997, com a distribuição dos cinco primeiros genótipos resistentes à doença recomendados pela CEPLAC e que foram propagados por meio de técnicas de clonagem: CEPEC 42, EET 397, TSH 1188, TSH 565 e TSH 516, e posteriormente os materiais TSA 654, TSA 656, TSAN 792 e TSH 774, em 1998. Visando contribuir com o Programa Brasileiro de Melhoramento Genético e com a cadeia produtiva com foco na melhoria da qualidade do cacau brasileiro, tornou-se relevante o estudo do desempenho tecnológico e a caracterização física, química, físico-química e sensorial dos produtos obtidos a partir desses materiais genéticos, disponíveis e estabelecidos comercialmente e a sua comparação com o cacau Comum da região.

Um segundo aspecto relevante abordado neste estudo diz respeito à utilização de sementes de cacauero danificadas pelo fungo da vassoura-de-bruxa misturadas com sementes sadias e posterior comercialização com indústrias processadoras, dada a descapitalização do setor cacauero e buscando evitar prejuízos econômicos. Considerando que diversos estudos reportam grandes alterações ocasionadas pela vassoura-de-bruxa ao cacauero e dada a inexistência de trabalhos que tenham avaliado a qualidade de sementes danificadas após o processamento para obtenção dos derivados de cacau, verificou-se a necessidade de estudar o impacto da utilização de sementes danificadas pela vassoura-de-bruxa na qualidade dos produtos obtidos.

Este trabalho teve como objetivo geral a obtenção e caracterização física, química, físico-química, microbiológica e sensorial de sementes e derivados de cacau de cultivares resistentes à vassoura-de-bruxa e de misturas de materiais danificados pelo fungo.

Como objetivos específicos, estão:

- Monitoramento das etapas de fermentação e secagem e caracterização física, química, físico-química e microbiológica de sementes e amêndoas de cacaueiro de nove clones resistentes à vassoura-de-bruxa e do cacau Comum, suscetível à doença;
- Obtenção de *liquor* e manteiga de cacau a partir de amêndoas fermentadas e secas dos materiais estudados e sua caracterização física, química, microbiológica e sensorial visando avaliar o seu desempenho na fabricação de chocolates;
- Processamento e caracterização físico-química e sensorial de chocolates a partir de *liquor* e manteiga de cacau dos materiais estudados;
- Fermentação de misturas de sementes danificadas pela vassoura-de-bruxa com sementes sadias para avaliação de sua influência nos produtos derivados (*liquor*, manteiga e pó de cacau), bem como o seu impacto na qualidade microbiológica, física, química e físico-química desses produtos.

CAPÍTULO 1

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1. ASPECTOS GERAIS

O cacaueteiro pertence à ordem Malvales, família *Sterculiaceae*, gênero *Theobroma*, espécie *Theobroma cacao* L., única utilizada comercialmente para a produção de chocolate. De acordo com Paradis (1979), citado por Tucci (1997), os astecas e outros grupos de língua nahuatl denominavam o cacaueteiro de “cacaohoaquahuitl”, os frutos de “cacahocentli” 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 (BRAUDEAU, 1970 citado por TUCCI, 1997).

Acredita-se que o cacau seja proveniente da cabeceira do Rio Amazonas e sua expansão originou grupos importantes como *Forastero* e *Criollo* (PIRES, 2003). Esses termos foram utilizados inicialmente na Venezuela, para distinguir o material nativo da região (*Criollo*), do material introduzido (*Forastero*) (BECKETT, 1994; PIRES, 2003). Os dois grupos são bastante distintos, sendo que o *Criollo* produz, normalmente, frutos grandes, com casca rugosa ou lisa, delgada ou grossa e vermelha ou verde (TUCCI, 1997). Suas sementes são normalmente grandes, com os cotilédones brancos ou violeta-pálido. O grupo *Forastero* Amazônico é considerado o verdadeiro cacau brasileiro e caracteriza-se por produzir sementes intensamente pigmentadas, frutos verdes quando imaturos e amarelos quando maduros (BECKETT, 1994; PIRES, 2003). A partir da associação de caracteres dos grupos anteriores surgiu um terceiro tipo – Trinitário, cuja designação foi utilizada inicialmente para materiais provenientes de Trindade, que apresenta cotilédones das sementes com coloração variando de branca a violeta-pálida (PIRES, 2003).

Diferenças na qualidade sensorial do cacau são historicamente atribuídas aos efeitos genéticos, levando às denominações comerciais: cacau do tipo fino, caracterizado por apresentar sabor mais suave e frutado (cacau do Equador do tipo Nacional ou certos tipos de Trinitários e *Criollos*) e cacau do tipo “bulk”, encontrado em maior escala mundialmente e correspondente, de forma geral, ao material de origem *Forastero* (CUBERO *et al.*, 1993; BECKETT, 1994; FIGUEIRA *et al.*, 1997).

2. PRODUÇÃO MUNDIAL DE CACAU

De acordo com dados da FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nation) relativos à produção mundial de amêndoas fermentadas e secas de cacau, observa-se, entre 1997 e 2007 um aumento na produção mundial de 33%. Entre 1994 e 2007, a Costa do Marfim apresentou o maior aumento em sua produção (61%), ocupando atualmente a primeira posição com 32% da produção mundial de cacau (FAO, 2008). O continente africano detém 70% da produção mundial, seguido de Ásia, com 16,4%, Américas com 12,1% e Oceania com 1,4%.

De acordo com Guittard (2005), a pressão exercida pelas indústrias processadoras aos cacaucultores em busca da redução de preços aliada à própria competição dos produtores entre si os leva a buscar cacaueiros que apresentem maior produtividade e resistência às pragas e doenças. No Brasil, mais especificamente na região produtora de cacau da Bahia, a mais importante em nível nacional, a grande devastação dos cultivos pela vassoura-de-bruxa está promovendo mudanças entre os produtores de cacau, que buscam agregar maior valor às amêndoas por meio da produção de material orgânico, com fermentações e secagens especiais e utilização de genótipos de cacaueiro com sabores/aromas diferenciados.

O Brasil, no século passado, destacou-se como um dos principais produtores mundiais de cacau, atingindo o apogeu na década de 1980 com produção de 400.000

toneladas de amêndoas secas e produtividade de 750 kg/ha, a maior no contexto mundial da época. A partir da década de 90, devido a um acentuado déficit hídrico nas regiões produtoras dos Estados da Bahia e Espírito Santo, bem como à disseminação da doença vassoura-de-bruxa nos cacauzeiros da região sul da Bahia, houve acentuada queda na produção e na produtividade brasileiras. Além disso, houve uma queda brusca do preço das amêndoas fermentadas e secas no mercado internacional (passou de US\$ 4 mil para apenas US\$ 650/ton). Desde o aparecimento da doença vassoura-de-bruxa em 1989, verificou-se o rápido declínio da produção brasileira de amêndoas secas de cacau, de 460 mil toneladas (1985/86) para apenas 170 mil (2003/04), representando uma importante queda de 63%. As exportações também sofreram acentuado declínio de 70% (FAO, 2008). Nesse contexto, a CEPLAC vem indicando o controle integrado da doença, com a utilização de variedades resistentes, práticas culturais, utilização de defensivos químicos e controle biológico, além de disponibilizar aos agricultores as informações ou materiais relativos a cada um dessas métodos de controle. Com isso, a produção nacional de cacau começou a se recuperar e o Brasil, de um pico de baixa em 1999/2000, de 196.000 toneladas, apresentou elevação da produção para 221.000 toneladas em 2006/2007, de acordo com as estimaivas da FAO (FAO, 2008).

3. VASSOURA-DE-BRUXA

A vassoura-de-bruxa é uma doença causada pelo fungo *Moniliophthora perniciosa*, e representa uma das mais importantes doenças do cacauzeiro por sua grande capacidade destrutiva e pela grande velocidade com a qual se espalha (PEREIRA, 1996; PIRES, 2003).

Os esporos do fungo, disseminados pelo vento, pela água das chuvas, por sementes contaminadas, entre outros meios, contaminam os tecidos meristemáticos, provocando inchaço, superbrotamento e morte dos ramos novos; as folhas são geralmente retorcidas; nas almofadas florais aparecem brotos vegetativos e flores anormais (mais desenvolvidas) e em frutos jovens são observadas deformações, sendo que os frutos em desenvolvimento possuem aparência de “morango” ou “cenoura”. Os frutos menores apresentam-se deformados e com amadurecimento precoce. Nos frutos maiores são observadas na casca,

manchas escuras, enrugadas e duras, e internamente o escurecimento e a compactação das sementes, tornando-as inaproveitáveis na maior parte dos casos (GRAMACHO *et al.*, 1992).

A doença foi descrita pela primeira vez em 1895, após causar grandes danos em plantações costeiras do Suriname (WENT, 1904; STAHELL, 1915; citados por PEREIRA, 1996). Quase 100 anos após o primeiro registro da doença, foi verificado um segundo ciclo de expansão do fungo, que atingiu o Panamá, em 1978 e, em 1989, a Bahia (PEREIRA, 1996; PIRES, 2003).

Na Bahia os danos foram semelhantes aos observados no início do século passado, e a doença, em associação aos baixos preços internacionais para produtos de cacau, câmbio desfavorável da moeda para o setor exportador e um período com clima desfavorável à cultura, reduziram amplamente a produção brasileira. Avaliando-se as estimativas de produção de 2007/2008, verificou-se uma recuperação na produção brasileira de cacau refletindo um aumento de 12% entre 1999/2000 e 2006/2007 (FAO, 2008). Isso indica que as pesquisas em busca do controle do fungo causador da vassoura-de-bruxa ou de resistência de cacaueiros à doença, seja por melhoramento genético, uso de fungicidas, manejo da lavoura, entre outros métodos, estão promovendo efeitos positivos.

3.1 Modificações no cacaueiro causadas pela vassoura-de-bruxa

Não foram encontrados trabalhos científicos que tenham avaliado modificações químicas, físicas e físico-químicas nas sementes de cacaueiro danificadas pelo fungo causador da vassoura-de-bruxa. Grande parte dos estudos sobre o fungo em cacau foram realizados em tecidos foliares infectados. Chaves & Gianfagna (2007), em um recente estudo, verificaram que a infecção de folhas de cacau pelo fungo da vassoura-de-bruxa induz a síntese de monômeros e oligômeros de procianidinas nas folhas infectadas e nas folhas adjacentes não infectadas dos ramos novos. As procianidinas do cacau apresentam efeito tóxico aos fungos, principalmente no basidiósporo de germinação e no tubo de alongação do germe de *Moniliophthora perniciosa* (ANDEBRHAN *et al.*, 1995 e

BROWNLEE *et al.*, 1990 citados por CHAVES & GIANFAGNA, 2007). Leal *et al.* (2007) citado por Chaves & Gianfagna (2007) encontraram genes que estão associados à resistência à doença, incluindo o gene de síntese de cafeína, mas também genes relacionados à biosíntese de proantocianidinas.

Scarpari *et al.* (2005) avaliaram os teores de açúcares solúveis, aminoácidos, metilxantinas, etileno, compostos fenólicos, inclusive da classe dos flavonóides, glicerol e ácidos graxos em tecidos (caule, ramos) de cacaueiro durante a infecção e o desenvolvimento da vassoura-de-bruxa. De acordo com os autores, os teores de etileno e de proantocianidinas aumentaram com o desenvolvimento da doença e diminuíram após a morte dos tecidos infectados da planta. Demonstrou-se ainda modificação dos ácidos graxos, aumentando a relação ácido palmítico: ácido oléico em vassouras verdes em comparação com caule saudável.

Aneja & Gianfagna (2001) verificaram que o teor de cafeína de plantas de cacau infectadas com o fungo foi 7 a 8 vezes maior em relação ao de plantas não infectadas. O estudo demonstrou que a infecção dos tecidos das plantas pelo fungo pode gerar mecanismos bioquímicos de defesa, evidenciados pelo aumento dos níveis de metilxantinas e de compostos fenólicos.

Omokolo Ndoumou *et al.* (1996) avaliaram frutos e sementes de três clones de cacaueiro durante sua infecção pelo fungo *Phytophthora megakarya*, causador da doença conhecida como podridão parda e verificaram maiores teores de compostos fenólicos, especialmente da classe dos flavonóides (flavonóis) e ácidos hidrocínâmicos. Os teores de aminoácidos também aumentaram com o decorrer da infecção. A podridão parda é encontrada em todos os países produtores de cacau (DANTAS NETO *et al.*, 2005). As perdas na produção de cacau causadas em áreas afetadas por essa doença são bem menores em relação às causadas em áreas com a vassoura-de-bruxa (20 a 30% em relação a até 100%) (DANTAS NETO *et al.*, 2005).

Devido à constatação de que sementes de cacau danificadas pelo fungo causador da vassoura-de-bruxa eram misturadas com sementes de cacau saudáveis para a realização da fermentação na região amazônica produtora de cacau brasileira, Almeida (1987) realizou um estudo para avaliar a sobrevivência do fungo causador da vassoura-de-bruxa durante a fermentação de cacau, por meio da mistura de 200 Kg de sementes de cacau saudáveis com 20 Kg de sementes provenientes de frutos infectados pela vassoura-de-bruxa. As sementes, placentas e cascas dos frutos infectados pela vassoura-de-bruxa foram envolvidas em tecido e colocadas no centro e na superfície da massa em fermentação. Também foram misturadas à massa 20 vassouras (ramos secos infectados pelo fungo da vassoura-de-bruxa) em fase de produção de basidiocarpos. Durante a fermentação, os isolamentos microbiológicos diários realizados não identificaram a presença do patógeno em estado viável na massa em fermentação. Além disso, verificou-se que as reações e os produtos formados durante a fermentação, como ácidos e outros compostos e a sua difusão para os cotilédones limitaram o desenvolvimento do fungo, mas não eliminaram seu micélio nas vassouras.

Cabe destacar que as sementes do cacau contêm de 12 a 20% de seu peso seco e desengordurado de polifenóis, teor considerado bastante elevado em comparação a outros vegetais (KIM & KEENEY, 1984; SANBONGI *et al.*, 1998; BRITO, 2000; SANCHEZ-RABANEDA *et al.*, 2003; EFRAIM *et al.*, 2006). Segundo LANGE & FINCKE (1970) citados por WOLLGAST & ANKLAM (2000), cotilédones de sementes despigmentadas do cacau (cotilédones brancos ou violáceo-claros) apresentam teor 33% mais baixo de compostos fenólicos em relação às sementes pigmentadas (coloração violácea intensa). Os polifenóis presentes no cacau têm sido alvo de diversas pesquisas devido aos efeitos benéficos à saúde, entre os quais se destacam: capacidade de auxiliar o sistema imunológico, atividade antioxidante na prevenção de certos tipos de cânceres e doenças cardiovasculares, entre outros. 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 & 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). De acordo com Mckim (1997), o consumo regular de doses elevadas de cafeína pode causar dores de cabeça ou enxaquecas.

4. SELEÇÃO DE CULTIVARES DE CACAUEIRO

Duas linhas básicas têm sido utilizadas tradicionalmente no melhoramento do cacaueiro: seleção de clones e seleção de variedades híbridas (PIRES, 2003). Os primeiros trabalhos de seleção de clones foram conduzidos em Trinidad, na década de 30, resultando na série ICS. Alguns desses genótipos foram cruzados com clones resistentes à vassoura-de-bruxa: Scavina 6 e 12. A seleção dentro dessas progênies originou a série TSH. A série TSA surgiu do cruzamento de Scavinas com clones Amazônicos (FREEMAN, 1968; BARTLEY, 1994, citados por PIRES, 2003).

Recentemente, o interesse por clones retornou com especial atenção na Malásia e em alguns países da América Latina como a Colômbia, onde são distribuídos, principalmente, clones TSH e TSA, obtidos em Trinidad. No Equador, o clone CCN 51, de alta produtividade, resistente à vassoura-de-bruxa e resultante de dois ciclos de seleção conduzidos por um agricultor, está sendo amplamente cultivado juntamente com clones TSH, TSA e EET (PIRES, 2003).

No contexto da recuperação das lavouras cacaueiras da Bahia, torna-se relevante destacar o trabalho do Centro de Pesquisas de Cacau – CEPEC da Comissão Executiva para o Plano da lavoura Cacaueira - CEPLAC, que vem concentrando esforços para a obtenção de variedades clonais e de progênies híbridas que apresentem tanto resistência a pragas e doenças como elevada produtividade. Para o desenvolvimento das variedades clonais, a principal fonte de resistência à vassoura-de-bruxa utilizada foi o clone Scavina 6, que se caracteriza por frutos e sementes pequenos e boa capacidade de combinação com outros clones em relação ao número de frutos por planta. Com base nessa fonte de resistência, o CEPEC passou a indicar, para plantio comercial, a variedade seminal Theobahia 1, fruto do

cruzamento dos tipos genéticos SCA 6 (*Forastero* Alto Amazônico) e ICS 1 (Trinitário) em 1995, nove outras variedades clonais desde 1997 (PINTO & PIRES, 1998) e diversos clones a partir de então. Contudo, é importante ressaltar que o fungo causador da vassoura-de-bruxa apresenta elevada variabilidade genética e novas fontes de resistência estão sendo trabalhadas para a ampliação da estabilidade e durabilidade da resistência à doença (PINTO & PIRES, 1998; PIRES, 2003).

O programa de melhoramento genético do cacauero da forma como vem sendo conduzido no Brasil, certamente resultará no aumento da produtividade de amêndoas de cacau a médio e longo prazo. No entanto, cabe ressaltar a importância da avaliação das características químicas, físicas, físico-químicas e sensoriais, bem como o desempenho tecnológico de produtos finais elaborados a partir dos clones desenvolvidos.

Mesmo com todos os esforços na busca por variedades clonais resistentes à doença vassoura-de-bruxa, verifica-se ainda uma grande quantidade de cacaueros do tipo comum, que é susceptível à doença. Segundo Bondar (1920) e Miranda (1947) citados por Vello & Garcia (1971), o Cacau Comum foi a primeira variedade de cacau introduzida na Bahia e a mais disseminada no início da implantação da cultura na região. O Cacau Comum foi trazido para a Bahia em 1746 do Estado do Pará por Luiz Frederico Warneaux. Posteriormente, a ampla distribuição dessa variedade na região ocorreu devido a sua boa produtividade, rusticidade e tamanho das sementes, fatores considerados determinantes para sua escolha pelos cacauicultores (VELLO & GARCIA, 1971).

5. PESQUISAS SOBRE A INFLUÊNCIA GENÉTICA NA QUALIDADE DO CACAU

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 (CROSS,

1999). Porém, algumas pesquisas têm permitido maior compreensão dos fatores positivos e negativos ao sabor do chocolate influenciados por variações genéticas do cacau.

Estudos realizados pelo ACRI (American Cocoa Research Institute) em 1991 demonstraram que alguns híbridos da Estação de Pesquisas de Cacau da Costa Rica (CATIE) apresentavam características de aroma e sabor inferiores em relação a outros materiais estudados (MATLIK, 1994).

Trabalhos conduzidos por Clapperton *et al.* (1993, 1994), na Malásia, comprovaram a influência de genótipos nas características sensoriais de liquors de cacau e chocolate de variedades Amelonado (AML), quatro clones Amazônicos (IMC67, NA 33, PA 7 e Scavina 12) e um material *Criollo* (U1T1). Os principais atributos sensoriais avaliados foram a intensidade de sabor e aroma de cacau, acidez, amargor e adstringência. Os atributos de amargor e adstringência verificados sensorialmente foram fortemente correlacionados com os teores de metilxantinas (especialmente a cafeína) e de polifenóis (catequina, epicatequina e procianidinas). Os mesmos genótipos foram avaliados na Bahia - Brasil, onde as condições edafo-climáticas são distintas. Os resultados sensoriais encontrados para os diferentes genótipos foram similares àqueles verificados em Sabah, na Malásia, por Clapperton e colaboradores (FIGUEIRA *et al.*, 1997). Lambert *et al.* (1996) encontraram grande diversidade genética das sementes de 35 acessos da Amazônia Brasileira com relação ao teor de gordura, dureza, composição em ácidos graxos e teor de metilxantinas (teobromina e cafeína). Sukha *et al.* (2008) utilizaram o mesmo sistema de fermentação de Clapperton *et al.* (1993) e Figueira *et al.* (1997) para a otimização de um protocolo de avaliação sensorial de *liquors* de Gana e de clones comerciais de Trinidad. Torna-se importante destacar que nesses trabalhos, uma vez que as fermentações foram realizadas em pequenas quantidades (em alguns casos de 1 a 3 Kg) e que as sementes com polpa de grande parte dos genótipos avaliados foram colocadas em uma mesma caixa de fermentação com quantidades maiores de outras sementes com polpa, particularidades da etapa de fermentação de cada material não puderam ser avaliadas, bem como as possíveis variações na qualidade final de cada material decorrentes do processo fermentativo.

Zamalloa (1994) avaliou 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 cacauzeiro 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.

Cubbero *et al.* (1993) avaliaram o efeito de genótipos sobre o processo fermentativo de cacau em Costa Rica e Turrialba. Foram avaliados 4 grupos distintos: mesclas de genótipos nacionais do Equador; mescla de genótipos Trinitários, mescla de genótipos *Forastero* Alto-Amazônico e *Forastero* Baixo-Amazônicos (Catongo). Foram avaliados materiais fermentados e não fermentados, por meio de determinações físicas, físico-químicas e químicas. Bucheli *et al.* (2000), desenvolveram um método para avaliação sensorial e física de sementes de cacau, buscando encontrar materiais genéticos do Equador que apresentassem características sensoriais do cacau Arriba, considerado um cacau com sabor fino e especial. Luna *et al.* (2002) estudaram a contribuição da composição química no sabor e aroma de *liquors* de cacau do Equador, de uma população proveniente de autopolinização de clones EET 95 (Nacional do Equador x Venezuelano Amarillo) cultivados em uma mesma fazenda em Quevedo - Equador. Lambert *et al.* (1996) avaliaram a diversidade genética de sementes de trinta e cinco genótipos de cacauzeiro da Amazônia brasileira – Cacau da Amazônia Brasileira (CAB). Os materiais foram selecionados para representar regiões distintas da Amazônia brasileira. Foram avaliados o teor e a dureza da manteiga de cacau, além da composição em ácidos graxos, em triacilgliceróis e de metilxantinas. Os resultados indicaram grande variação entre os materiais estudados. Características similares foram verificadas para materiais originados de uma mesma região.

Devido ao crescente interesse no elevado teor de compostos fenólicos presentes no cacau (SANBONGI *et al.*, 1998; BRITO, 2000; SANCHEZ-RABANEDA *et al.*, 2003; EFRAIM *et al.*, 2006), Niemenak *et al.* (2006) realizaram estudo comparativo sobre as

diferenças no conteúdo de compostos fenólicos de vários clones de cacau cultivados em Camarões – África e Efraim *et al.* (2006) avaliaram os teores de compostos fenólicos de diferentes genótipos de cacau cultivados no Vale do Ribeira – SP – Brasil. Ambos os estudos verificaram diferenças no teor de compostos fenólicos em relação aos genótipos.

De acordo com Cubbero *et al.* (1993), aromas e sabores particulares de cacau são determinados não apenas pelas características de processo (fermentação, secagem e torração), como também pela variedade do cacau. Entre os diversos tipos de cacau, o amelonado representa maioria em âmbito mundial. É encontrado principalmente na África Ocidental (amelonado africano) e no Brasil (comum). O chocolate produzido com amêndoas deste cacau é caracterizado por apresentar forte sabor. De acordo com Clapperton *et al.* (1993), a utilização de técnicas adequadas de pré-processamento, desde a colheita e abertura dos frutos até a obtenção de produtos como o *liquor* de cacau, bem como a utilização da análise sensorial como ferramenta podem auxiliar no entendimento da influência das características genéticas no aroma e sabor do chocolate. 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. Ainda que se tenha dados de alguns trabalhos conduzidos com genótipos de cacau e de sua influência nas características sensoriais, físicas e químicas, não há uma conclusão concreta e generalizada sobre a real influência de genótipos no sabor do chocolate (BUCHELI *et al.*, 2000).

Cabe ressaltar que ainda são escassos trabalhos que tenham avaliado o desempenho tecnológico de genótipos de cacau na produção de chocolates.

6. PRÉ-PROCESSAMENTO DO CACAU

6.1 Fermentação

O pré-processamento do cacau se inicia com a colheita dos frutos maduros, que é feita manualmente. Posteriormente, os frutos são partidos evitando-se que as sementes sejam danificadas. As sementes envoltas em uma polpa mucilaginosa são então submetidas à fermentação, etapa essencial para a obtenção de amêndoas de boa qualidade (HANCOCK & FOWLER, 1994). De acordo com Lagunes-Gálvez *et al.* (2007), a fermentação é uma das etapas realizadas pós-colheita que mais afetam a qualidade dos produtos obtidos a partir do cacau.

De acordo com Sanchez *et al.* (1985); Sanchez (1989) e Gotsch (1997), citados por Lagunes-Gálvez *et al.* (2007), a fermentação provoca a liquefação da polpa que envolve as sementes, bem como a perda do poder de germinação. Com isso, tornam-se viáveis uma série de reações bioquímicas que contribuem de forma significativa para a redução do amargor e da adstringência e permitem o desenvolvimento de precursores do sabor característico de produtos de cacau (PEZOA-GARCÍA, 1989; BAREL, 1997; BRITO, 2000).

No início da fermentação, devido à sua consistência física, a polpa ocupa os espaços vazios entre as sementes de cacau, não permitindo a presença de oxigênio. O baixo pH e o elevado teor de açúcares da polpa que envolve as sementes, associados à baixa concentração de oxigênio no meio, favorecem o desenvolvimento de leveduras, que convertem inicialmente o açúcar em álcool. Algumas linhagens de leveduras são capazes ainda de produzir enzimas que hidrolisam a polpa, tornando-a líquida. O ácido cítrico, principal ácido orgânico da polpa, é metabolizado pelos microrganismos provocando o aumento do pH nas 48 horas iniciais da fermentação. A elevação do pH associada a um aumento da temperatura na presença de etanol que é produzido por leveduras, criam um ambiente pouco favorável a estes microrganismos. Por outro lado, o desenvolvimento de bactérias lácticas, que são tolerantes a essas condições e à baixa concentração de oxigênio, é

favorecido. Dessa forma, para impedir o desenvolvimento massivo de bactérias lácticas que afetam de forma negativa o desenvolvimento dos precursores de sabor quando presentes em grande quantidade, deve-se realizar a oxigenação da massa em fermentação por meio de seu revolvimento. Esse procedimento de mistura e homogeneização da massa em fermentação é de extrema importância na uniformização da fermentação, e, pelo contato com o oxigênio do ambiente favorece, principalmente, o desenvolvimento das bactérias acéticas, que produzem ácido acético a partir do álcool presente no meio (LOPEZ, 1974). Com isso, destacam-se duas fases bastante distintas na fermentação de cacau: a fase anaeróbica, governada principalmente por leveduras e a fase aeróbica, promovida principalmente por bactérias acéticas (BECKETT, 1994; BRITO, 2000; LAGUNES-GALVÉZ *et al.*, 2007). Na primeira fase da fermentação, verifica-se uma moderada reação exotérmica e de acordo com Ravelomanana *et al.* (1984); Barel (1998) e Jespersen *et al.* (2005) citados por Lagunes-Gálvez *et al.* (2007), verifica-se a liberação de 93,3 kJ por molécula de glicose e demais açúcares da polpa consumidos, provocando o aumento da temperatura da massa em fermentação para 35-40 °C. Na fase aeróbica, por sua vez, a produção de ácido acético a partir de etanol é uma reação fortemente exotérmica, que libera 496 KJ por molécula de etanol convertida a ácido acético, o que provoca um substancial aumento da temperatura da massa em fermentação, que alcança aproximadamente 50°C (LAGUNES-GÁLVEZ, 2002).

Mesmo com a produção de ácido acético durante a fermentação, o pH da massa continua aumentando pela volatilização desse ácido durante os sucessivos revolvimentos que são realizados, além de sua oxidação a gás carbônico e água e a metabolização do ácido cítrico durante essa etapa. A alta temperatura e a alta concentração de ácido acético que se difunde para o interior dos cotilédones, juntamente com outras reações bioquímicas ocorrendo paralelamente, são os principais responsáveis pela morte das sementes (BAREL, 1987).

A quantidade de sementes que são fermentadas também é um fator de grande importância para que a fermentação seja bem sucedida. De forma geral, os requisitos para

uma boa fermentação são a manutenção das temperaturas geradas e uma boa homogeneização e aeração da massa em fermentação na fase aeróbica. Nesse sentido, caixas de madeira de 75 a 90 cm de profundidade, que permitam a fermentação de até 1.000 Kg de sementes com polpa são desejáveis (BAREL, 1997; THOMPSON *et al.*, 2001). Quantidades pequenas de sementes com polpa para fermentação são indejáveis, uma vez que podem dificultar a manutenção das temperaturas alcançadas (45-50°C).

De acordo com Thompson *et al.* (2001), a técnica de fermentação é variável, dependendo do país, da região e do porte do produtor de cacau (grandes ou pequenas propriedades), a despeito dos esforços de grandes processadoras de cacau para a padronização dessa importante etapa do beneficiamento. Em regiões da América Central, a fermentação, geralmente, é realizada em plataformas de secagem, nas quais as sementes com polpa são espalhadas durante o dia e reunidas em montes durante a noite como forma de manter o calor. Essa prática mostrava-se eficiente quando a maior parte do cacau produzido na região era do tipo *Criollo*. Porém, atualmente, grande parte do material é constituída por híbridos do grupo *Forastero*, sendo essa prática inadequada para esse tipo de cacau. Em Gana, em outros países africanos e esporadicamente na região amazônica brasileira, a fermentação é realizada em montes, sendo que as quantidades podem variar consideravelmente, de 25 a 1.000 Kg de sementes com polpa. Para as quantidades maiores, é necessário o revolvimento diário da massa em fermentação, enquanto para volumes menores isso não é necessário (THOMPSON *et al.*, 2001). Em algumas regiões de Gana, na Nigéria e nas Filipinas, a fermentação é geralmente realizada em cestos. Em fazendas de grande porte, como na Bahia, maior produtor brasileiro de cacau, a fermentação é realizada em caixas de madeira de aproximadamente 1 m³. Contudo, a maior parte do cacau no mundo é cultivado em menor escala, em pequenas propriedades com condições precárias de mão-de-obra e mecanização. Nesse caso, a fermentação é realizada de diversas formas, como por exemplo em montes de sementes com polpa cobertas com folhas de bananeira, os quais permanecem ao lado ou na própria área de cultivo do cacau, em caixas utilizadas no transporte de frutas, em sacos, em plataformas de secagem, entre outros (THOMPSON *et al.*, 2001).

De uma forma geral, a fermentação é realizada durante 2 a 8 dias, sendo que materiais do tipo *Criollo* geralmente são fermentados de 2 a 3 dias e do tipo *Forastero* de 5 a 8 dias. A duração da fermentação também está relacionada com a disponibilidade de cacau no mercado (BECKETT, 1994), ou seja, quanto menor a quantidade de amêndoas fermentadas e secas disponíveis para compra, menor tende a ser o tempo que o produtor de cacau fermenta as sementes.

6.2 Secagem

Concluído o processo fermentativo, deve-se iniciar imediatamente a operação de secagem, a fim de reduzir a umidade das amêndoas de 40 - 50% para 6 - 8%, inibindo reações bioquímicas indesejáveis e impedindo o crescimento de microrganismos indesejáveis. Durante o processo de secagem e dependendo das condições do ambiente, como por exemplo quando um período com ausência de sol é contínuo, fazendo com que a velocidade de perda da umidade das amêndoas seja lenta, poderá ser favorecido o desenvolvimento microbiano, totalmente indesejável nessa etapa. A secagem das amêndoas de cacau pode ser realizada de forma natural, ao sol, ou artificial, em secadores rotativos ou fornos (HANCOCK & FOWLER, 1994). No Brasil, para a secagem natural são utilizadas instalações construídas em alvenaria de pedra ou tijolos, com lastro de madeira de 6 a 12 m de comprimento e cobertura de zinco ou alumínio móvel, com rodas e trilhos de ferro, denominadas barcaças. A velocidade de secagem deve ser tal que permita a migração da umidade e de compostos voláteis, como o ácido acético formado na fermentação, do interior dos cotilédones para a superfície da amêndoa, de forma que sejam eliminados uniformemente. Quanto mais rápida a secagem, conforme geralmente ocorre em secadores nos quais as temperaturas alcançadas são superiores a 40°C, maior é a acidez final das amêndoas, pela dificuldade em se eliminar o ácido acético. Durante a etapa de secagem a volatilização do ácido acético faz com que o pH das amêndoas de cacau se eleve e permaneça entre 5,0 e 6,0. Dessa forma, cuidados são requeridos no sentido de evitar o desenvolvimento de fungos produtores de toxinas e de microrganismos putrefativos que afetam o sabor da amêndoa. Durante a secagem, deve-se ainda evitar o contato das amêndoas com a fumaça produzida pela combustão da madeira utilizada como fonte de

aquecimento de secadores artificiais, pois essa afeta o sabor das amêndoas de cacau, bem como dos produtos obtidos.

Além da importância das etapas de fermentação e secagem à qualidade dos produtos obtidos, as condições de estocagem das amêndoas também devem ser observadas, evitando-se o armazenamento de grandes volumes em ambientes com elevada umidade e pouca circulação de ar, uma vez que as amêndoas de cacau são higroscópicas e seu ganho de umidade durante o armazenamento pode levar ao desenvolvimento de fungos e outros microrganismos indesejáveis. Uma forma de evitar o ganho de umidade durante o armazenamento é garantir que a umidade das amêndoas esteja entre 6 e 7%, já que a umidade relativa do ambiente de produção e beneficiamento inicial do cacau é elevada. Deve-se controlar também, na estocagem, focos de infestações por insetos e outras pragas (BECKETT, 1994).

A principal forma de avaliar a qualidade das amêndoas fermentadas e secas é a prova de corte, teste utilizado mundialmente como forma de classificar e caracterizar lotes quanto à sua qualidade. O teste 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 (SHAUGHNESSY, 1992).

7. OBTENÇÃO DE PRODUTOS DE CACAU

7.1 Etapa de limpeza e classificação

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 (KLEINERT, 1994). Essa etapa é essencial para proteção dos equipamentos envolvidos nos processos posteriores contra danos e também é de extrema importância ao pleno desenvolvimento de sabor. São utilizados equipamentos e técnicas combinados que permitam a remoção dos diferentes tipos de sujidades, como peneiras, mesas densimétricas, imãs e sistemas de vibração e aspiração (KLEINERT, 1994). Em seguida, as amêndoas inteiras podem ser diretamente torradas ou então são quebradas em pequenos fragmentos, denominados *nibs* que devem ser separados de forma eficiente da testa (casca que envolve as amêndoas) e do gérmen, previamente à torração. O principal ponto de controle nessa operação é a máxima separação da testa dos *nibs*, sendo que o limite máximo estabelecido pelo Codex Alimentarius de testa e gérmen em *liquor*, cacau em pó ou chocolate é de 5,0% do peso desengordurado (FAO, 2001), e a ausência de pequenos fragmentos de *nibs* na testa e gérmen que serão descartados (KLEINERT, 1994). O objetivo dessa etapa é a obtenção de *nibs* com tamanho adequado e uniforme para auxiliar na remoção da testa. Industrialmente, a separação é geralmente realizada por uma combinação de insuflação de ar e peneiragem (separação por densidade e tamanho).

7.2 Torração

A torração é um tratamento térmico fundamental à obtenção das características de qualidade do chocolate (KLEINERT, 1994; LOPES *et al.*, 2003). Em condições adequadas, há o desenvolvimento máximo do potencial aromático da amêndoa (ZAMALLOA, 1994). Segundo Pezoa- García (1989); Brito (2000) e Lopes *et al.* (2003), as condições de torração dependem de vários fatores, como a origem e o tipo da amêndoa, período de colheita, tratamentos anteriores à torração, umidade e tamanho das amêndoas ou dos *nibs*. Por sua vez, as reações químicas envolvidas são afetadas por parâmetros de tempo e temperatura de torração e fatores como pH, teores de umidade e de lipídios totais e a presença, o tipo e

os teores de compostos aromáticos, açúcares redutores e aminoácidos livres. Durante a torração, a reação de Maillard é a principal responsável pela formação do sabor desejável do cacau. No estágio inicial, a reação envolve a condensação de grupos carbonila de açúcares redutores com grupos amina provenientes de aminoácidos livres, seguida da degradação dos produtos originados, formando diversos compostos oxigenados (PEZOA-GARCÍA, 1989; ROSLI *et al.*, 1996). Compostos voláteis como pirazinas, carbonilas, hidrocarbonos, cetonas, furanos, fenóis e outros compostos heterocíclicos são produzidos por interações com diferentes compostos oxigenados formados durante a torração (ROSLI *et al.*, 1996).

Além de ser a etapa na qual ocorre a formação do sabor característico dos produtos de cacau, a torração também é importante para a eliminação do ácido acético e de outros compostos voláteis indesejáveis formados durante a fermentação. Para auxiliar nessa eliminação, a umidade inicial das amêndoas de cacau ou *nibs* (dependendo da forma de torração que será utilizada) deve estar entre 5 e 7%. Nessa faixa de umidade, a eliminação dessas substâncias é favorecida por estarem misturadas à água, que sofre vaporização devido ao calor. Com isso, durante a torração é desejável que a umidade não seja eliminada de forma demasiadamente rápida, evitando-se a desidratação da superfície dos cotilédones. Uma desidratação rápida provoca a formação de uma película na superfície externa do cotilédone quebrado (*nib*) ou da amêndoa inteira, que impede a evaporação da água (MEINERS *et al.*, 1984). Na primeira fase da torração, deve-se trabalhar com temperaturas próximas a 100 °C e em tambores fechados, permitindo a formação de uma atmosfera úmida criada pela própria umidade das amêndoas de cacau ou dos *nibs*, que previne a intensa desidratação de suas superfícies, e permite que permaneçam porosas, o que facilitará a remoção das substâncias voláteis indesejáveis que se encontram em seu interior por capilaridade.

7.3 Liquor ou massa de cacau

Para a obtenção da massa de cacau, os *nibs* torrados devem ser pré-moídos em moinhos de martelos, pinos ou discos e posteriormente é realizada a moagem fina em

moinhos de discos (moinhos triplos), de esferas ou de cilindros até a granulometria de 20 a 40 µm (NIEDIEK, 1994). As propriedades reológicas da massa de cacau são parâmetros de grande importância, pois afetam o processamento e a obtenção dos produtos como manteiga e pó de cacau e chocolates (TANERI, 1976; NIEDIEK, 1994; GILABERT-ESCRIVÁ, 1997), e dependem de fatores como os teores de umidade e de manteiga de cacau, temperatura, bem como tempo e da forma de armazenamento da massa de cacau (TANERI, 1976; GILABERT-ESCRIVÁ, 1997). Independentemente da utilização para a qual será destinada, a massa de cacau deve estar isenta de fungos termoresistentes e bactérias (MEURSING, 1994).

Após a obtenção do *liquor* pelos processos de moagem realizados nos *nibs* de cacau, deve-se realizar um tratamento térmico, que tem como objetivos a eliminação de umidade para melhoria das propriedades reológicas e a eliminação de ácidos graxos de cadeia curta e de outras substâncias voláteis indesejáveis formadas durante a fermentação (MEINERS *et al.*, 1984; THORZ & SCHIMITT, 1984).

7.4 Manteiga de cacau

A manteiga de cacau é um produto de elevado valor econômico e sua extração para fins alimentícios é realizada por prensagem da massa de cacau ou dos *nibs* em prensa hidráulica, seguida de desodorização e filtragem. Dependendo do fim a que se destina, a manteiga também pode ser extraída por prensa contínua “expeller” ou por solvente, sendo que esses dois métodos não são recomendados para fins alimentícios. A eficiência de extração da manteiga de cacau por prensagem hidráulica a partir do *liquor* é afetada, entre outros fatores, pela distribuição do tamanho das partículas, pela pressão exercida, temperatura e umidade do *liquor* (VENTER *et al.*, 2007). De acordo com Sing & Bergale (1990); Sadowska *et al.* (1996) e Daufare *et al.* (1999) citados por Venter *et al.* (2007), a umidade influencia a resistência mecânica, a elasticidade e a compressibilidade de sementes oleaginosas. Industrialmente, o *liquor* é prensado em temperaturas entre 90 e 110 °C, com umidade variando de 1,0 a 1,5%, sendo que estudos realizados para avaliação da eficiência

verificaram que quanto menor a umidade do produto, maior é a eficiência de extração (VENTER *et al.*, 2007).

Após a prensagem, a manteiga de cacau obtida deve ser centrifugada ou filtrada para a remoção dos resquícios de sólidos de cacau e pode ser desodorizada como forma de eliminar os compostos que impactam de forma negativa o sabor e para padronizar sua cor. Geralmente essa etapa é realizada fisicamente por destilação com vapor à vácuo, sendo parâmetros de importância o vácuo, a temperatura de injeção de vapor e a umidade final.

Em sua composição, segundo Minifie (1989) e Luccas (2001), são encontrados predominantemente os ácidos graxos saturados: esteárico (C18:0), de 32 a 36% e palmítico (C16:0), de 24 a 27% e o ácido oléico (C18:1), monoinsaturado, na proporção de 33 a 37%.

7.5 Cacau em pó

O cacau em pó é um produto de grande importância comercial, pois além de seu uso em bebidas achocolatadas, também é um ingrediente que confere cor, sabor e aroma de chocolate a diversos produtos de confeitaria e panificação (BISPO, 1999). É obtido a partir da moagem da torta resultante da prensagem da massa ou *liquor* de cacau, podendo conter ainda de 10 a 20% de manteiga de cacau. Os principais parâmetros de qualidade avaliados no pó de cacau são o pH, a cor e o sabor (MEURSING, 1994).

7.6 Chocolate

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).

A produção de chocolate pelo método convencional é realizada seguindo as etapas de mistura dos ingredientes, refino, conchagem e temperagem, sendo que para a produção de chocolates em tablete, a massa temperada é depositada em moldes que em seguida são

resfriados. Após a desmoldagem, os chocolate em tablete são embalados e armazenados em condições adequadas de temperatura.

A mistura consiste na homogeneização dos ingredientes em pó (açúcar, leite e derivados) com os ingredientes líquidos e semi-líquidos (manteiga de cacau e *liquor* de cacau fundidos), por tempo suficiente para os transformarem em uma massa plástica adequada para o refino. Essa etapa é feita, em geral, em equipamentos encamisados a 40°C para garantir que a manteiga de cacau permaneça fundida (MINIFIE, 1989; BECKETT, 1994).

O refino promove a redução do tamanho das partículas dos ingredientes tornando-os imperceptíveis durante a degustação do produto final. O tamanho das partículas da massa refinada não deve ser superior a 25 µm para que o consumidor não perceba areosidade ao degustar o chocolate (LUCCAS, 2001). Esta etapa pode afetar as propriedades reológicas do chocolate, sendo que, segundo Chevalley (1994), em faixas nas quais se tem mais de 80% de partículas com tamanho menor ou igual a 20 µm, verifica-se o aumento da viscosidade plástica e do limite de escoamento de Casson.

Durante a conchagem, ocorre a volatilização de compostos indesejáveis formados durante a fermentação das sementes de cacau (ácidos como o acético), a diminuição da umidade proveniente dos ingredientes e a formação de aromas desejáveis por reações como a de Maillard. Nesta etapa, são necessários o cisalhamento, a agitação e o aquecimento da massa entre 50 e 70°C, dependendo do tipo de chocolate desejado (ao leite, branco ou amargo). Quanto maior o tempo de conchagem, melhor é o desenvolvimento e arredondamento do sabor a melhoria das propriedades reológicas. Dessa forma, no método tradicional, essa etapa pode levar de 8 a 96 horas, dependendo do tipo de produto que se deseja e da eficiência do equipamento utilizado (BECKETT, 1994). A qualidade do chocolate é avaliada por meio de suas características químicas, físicas, físico-químicas e sensoriais (BECKETT, 1994).

Apesar do método convencional ser o mais utilizado mundialmente para a fabricação de chocolates, métodos alternativos que integram as etapas de mistura, refino e conchagem propiciam a diminuição do número de equipamentos requeridos e consequentemente o investimento inicial para implantação da unidade fabril de chocolate, além da redução de funcionários e da economia de espaço físico para instalação. Como exemplos de sistemas alternativos de fabricação de chocolate e também de recheios em base gordurosa encontram-se sistemas integrados que substituem o misturador encamisado, refinador de cilindros e concha por sistemas com moinho de esferas ou moinho de pás (BECKETT, 1994).

Devido ao comportamento polimórfico da manteiga de cacau, ou seja, à sua capacidade de se solidificar em diferentes formas cristalinas, dependendo da temperatura e do tempo de cristalização, agitação e da taxa de resfriamento (MINIFIE, 1989; LUCCAS, 2001; QUAST *et al.*, 2007), o chocolate deve ser pré-cristalizado ou temperado antes das etapas de moldagem ou recobrimento. A temperagem é uma etapa do processamento que consiste na indução à formação de núcleos de cristais do tipo beta (V), de maior estabilidade termodinâmica (DHONSI & STAPLEY, 2006), influenciando de forma positiva as características de qualidade do produto final como dureza e quebra à temperatura ambiente (*snap*), completa fusão na boca, brilho, contração durante a desmoldagem e rápido desprendimento de aroma e sabor na degustação. O processo de temperagem inicia-se com o aquecimento do chocolate em temperaturas próximas a 40 °C permitindo a fusão completa da fase gordurosa. Em seguida é feito um resfriamento controlado, sob agitação, para induzir à cristalização da gordura. A taxa de resfriamento deve ser próxima a 2,0 °C/min. Nessa etapa, além da formação dos cristais desejados do tipo beta (V), também ocorre a formação de quantidades menores de cristais indesejáveis como por exemplo do tipo beta-prima, instável, de temperatura de fusão mais baixa, que é eliminado com um aquecimento da massa a 30-32 °C (LUCCAS, 2001; BRIGGS e WANG, 2004 citados por QUAST *et al.*, 2007).

8. FORMAÇÃO DO SABOR CARACTERÍSTICO DO CHOCOLATE

Um dos atributos de maior importância do chocolate consiste em seu sabor, inigualável, conhecido e apreciado mundialmente. Tal sabor é constituído de inúmeros compostos cuja formação depende das características genéticas do cacau e do ambiente de cultivo, bem como das operações de processamento que se iniciam na propriedade agrícola, como a colheita, fermentação e secagem e continuam nas indústrias processadoras de cacau e de chocolate. Em relação à influência do processamento à formação do sabor característico de chocolate, destacam-se principalmente reações que ocorrem nas etapas de fermentação e secagem das sementes de cacau, torração das amêndoas, *nibs* ou massa de cacau e conchagem do chocolate.

Durante a fermentação, ocorrem importantes reações bioquímicas que, por meio da hidrólise de proteínas e de açúcares presentes na semente de cacau e na polpa em conjunto com a elevação da temperatura a valores próximos a 50 °C, levam à formação dos precursores de sabor, em particular aminoácidos livres e açúcares redutores (BAREL *et al.*, 1985; PETTIPHER, 1986 citados por PEZOA-GARCÍA, 1989). Algumas pirazinas de grande importância ao sabor característico de chocolate também são formadas durante a fermentação. Barel *et al.* (1985) e Gallois & Grimont (1985) citados por Zamalloa (1994), relataram que as metilpirazinas encontradas nas amêndoas, como a tetrametilpirazina, são produzidas durante a fermentação por microrganismos como *B. Subtilis*. Os mesmos autores relatam que sua concentração aumenta a partir de 48 h de fermentação sendo a máxima verificada no sexto dia desta etapa, e, ainda, que a trimetilpirazina, etil-pirazina e 2,3 e 2,6-dimetilpirazina também se formam lentamente durante a fermentação.

O processo de torração é fundamental na obtenção das características sensoriais de qualidade do chocolate, pois segundo Pezoa-García (1989) durante essa etapa de aquecimento, ocorrem modificações importantes como a diminuição dos ácidos voláteis indesejáveis (como o acético), a inativação das enzimas que podem degradar a manteiga de cacau, a perda de água e o desenvolvimento do aroma e da cor típicos do chocolate. O

desenvolvimento do sabor durante a etapa de torração ocorre principalmente pela reação de Maillard (reação de escurecimento não enzimático) devido à presença de aminoácidos livres e açúcares redutores formados durante a fermentação. A reação de Maillard leva à produção de ésteres, hidrocarbonetos, ácidos, cetonas, aldeídos, furanos e alquilpirazinas. Essas últimas são importantes para o sabor do cacau, representando 25% do total dos componentes identificados da fração aromática do cacau torrado (BAREL *et al.*, 1985).

De acordo com Pezoa-García (1989), as pirazinas de baixo peso molecular (2-metil; 2,5-dimetil e 2,6-dimetil pirazinas) presentes no cacau torrado são produzidas principalmente no decorrer da torração, sendo que de 40 a 60% da 2,3-dimetil, 2,3,5-trimetil e tetrametilpirazina são produzidas até 20 minutos do processo de torração, embora estas já estejam presentes nas amêndoas fermentadas. A concentração desses compostos pirazínicos aumenta com o tempo de torração e a diminuição da tetrametilpirazina coincide com o início da sobre-torrção, provavelmente por volatilização, devido ao aumento da temperatura no final da torração. Visando obter o máximo potencial de sabor, Bauermeister (1981) verificou que a tetrametilpirazina e a 2,5-dimetilpirazina foram os melhores indicadores do grau ideal de torração de cacau.

A conchagem se constitui como a última etapa de importância na formação do sabor característico e desejável do chocolate. Nessa fase, verifica-se um arredondamento do sabor por meio de reações químicas que ocorrem pela combinação dos derivados de cacau com os demais ingredientes que compõem a formulação (açúcar, leite e derivados, entre outros). A redução da concentração de ácidos voláteis formados na fermentação, de compostos fenólicos e da umidade proveniente dos ingredientes são essenciais. Além disso, ocorre a formação de compostos por meio da Reação de Maillard. O envolvimento das partículas sólidas pela gordura (principalmente manteiga de cacau e em alguns casos, gordura de leite e outras gorduras substitutas da 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.

9. TENDÊNCIAS DO MERCADO DE CACAU E CHOCOLATE

De acordo com Thorton (2007), a demanda por chocolates de alta qualidade tem aumentado, sendo que os consumidores estão a cada dia se tornando mais exigentes e buscando novidades e sabores diferenciados. A procura por chocolates mais amargos, saudáveis, orgânicos, de origem está crescendo de forma que a qualidade das amêndoas de cacau é vista como pré-requisito de grande importância para a obtenção e comercialização desses novos tipos de chocolates com atributos diferenciados.

9.1 Chocolates com alto teor de cacau e com apelo saudável

Os chocolates com apelo saudável seguem a tendência em alimentos funcionais, ou seja, com benefícios à saúde além da nutrição essencial. Com isso, verifica-se um aumento da procura e do consumo de chocolates cada vez mais amargos, com teores cada vez mais altos de cacau e conseqüentemente de flavonóides naturalmente encontrados no cacau (KLINKE, 2005). Chocolates contendo outros antioxidantes intencionalmente adicionados ou misturas de frutas e ervas ricas em tais compostos, além dos chocolates com redução calórica, de açúcares e de gorduras também são tendências.

Em relação aos chocolates com alto teor de cacau, verifica-se que os consumidores estão buscando teores cada vez mais elevados não apenas pelos benefícios à saúde, mas também pelo sabor particular, que vem sendo cada vez mais apreciado (GUITTARD, 2005). No Brasil, entre 2006 e 2008, fabricantes de chocolate de pequeno, médio e grande porte lançaram chocolates com teores acima de 50% de cacau no mercado nacional, sendo essa uma tendência que já está se consolidando (BESSEL, 2008).

9.2 Chocolates de origem e varietais

O chocolate de origem é aquele produzido a partir de amêndoas de cacau cultivadas em apenas um país ou, em alguns casos, em regiões específicas de um país, conservando características particulares de clima e solo, formas de cultivo e beneficiamento que se refletem no sabor final do produto. Com isso, chocolates de origens definidas, como

Equador, Venezuela, Java, São Tomé e Príncipe, Madagascar, Brasil, entre outros, permitem uma grande variedade de sabores característicos (mais suaves ou mais intensos, frutais, florais, entre outros).

O chocolate varietal é aquele produzido com amêndoas de cacau provenientes de regiões geográficas e populações varietais determinadas, sendo que fatores genéticos além de climáticos como solo, quantidade e período de chuvas, temperatura, umidade, levam à perfis específicos de sabor (Luna *et al.*, 2002). Esse novo conceito para chocolates remete a algo ainda considerado subjetivo do ponto de vista sensorial, como as peculiaridades de sabor do cacau utilizado e do chocolate produzido, mas objetivo do ponto de vista de mercado, mostrando-se como uma excelente forma de agregar alto valor ao cacau, sendo que para produtos consagrados como uvas e vinhos; certos tipos de queijo e, mais recentemente, cafés, isso já é bastante comum.

Porém, de acordo com Guittard (2005), para que se obtenha o máximo potencial sensorial de cacaos de origem ou varietais, são essenciais processos adequados e cuidados especiais na fermentação e secagem, sendo que cada material, por ter características distintas e particulares, exige condições específicas de fermentação, secagem e até mesmo torração.

Em processos industriais de larga escala, a grande variabilidade das amêndoas de um mesmo país produtor e ainda da mistura com materiais de outros países produtores, é considerada indesejável uma vez que não permite a padronização do produto final (seja *liquor*, manteiga de cacau ou cacau em pó). Isso é contornado pela utilização de misturas (*blends*) de diferentes materiais de diferentes origens em quantidades adequadas para que se obtenha o produto final desejado. Analisando o aspecto padronização que vem sendo cada vez mais almejado industrialmente, bem como a larga escala de produção, que exige grande quantidade de matéria-prima, a fabricação de chocolates varietais ou de origem por grandes empresas torna-se pouco mais complicada, verificando-se, nesse tipo de produto, maior tendência para produtores artesanais e de pequena escala.

9.3 Chocolates *gourmet* ou *premium*

O mercado de chocolates *gourmet* ou *premium* também está aumentando, por ser o chocolate um alimento relacionado ao “bem-estar” e ao prazer. Para esse tipo de produto, exige-se uma qualidade superior desde o cultivo e beneficiamento do cacau até o seu processamento para obtenção de derivados e do próprio chocolate.

A preocupação com o meio-ambiente e com a sua sustentabilidade e a questão do comércio justo ou “fair trade” também se destacam atualmente, fazendo com que empresas processadoras de cacau e de chocolate se envolvam na promoção de programas educacionais e de conscientização nesse sentido em fazendas cacaeiras de diferentes países produtores.

Por meio de estudos financiados pela ICCO (International Cocoa Organization) e outros parceiros visando o desenvolvimento e a implementação de projetos para a estruturação e sustentabilidade do mercado de cacau e produtos derivados, tem-se procurado identificar as características que diferenciam materiais considerados finos daqueles considerados comuns ou “bulk”. Nesse contexto, um projeto realizado entre 2001 e 2006 caracterizou materiais do Equador, Papua Nova Guiné, Trinidad & Tobago e Venezuela por parâmetros físicos, químicos e sensoriais, buscando também propor métodos, padrões e instrumentos de medida que possam ser utilizados mundialmente para diferenciar cacau do tipo fino de “bulk”. Como resultado do trabalho, foram identificadas diferenças sensoriais entre os materiais estudados, além de diferenças na composição de substâncias voláteis responsáveis pelo sabor e diferenças na relação quantitativa de compostos químicos, como por exemplo das metilxantinas (ICCO, 2008).

10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, L.C. Sobrevivência do *Crinipellis pernicioso* durante a fermentação de cacau **Proceedings of 10th International Cocoa Research Conference**, Santo Domingo, República Dominicana, p. 359-362, 1987.
- ANEJA, M.; GIANFAGNA, T. Induction and accumulation of caffeine in young actively growing leaves of cocoa (*Theobroma cacao* L.) by wounding or infection with *Crinipellis pernicioso*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, n. 59, p. 13-16, 2001.
- BAREL, M. Délai d'écabossage: Influence sur les rendements et la qualité du cacao marchand et du cacao torréfié. **Café, Cacao, Thé**, v. 31, n. 2, p. 141-150, 1987.
- BAREL, M. La fermentation du cacao: le moyen de l'apprécier et de la maîtriser. **Revue des Industries Alimentaires et Agricoles**, v. 14, p. 211-214, 1997.
- BAUERMEISTER, P. Cocoa liquor roasting. **The Manufacturing Confectioner**, v.61, n.10, p. 43-45, 1981.
- BECKETT, S.T. (1994). **Industrial Chocolate Manufacture and Use**, (2ed.) London: Black Academic & Professional. 407p.
- BESSEL, L.A. fantástica fazenda de chocolate. **Associação dos Produtores de Cacau**. Disponível em < <http://www.apcacau.com> >. Acesso em 15 de setembro de 2008.
- BISPO, E.S. **Processo de alcalinização dos nibs de cacau (*Theobroma cacao* L.) e avaliação da qualidade do pó**. 1999. 198p. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1999.
- BRASIL, Secretaria de Produção e Comercialização. Agronegócio brasileiro: Desempenho do Comércio Exterior. MAPA/SPC. 104 p. 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.

- BUCHELI, P.; RIGOREAU, M.; BOULLANGER, L.; ALVAREZ, M.; SANCHEZ, J.; CIROU, L.; PÉTIARD, V.; CROUZILLAT, D. Strategy for assessing cocoa flavour of a large number of samples for selection and breeding. **Proceedings of 13th International Cocoa Research Conference**, Kata Kinobalu, Sabah, Malaysia, p. 865-870, 2000.
- CHAVES, F.C.; GIANFAGNA, T.J. Cacao leaf procyanidins increase locally and systemically in response to infection by *Moniliophthora perniciosa* basidiospores. **Physiological and Molecular Plant Pathology**. v. 70, p. 174-179. 2007.
- CLAPPERTON, J.F.; KEUNG, S.T.Y.; KEE, D.L.H.; LOCKWOOD, R. Genetic Variation of Cocoa Flavour. **Proceedings of 11th International Cocoa Research Conference**, Yamoussoukro, Côte D'Ivoire, p. 749-754, 1993.
- CLAPPERTON, J.F.; KEUNG, S.T.Y.; CHAN, J., LIM, D.H.K., LOCKWOOD, G., ROMANCZYK, L.J. AND HAMMERSTONE, J.F. The contribution of genotype to cocoa (*Theobroma cacao* L.) flavour. **Tropical Agriculture (Trinidad)**, v. 71, p. 303-308, 1994.
- COSTA, J. C. B. Situação atual do controle biológico da vassoura-de-bruxa do cacau com o uso de *Trichoderma* spp., na Bahia In: **VIII Reunião de Controle Biológico de Fitopatógenos**, 2003, Ilhéus-BA. CEPLAC, p. 6 –69. 2003.
- CROSS, E. Cocoa flavor development, **The Manufacturing Confectioner**, v. 79, n. 2, p. 70-77, 1999.
- CUBBERO, E.M; ENRIQUEZ, G.A.; HERNANDEZ, Y.T.; RODRIGUEZ, T. Efecto del genotipo sobre el proceso de fermentacion de cacao. **Proceedings of 11th International Cocoa Research Conference**, Yamoussoukro-Côte D'Ivoire, p. 729-739, 1993.
- 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.
- DHONSI, D.; STAPLEY A. G. F. The effect of shear rate, temperature, sugar and emulsifier on the tempering of cocoa butter. **Journal of Food Engineering**, v. 77, n.4, p. 936-942, 2006.
- EFRAIM, P.; TUCCI, M.L.; PEZOA-GARCÍA, N.H; HADDAD, R.; EBERLIN, M. Teores de compostos fenólicos de sementes de cacau de diferentes genótipos. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 9, n.4, p. 229-236, 2006.
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. Codex Alimentarius Standards and Codes. Codex Standard for Cocoa (cacao) Mass

-
- (cocoa/chocolate liquor) and Cake - CODEX STAN 141-1983, Rev. 1-2001. 2001. Disponível em <www.codexalimentarius.net/download/standards>. Acesso em: 10 dez. 2008.
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS - FAO. Disponível em <<http://faostat.fao.org/site>> Acesso em: 15 set. 2008.
- FARIA, J.C.; SACRAMENTO, C.K. Enraizamento e crescimento de estacas herbáceas do cacauero (clones CEPEC 42; TSH 516 e TSH 1188) em função da aplicação do ácido indolbutírico (AIB). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal-SP, v. 25, n. 1, p. 192-194, 2003.
- FIGUEIRA, A.; LAMBERT, S. V.; CARPENTER, D.; PIRES, J. L. ; CASCARDO, J. C. M. ; ROMANCZYK, L. The similarity of cocoa flavour of fermented seeds from fingerprinted genotypes of *Theobroma Cacao L.* from Brazil and Malaysia develop equivalent cocoa flavour. **Tropical Agriculture**, v. 74, n. 2, p. 132-139, 1997.
- GILBERT-ESCRIVÁ, M. V. **Comparação das propriedades reológicas da massa de cacau torrada convencionalmente e por microondas**. 88p. 1997. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos). Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1997.
- GRAMACHO, I.C.P; MAGNO, A.E.S.; MANDARINO, E.P.; MATOS, A. (1992). **Cultivo e Beneficiamento do Cacau na Bahia**, (1 ed.) Ilhéus: CEPLAC. 124p.
- GUITTARD, G.W. Origin Cocoa: Vive la Différence. **The Manufacturing Confectioner**, v.85, n. 9, p. 81-84, 2005.
- HANCOCK, B.L & FOWLER, M.S. Cocoa bean production and transport. In: BECKETT, S.T. **Industrial Chocolate Manufacture and Use**, 2ed., p. 8-25. London: Black Academic & Professional, 1994.
- ICCO - International Cocoa Organization. Disponível em <<http://www.icco.org/projects/Projects1.aspx?Id=goo2176>> Acesso em 15 de Agosto de 2008.
- 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**, 2ed., p. 55-69. London: Black Academic & Professional, 1994.

- KLINKE, A. **Autogratificação, mármore e laços**. Valor on line, São Paulo, Abr. 2005. Disponível em <<http://www.valoronline.com.br/print.htm>> Acesso em 5 de julho de 2005.
- LAGUNES-GÁLVEZ, 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**, v. 114, p.124–130, 2007.
- LAMBERT, S.V.; DIAS, A.; FIGUEIRA, A.; NETO, E.F.; NASCIMENTO, C.S.; CARDOSO, R.D. Preliminary evaluation of cocoa quality from brazilian amazon genotypes. Proceedings of 12th International Cocoa Research Conference, Salvador, Brasil, p. 501-507, 1996.
- LOPES, A.S.; PEZOA-GARCÍA, N.H.; VASCONCELOS, M.A.M. Avaliação das condições de torração após a fermentação de amêndoas de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum* Schum) e cacau (*Theobroma cacao* L.). **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 6, n. 2, p. 309-316, 2003.
- LOPEZ, A.S. **The contribution of volatile compounds to the flavour of chocolate and their development during processing**. 1974. 186p. Thesis (PhD) – Faculty of Agriculture. The University of West Indies, St. Augustine, 1974.
- LUCCAS, V. **Fracionamento térmico e obtenção de gorduras de cupuaçu alternativas a manteiga de cacau para uso na fabricação de chocolate**. 2001. 188p. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2001.
- LUNA, F.;CROUZILLAT, D.; CIROU, L.; BUCHELI, P. Chemical composition and flavor of Ecuadorian cocoa liquor. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 12, p. 3527-3532, 2002.
- MATLIK, B.K. Cocoa: Post Harvest Practices, Part I. **The Manufacturing Confectioner**, v. 74, n. 6, p. 95-96, 1994.
- McKIM, WA. **Drugs and Behavior: An Introduction to Behavioral Pharmacology**, Prentice Hall, New York. 1997.
- MEURSING, E.H. Cocoa mass, cocoa butter, cocoa powder. In: BECKETT, S.T. (Ed.). **Industrial Chocolate Manufacture and Use**. 2.ed. London: Chapman & Hall, 1994. cap. 6, p. 70-82.
- MEINERS, A.; KREITEN, K.; JOIKE, H. **Silesia-essenzenfabrik Gerhard Hanke K. G.** Alemanha, 1984. v. 2, 887 p. (Silesia Confiserie Manual, 3).

-
- MINIFIE, B.W. **Chocolate, cocoa, and confectionery. Science and Technology**, 3^a ed., Chapman & Hall, New York, London, 1989.
- NIEDIEK, E.A. Particle size reduction. In: BECKETT, S.T. (Ed.). **Industrial Chocolate Manufacture and Use**. 2.ed. London: Chapman & Hall, 1994. cap. 7, p. 83-100.
- NIELLA, G.R.; LUZ, E.D.M.N.; BEZERRA, J.L.; BRUGNEROTTO, M.I., CERQUEIRA, A.R.R.N.; FRAGA, N.J.; FERREIRA, D.M.A.; ROCHA, C.S.S. Esporulação de *Crinipellis pernicios* em frutos e sementes de cacau (*Theobroma cacao* L.) no sudeste da Bahia. **Agrotrópica**., v.9, n.2, p.73 - 77, 1997.
- NIEMENAK, N.; ROHSIUS, C.; ELWERS, S.; NDOUMOUA, D. O.; LIEBEREI, R. Comparative study of different cocoa (*Theobroma cacao* L.) clones in terms of their phenolics and anthocyanins contents. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 19, p. 612–619, 2006.
- OLIVEIRA, M. L.; LUZ, E.D.M.N. **Identificação e manejo das principais doenças do cacau no Brasil**. Ilhéus, CEPLAC/ CEPEC/SEFIT, 2005. 132p.
- OMOKOLO NDOUMOU, D.; TSALA NDZOMO, G.; DJOCGOUE, P. F. Changes in Carbohydrate, Amino Acid and Phenol Contents in Cocoa Pods from Three Clones after Infection with *Phytophthora megakarya* Bra. and Grif. **Annals of Botany**, v. 77, p.153-158, 1996.
- PEREIRA, J. L. Renewed advance of Witches' broom disease of cocoa: 100 years later. In **Proceedings of the 12th International Cocoa Research Conference**. Salvador, Brasil, Cocoa Producers' Alliance.p. 287-292. 1996.
- PEZOA-GARCÍA, N.H. **Contribution a l'étude d'un capteur pour contrôler en continu le procédé de torréfaction**. 170p. 1989. These (Docteur) – Université de Technologie de Compiègne, Compiègne, 1989.
- PINTO, L.R.M.; PIRES, J.L. Seleção de plantas de cacau resistentes à vassoura-de-bruxa. Ilhéus. 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 às doenças**. 226p. 2003. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2003.
- QUAST, L. B., LUCCAS, V., ROTH, T. C. W., KIECKBUCH, T. G., Influência da incorporação de gordura de cupuaçu na temperagem de manteiga de cacau. **Brazilian Journal of Food Technology**. v. 10, n. 2, p. 130-136, 2007.

- REINECCIUS, G. A., KEENEY, P. G., WEISSBERGER, W. Factors affecting the concentration of pyrazines in cocoa beans. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.20, n.2, p. 202-206, 1972.
- ROSLI, W.I.W.; JINAP, S.; RUSSLY, A.R. Effect of roasting time and temperature on volatile components profiles during nib roasting. In **Proceedings of the 12th International Cocoa Reaserch Conference**. Salvador, Brasil, Cocoa Producers' Alliance.p. 977-991. 1996.
- ROZIN, P.; LEVINE, E. & STOESS, C. Chocolate craving and liking. **Appetite**, London, n.17, p. 177–185, 1991.
- SANBONGI, C.; OSAKABE, N.; NATSUME, M.; TAKIZAWA, T.; GOMI, S., & OSAWA, T. Antioxidative polyphenols isolated from *Theobroma cacao*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 46, n. 2, p. 454-457, 1998.
- SAMUELS, G. J., SCHULTHEISS, R. P., HEBBAR, K. P., LUMSDEN, R. D., BASTOS, C. N., COSTA, J. C. B., BEZERRA, J. L. Trichoderma stromaticum sp. nov., a parasite of the cacao witches' broom pathogen. **Mycological Research**. United Kingdom, v.104, n.6, p.760 - 764, 2000.
- SANCHEZ-RABANEDA, O.; JAUREGUI, I.; CASALS, C. ANDRÉS-LACUEVA, C.; IZQUIERDO-PULIDO, M.; LAMUELA-RAVENTÓS,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.
- SCARPARI, L.M.; MEINHARDT, L.W.; MAZZAFERA, P.; POMELLA, A.W.V.; SCHIAVINATO, M.A.; CASCARDO, J.C.M.; PEREIRA, G.A.G. Biochemical changes during the development of witches' broom: the most important disease of cocoa in Brazil caused by *Crinipellis Perniciosa*. **Journal of Experimental Botany**, v. 54, n. 413, p. 865-877, 2005.
- SHAUGHNESSY, W.J. Cocoa beans – plant through fermentation – its effect on flavor. **The Manufacturing Confectioner**, v. 72, n. 11, p. 51-58, 1992.
- STAUFFER, M. B. Chocolate manufacturing process: critical process controls – an overview. **The Manufacturing Confectioner**, v.74, n.6, p. 22-27, 1994.
- SUKHA, D.A.; BUTLER, D.R; UMAHARAN, P., E.; BOULT, E. The use of an optimised organoleptic assessment protocol to describe and quantify different flavour attributes of cocoa liquors made from Ghana and Trinitario beans. **European Journal of Food Technology**. v. 226, n. 3, p. 405-413, 2008.
- TANERI, C.E. Chocolate liquors: factors affecting viscosity. **The Manufacturing Confectioner**. Glen Rock, NJ, v. 56, n. 3, p. 45-55. 1976.

-
- 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.
- THORTON, P. The U.S Chocolate Market – Current and Future. **The Manufacturing Confectioner**, v. 87, n. 9, p. 35- 40, 2007.
- THORZ, M.S.; SCHMITT, A. Thin liquor roasting and pre-treatment technology. **The Manufacturing Confectioner**, v. 87, n. 9, p. 65-69, 1984.
- TUCCI, M.L.S. **Seleção de genótipos para produção de manteiga de cacau no Vale do Ribeira, São Paulo, Brasil**. 120p. 1997. Dissertação (Mestrado). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1997.
- TUCCI, M.L.S.; FIGUEIRA, A.; BOVI, M.L.A.; TURATTI, J.M.; GUTIERREZ, L.E.; SAES, L.A. Avaliação de genótipos para produção de manteiga de cacau no Vale do Ribeira, São Paulo, Brasil. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 5, n. 2, p. 01-09, 2002.
- VENTER, M.J.; SCHOUTEN, N.; HINK, R.; KUIPERS, N.J.M.; DE HAAN, A.B. Expression of cocoa butter from cocoa nibs. **Separation and Purification Technology**, v. 55, p. 256–264, 2007.
- VELLO, F. & GARCIA, J.R. Características das principais variedades de cacau cultivadas na Bahia. **Revista Theobroma**, v. 1, n. 2, p. 3-10, 1971.
- 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.
- 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.

CAPÍTULO 2

MONITORAMENTO DAS ETAPAS DE FERMENTAÇÃO E SECAGEM E CARACTERIZAÇÃO DE SEMENTES DE CULTIVARES DE CACAU RESISTENTES À VASSOURA-DE-BRUXA

1. INTRODUÇÃO

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 & LUZ, 2005). Na primeira série de clones resistentes indicados pela Comissão Executiva para o Plano da Lavoura Cacaueira (CEPLAC), estão híbridos dos tipos *Forastero* x *Forastero* e *Forastero* x Trinitário que apresentam auto-incompatibilidade, ou seja, não possibilitam a autopolinização. Estes materiais estão sendo utilizados pelos produtores da região desde 1995.

Não foram encontrados trabalhos que tenham avaliado a evolução dos processos de fermentação e secagem de sementes de cacau de diferentes clones, colhidos em um mesmo local, evitando-se o possível efeito das condições edafo-climáticas, fermentadas e secas simultaneamente, nas mesmas condições. Dessa forma, buscando contribuir com o programa de melhoramento genético do cacauzeiro no Brasil e procurando materiais que forneçam produtos de cacau de qualidade, o presente trabalho objetivou monitorar as etapas de fermentação e secagem e caracterizar físico-química, química e microbiologicamente nove clones resistentes à vassoura-de-bruxa e o cacau Comum da região, suscetível à doença, no decorrer das etapas. Essas foram realizadas de forma similar, simultânea e

individualmente, o que permite a avaliação das características de cada material com foco na produção de matérias-primas de cacau de qualidade superior.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material vegetal

Foram utilizados frutos de cacauzeiro obtidos por polinização aberta dos cultivares:

- CEPEC 42 (híbrido de TSA 644 x SIC 19);
- EET 397 (oriundo de SCA);
- TSA 654 (híbrido de SCA6 x IMC 67);
- TSA 656 (híbrido de SCA6 x IMC 67);
- TSAN 792 (híbrido de TSA 641 com genótipo desconhecido);
- TSH 516 (híbrido de SCA6 x ICS1);
- TSH 565 (híbrido de SCA6 x ICS1);
- TSH 774 (origem desconhecida);
- TSH 1188 (origem desconhecida).

Os materiais foram selecionados da região cacauzeira sul da Bahia por sua alta produtividade e por apresentarem resistência à vassoura-de-bruxa. Os clones foram coletados no campo de produção de progênies de cacau da CEPLAC em Itabuna – BA. O tipo Comum também foi avaliado por ser ainda amplamente utilizado na região, apesar de suscetível à vassoura-de-bruxa.

Deve-se considerar que quanto à sua ascendência, os materiais estudados podem ser divididos nos seguintes grupos:

- Materiais descendentes do grupo *Forastero*: TSA 654, TSA 656 e CEPEC 42, EET 397;
- Materiais descendentes dos grupos *Forastero* e Trinitário: TSH 516, TSH 565, TSH 774, TSH 1188 e TSAN 792;
- Cacau Comum da região sul da Bahia, do grupo *Forastero*, tipo amelonado.

2.2 Processamento

A Figura 1 apresenta o fluxograma do processamento dos frutos de cacau até a obtenção dos *nibs* dos diferentes materiais estudados.

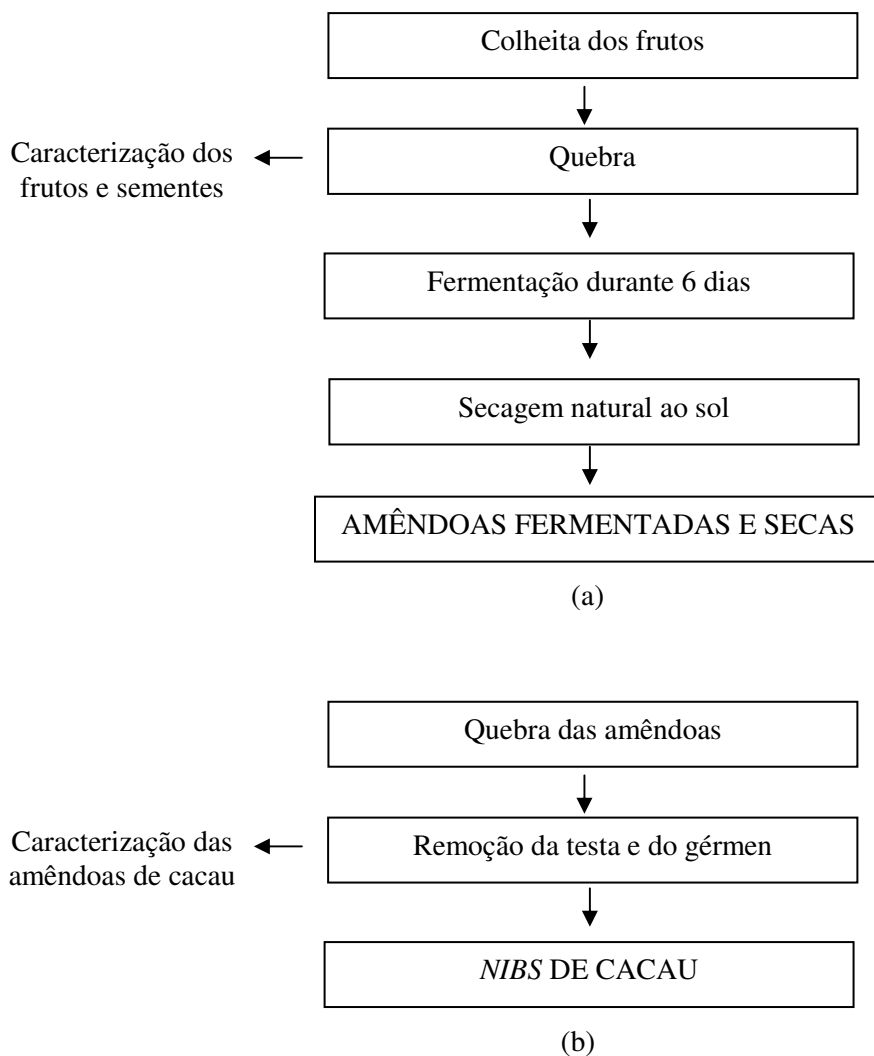


Figura 1. Fluxograma de processamento dos frutos (a) e processamento das amêndoas de cacau até a obtenção dos *nibs* (b) de dez cultivares de cacau

2.2.1 Colheita, abertura dos frutos, fermentação e secagem

Frutos maduros e sadios dos diferentes cultivares foram colhidos e partidos após 24 h para o início das fermentações, em novembro de 2004. A Figura 2 apresenta os frutos dos diferentes materiais estudados.



Figura 2. Frutos de dez cultivares de cacau

2.3 Caracterização dos frutos e sementes *in natura*, após a colheita

Foram determinados individualmente: a massa dos frutos, das cascas, das sementes com polpa e sem polpa, da placenta, bem como o número de sementes por fruto e o comprimento, a largura e a espessura das sementes frescas. A polpa foi removida com auxílio de uma peneira, friccionado-se as sementes contra a malha. As determinações foram realizadas em 50 frutos de cada material representando os lotes totais, de aproximadamente 500 frutos.

2.4 Fermentação e secagem

A fermentação foi realizada em lotes de 50 Kg de sementes com polpa e em duplicata para cada material, por um período de 6 dias. Foram utilizadas instalações de madeira retangulares de 250 cm de comprimento, 50 cm de largura e 50 cm de altura, divididas em 5 compartimentos de 50 x 50 x 50 cm (125 L de volume). O fundo e as laterais inferiores dos compartimentos apresentavam furos de 1 cm de diâmetro a cada 5 cm, para escoamento da polpa liquefeita pelo processo fermentativo (Figura 3).

Foram realizados revolvimentos para oxigenação e homogeneização do processo fermentativo a partir de 48 h do início da fermentação e a cada 24 h até o término da etapa. Posteriormente, as amêndoas foram secas ao sol em superfícies de madeira com teto móvel durante 5 a 7 dias até umidade de 8,0% (Figura 4). A altura de amêndoas sobrepostas na superfície de secagem era de aproximadamente 3 cm.

As etapas anteriores foram realizadas no CEPEC/CEPLAC, Itabuna-BA.



Após a secagem, as amêndoas foram quebradas em moinho de facas ICMA tipo Rietz e os fragmentos foram separados de acordo com sua granulometria em aparelho vibratório marca Produtest, modelo T, série 3244 e em peneiras com aberturas de 6,35; 4,76 e 2,38 mm. A separação da testa (casca que envolve as amêndoas) e gérmen foi realizada por diferença de densidade em coluna de 3 m de altura construída em PVC, com circulação de ar gerada por um compressor, de aproximadamente 4 m³/s, da parte inferior para a superior.

2.4.1 Avaliação da evolução dos processos de fermentação e secagem

2.4.1.1 Avaliação da massa em fermentação

Ao início da fermentação determinou-se o teor de sólidos solúveis da polpa (°Brix) de cada material com refratômetro manual ATAGO e, no decorrer desta etapa, foram tomadas, diariamente, medidas de temperatura, com um termômetro digital TESTO, modelo 0526, e pH, com pHmetro digital portátil, marca Digimed modelo DM20. Ambas as medidas foram realizadas por meio de inserção direta na massa em fermentação.

2.4.1.2 Caracterização das sementes durante a fermentação e das amêndoas ao término da secagem

Durante a fermentação (início e a cada 2 dias) e ao término da secagem foram realizadas as seguintes determinações, em triplicata, com exceção do item 'e', que foi realizado em apenas uma replicata e do item 'f' que foi realizado em nove replicatas:

- a. teor de umidade, de acordo com o método 31.1.03 (HORWITZ, 2005), realizada em equipamento Titroline Alpha Shott, modelo TZ1282;
- b. pH e acidez total titulável, em pHmetro Tecnal modelo TE-2 de acordo, respectivamente, com os métodos 31.1.07 e 11.14.3, (HORWITZ, 2005);
- c. teor de proteínas (nitrogênio total), segundo o método Kjeldahl, 31.1.08 (HORWITZ, 2005);
- d. teor de compostos fenólicos totais, de acordo com o método de Efraim *et al.* (2006), adaptado de AMERINE & OUGH (s.d.), sendo que a absorbância foi mensurada em

- espectrofotômetro Beckmann, modelo DU70 a 765 nm e a curva padrão foi feita com ácido tânico da marca Sigma;
- e. teores de açúcares, ácidos orgânicos e etanol: monitorados de forma simultânea por espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN de ^1H). A extração dos compostos foi realizada com água deionizada filtrada em membrana de 0,22 μm (água MilliQ®). Foram utilizadas as sementes de cacau congeladas, coletadas nos seguintes tempos: início, após 48, 96 e 144 h de fermentação e após a secagem, na proporção de 10,00 g de sementes ou amêndoas para 100 mL de água. A extração foi realizada de acordo com Figueiredo *et al.* (2006). As sementes ou amêndoas fermentadas e secas foram trituradas em moinho analítico IKA – Universal Mill, pesadas e misturadas com a água. Em seguida, foi realizada uma agitação durante 3 minutos em agitador tipo vortex. Os extratos obtidos foram filtrados com membranas de 0,80; 0,45 e 0,22 μm . Os compostos de interesse foram monitorados em espectrômetro de ressonância magnética nuclear Inova Varian 500 MHz. Para as determinações, o sinal da água foi eliminado por pré-saturação de 1,5 s. A quantificação foi feita com padrão interno (TPSA);
- f. determinação da atividade de água: realizada em higrômetro Decagon-Aqualab modelo CX-2, com resolução de 0,01 acoplado a um banho termostatizado Brookfield, modelo TC 500, com resolução de 0,1°C. As determinações foram feitas a $25 \pm 0,3^\circ\text{C}$;
- g. avaliações microbiológicas: foram realizadas durante a fermentação e ao término da secagem, contagens de *Salmonella*; *Coliformes totais* e *E. Coli*; *Enterobacteriaceae*; bolores e leveduras; bolores termoresistentes; mesófilos aeróbios e bactérias lácticas, de acordo com Pitt & Hocking (1997) e Downes & Ito (2001).

2.5 Avaliação da qualidade das amêndoas fermentadas e secas

Foram avaliados: a massa individual, em balança semi-analítica GEHAKA, modelo BG 2000; o número de amêndoas em 100 g; comprimento, largura e espessura das amêndoas, utilizando paquímetro e micrômetro digital, ambos da marca Mitutoyo; densidade aparente, medida pelo deslocamento volumétrico de sementes do tipo colza em um determinador de volume específico; composição das frações de 100 amêndoas (testa,

gérmen e cotilédone), em balança semi-analítica GEHAKA, modelo BG 2000; prova de corte (cut test), por meio de corte longitudinal nas amêndoas, verificando a qualidade em função do grau de fermentação por meio da coloração e da compartimentação, de acordo com a Resolução do CONCEX (Conselho Nacional do Comércio Exterior) nº 160, de 28 de junho de 1988 (BRASIL, 1988). As amêndoas fermentadas e secas de cada material foram coletadas ao acaso e as determinações foram realizadas em triplicata. A classificação considerou os seguintes itens para determinação do tipo de material:

- *Amêndoas do Tipo I* - amêndoas fermentadas e secas com, no máximo, 8% de umidade, aroma característico e ausente de odores estranhos, livres de materiais estranhos, contendo até 110 amêndoas por 100 g.

<i>Defeitos tolerados:</i>	<i>% máxima</i>
- Amêndoas mofadas	2
- Ardósias	2
- Danificadas por insetos	3
- Chochas ou Achatadas	2
- Outros defeitos não listados	2

- *Amêndoas do Tipo II* – amêndoas fermentadas e secas com, no máximo, 8% de umidade, aroma característico e ausente de odores estranhos, livres de materiais estranhos, contendo até 110 amêndoas por 100 g.

<i>Defeitos tolerados:</i>	<i>% máxima</i>
- Amêndoas mofadas	4
- Ardósias	4
- Danificadas por insetos	6
- Chochas ou Achatadas	3
- Outros defeitos não listados	4

2.6 Análises estatísticas

Os dados obtidos foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA) e ao teste de Tukey para determinação da diferença significativa entre as médias utilizando-se o software SAS (Statistical Analysis System) (SAS®,1993).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Caracterização física dos frutos e sementes

As Tabelas 1a e 1b apresentam os resultados da caracterização de 50 frutos dos materiais estudados e de suas sementes.

Tabela 1a. Caracterização física dos frutos de dez cultivares de cacau

Cultivar	Massa (g)			Nº sementes /fruto	g sementes /Kg fruto *
	Fruto	Casca	Placenta		
CEPEC 42	624,51 ± 62,98	494,07 ± 41,22	16,24 ± 1,98	39 ± 4	182,9
COMUM	467,03 ± 36,16	365,19 ± 51,49	12,81 ± 3,23	35 ± 3	193,4
EET 397	741,70 ± 71,65	584,08 ± 49,81	17,89 ± 2,22	38 ± 4	188,4
TSA 654	789,20 ± 70,15	642,20 ± 61,22	19,35 ± 3,22	40 ± 3	161,7
TSA 656	549,22 ± 49,86	428,58 ± 40,19	16,31 ± 2,02	42 ± 6	190,0
TSAN 792	699,27 ± 64,38	512,90 ± 53,41	17,25 ± 2,78	47 ± 4	241,9
TSH 516	674,61 ± 63,22	520,13 ± 48,76	18,11 ± 2,91	46 ± 3	202,1
TSH 565	742,24 ± 71,34	534,28 ± 43,87	17,28 ± 1,98	46 ± 5	256,9
TSH 774	771,08 ± 75,12	630,75 ± 58,76	20,11 ± 3,45	39 ± 4	155,9
TSH 1188	1174,04 ± 109,19	944,30 ± 87,55	22,14 ± 3,45	51 ± 6	176,8

* valores calculados pela razão da diferença dos valores de ¹, ² e ³ por ¹

Tabela 1b. Continuação da caracterização física dos frutos e sementes de dez cultivares de cacau

Cultivar	Massa das sementes por fruto (g)		Umidade das sementes (%)		Teor sólidos solúveis (°Brix) *
	com polpa	sem polpa	com polpa	sem polpa	
CEPEC 42	125,44 ± 13,21	72,94 ± 9,02	58,15 ± 0,09	34,31 ± 0,37	16,7 ± 0,9
COMUM	139,02 ± 12,15	79,87 ± 8,90	53,83 ± 0,88	33,11 ± 0,56	17,2 ± 1,1
EET 397	147,62 ± 13,76	82,98 ± 8,78	56,21 ± 0,16	33,49 ± 0,19	17,5 ± 1,6
TSA 654	139,00 ± 13,24	73,60 ± 8,76	52,95 ± 0,15	36,16 ± 0,10	16,5 ± 1,3
TSA 656	116,64 ± 12,12	62,62 ± 8,33	53,68 ± 0,13	36,89 ± 0,40	15,8 ± 1,8
TSAN 792	180,36 ± 16,88	103,33 ± 11,79	57,29 ± 0,04	32,28 ± 0,34	16,2 ± 1,0
TSH 516	144,48 ± 11,22	76,43 ± 8,89	54,73 ± 0,59	37,39 ± 0,12	16,1 ± 1,1
TSH 565	197,96 ± 16,89	113,21 ± 12,14	57,19 ± 0,11	31,21 ± 0,23	17,3 ± 2,3
TSH 774	134,33 ± 12,87	77,61 ± 7,43	57,78 ± 0,12	31,94 ± 0,58	17,4 ± 1,8
TSH 1188	213,74 ± 22,19	120,15 ± 14,11	56,21 ± 0,27	31,69 ± 0,22	17,8 ± 1,4

* valores corrigidos para 25°C

De acordo com a Tabela 1a, o cultivar TSH 1188 apresentou a maior massa total de fruto (média de 1.174,04 g/fruto), o maior número de sementes por fruto (média de 51 sementes/fruto) e, consequentemente, a maior massa total de sementes com polpa (média de 213,74 g/fruto). Contudo, o rendimento de sementes com polpa por Kg de fruto foi baixo (177 g/ Kg de fruto), quando comparado com o cacau Comum, que apresentou um rendimento de 190 g de sementes por Kg de frutos e principalmente quando comparado com outros clones estudados como TSH 516, TSAN 792 e TSH 565, com incrementos produtivos nesse aspecto de 6,3; 27,4 e 32,3%, respectivamente. É importante destacar que os cultivares TSH 565 e TSAN 792, com maiores rendimentos de sementes com polpa por Kg de fruto, apresentaram também os maiores teores de polpa em relação ao peso total dos frutos (11,42 e 11,02%, respectivamente). Cabe ressaltar que há grande interesse comercial pela polpa de cacau, por seu agradável sabor, bastante característico e próprio para fabricação de geléias e polpas concentradas. Por outro lado, os cultivares TSH 1188 e TSH 774 apresentaram os menores teores de polpa em relação ao peso do fruto (7,97 e 7,36%, respectivamente).

De acordo com a Tabela 1b, verifica-se que o material Comum apresentou a maior porcentagem de sementes com polpa por fruto, indicando que apesar deste material ter apresentado o menor peso total por fruto, seu aproveitamento para o beneficiamento seria maior em relação aos demais materiais estudados. Por outro lado, os cultivares TSH 774 e TSA 654 apresentaram as menores porcentagens de sementes com polpa por fruto, um indicativo de que a porcentagem de casca e placenta destes materiais foi maior que a dos demais. Para esta avaliação foram consideradas apenas as médias do peso dos frutos e das sementes com polpa.

Verificou-se que o teor de sólidos solúveis da polpa dos diferentes materiais variou de 15,8 (cultivar TSA 656) a 17,8 °Brix (cultivar TSH 1188). 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 CO₂, além de produzirem 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 climáticas durante a maturação do fruto e também pós-colheita, inclusive nas etapas de fermentação e secagem (SHRIPAT *et al.*, 1996).

3.2 Evolução do processo fermentativo

3.2.1 Avaliação da massa em fermentação

Nas Figuras 5 e 6 são apresentadas, respectivamente, as curvas de variação de temperatura e de pH da massa de sementes com polpa durante a fermentação para os diferentes materiais estudados.

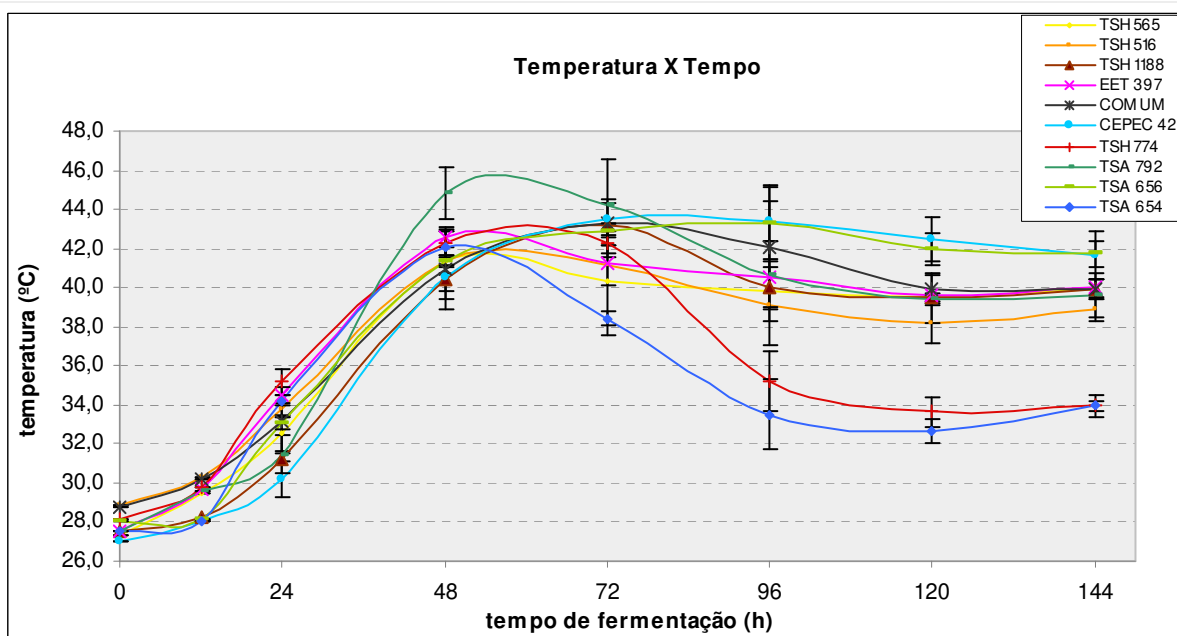


Figura 5. Variação da temperatura da massa de sementes de cacau durante a fermentação de dez cultivares de cacau

Os valores apresentados são a média de 2 replicatas de fermentação e de 3 medidas de temperatura tomadas na altura mediana da massa em fermentação, no centro e nas extremidades da caixa

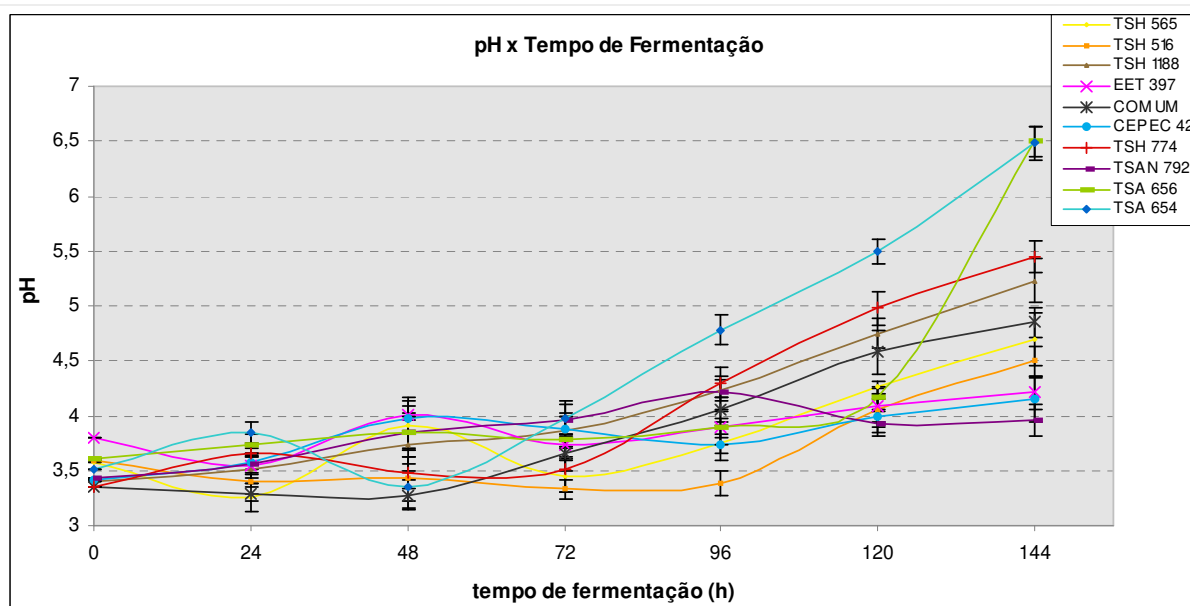


Figura 6. Controle do pH da polpa da massa de sementes de cacau durante a fermentação de dez cultivares de cacau

Os valores apresentados são a média de 2 replicatas de fermentação e de 3 medidas de temperatura tomadas na altura mediana da massa em fermentação, no centro e nas extremidades da caixa

Observa-se na Figura 5 que a temperatura inicial da massa em fermentação para todos os materiais foi similar, variando de 27 a 29 °C. Desde o início da fermentação, o cultivar Cepec 42 apresentou a menor temperatura, embora tenha atingido a maior temperatura ao final da etapa junto com TSA 656. Durante a fermentação, a temperatura de todos os materiais alcançou valor máximo entre 48 e 72 horas conforme deve-se observar em boas fermentações comerciais (ZAMALLOA, 1994). O cultivar TSAN 792 atingiu a maior temperatura durante a etapa de fermentação (45,1 °C após 50 h), seguido do EET 397, TSH 774 e TSA 656.

A queda de temperatura observada na massa em fermentação do TSA 654 e TSH 774 e o aumento de pH observado para TSA 654 e TSA 656 com 144 h de fermentação definiram a interrupção desta etapa e o início imediato da secagem, de forma a impedir o desenvolvimento de microrganismos e a ocorrência de reações bioquímicas indesejáveis (SHWAN & WHEALS, 2004), mesmo que materiais como Cepec 42 e TSA 656 ainda apresentassem temperatura e pH da massa em fermentação suficientes para a continuidade da etapa por um período maior.

A Figura 6 indica que o pH inicial da polpa da maioria dos materiais estava entre 3,4 e 3,5. Os cultivares TSH 516 e TSA 656 apresentaram valores de pH de 3,59 e 3,61, respectivamente, e o EET 397 apresentou o maior valor no início da fermentação (3,80). O cultivar TSA 654 apresentou acentuado aumento nos valores de pH, atingindo 6,50 após 144 h, juntamente com TSA 656. CEPEC 42, TSA 792 e EET 397 apresentaram os menores valores de pH após 144 h.

3.2.2 Avaliação das sementes e amêndoas de cacau durante a fermentação e ao término da secagem

Nas Tabelas 2 e 3 são apresentados, respectivamente, os valores de umidade e atividade de água das sementes e amêndoas de cacau dos materiais estudados mensurados durante a fermentação e após a secagem.

Tabela 2. Umidade das sementes e amêndoas de dez cultivares de cacau coletadas no decorrer da fermentação e ao término da secagem

	UMIDADE (%)				Após Secagem
	Tempo de fermentação (h)				
	0	48	96	144	
CEPEC 42	58,15 ± 1,09	55,38 ± 1,01	54,46 ± 0,15	44,24 ± 0,57	6,10 ± 0,02
COMUM	53,83 ± 0,88	52,50 ± 0,25	47,74 ± 0,09	44,02 ± 0,64	6,60 ± 0,36
EET 397	56,21 ± 1,16	51,61 ± 0,89	51,29 ± 0,95	46,81 ± 0,76	5,80 ± 0,01
TSA 654	52,95 ± 0,55	52,98 ± 0,61	48,79 ± 0,21	41,90 ± 0,71	6,63 ± 0,08
TSA 656	53,68 ± 0,63	53,13 ± 0,79	50,18 ± 2,16	46,13 ± 3,08	6,09 ± 0,03
TSAN 792	57,29 ± 0,84	50,63 ± 1,13	50,47 ± 0,77	44,98 ± 0,47	6,48 ± 0,02
TSH 516	54,73 ± 0,59	52,90 ± 1,05	52,73 ± 0,45	42,87 ± 0,26	6,74 ± 0,54
TSH 565	57,19 ± 1,11	51,18 ± 0,93	51,55 ± 0,34	47,22 ± 0,80	6,78 ± 0,16
TSH 774	57,78 ± 0,52	55,91 ± 1,12	55,18 ± 0,90	44,88 ± 0,73	5,92 ± 0,04
TSH 1188	56,21 ± 0,97	54,14 ± 0,59	52,54 ± 1,87	40,12 ± 1,09	6,28 ± 0,01

Tabela 3. Atividade de água das sementes e amêndoas de dez cultivares de cacau coletadas no decorrer da fermentação e ao término da secagem

ATIVIDADE DE ÁGUA					
	Tempo de fermentação (h)				Após Secagem
	0	48	96	144	
CEPEC 42	0,985 ± 0,001	0,971 ± 0,002	0,972 ± 0,001	0,939 ± 0,006	0,681 ± 0,004
COMUM	0,978 ± 0,002	0,974 ± 0,003	0,954 ± 0,005	0,938 ± 0,003	0,679 ± 0,006
EET 397	0,972 ± 0,000	0,969 ± 0,001	0,974 ± 0,002	0,944 ± 0,002	0,631 ± 0,001
TSA 654	0,980 ± 0,001	0,977 ± 0,002	0,978 ± 0,001	0,938 ± 0,006	0,678 ± 0,002
TSA 656	0,979 ± 0,002	0,977 ± 0,001	0,947 ± 0,001	0,942 ± 0,002	0,645 ± 0,003
TSAN 792	0,978 ± 0,002	0,975 ± 0,002	0,972 ± 0,002	0,946 ± 0,002	0,651 ± 0,002
TSH 516	0,981 ± 0,001	0,974 ± 0,002	0,974 ± 0,002	0,949 ± 0,001	0,690 ± 0,011
TSH 565	0,979 ± 0,001	0,974 ± 0,002	0,975 ± 0,001	0,945 ± 0,001	0,692 ± 0,005
TSH 774	0,972 ± 0,002	0,961 ± 0,003	0,955 ± 0,002	0,944 ± 0,001	0,642 ± 0,002
TSH 1188	0,985 ± 0,002	0,974 ± 0,002	0,974 ± 0,002	0,954 ± 0,003	0,631 ± 0,002

De acordo com os resultados apresentados nas Tabelas 2 e 3, verifica-se que, durante a fermentação, a umidade e a atividade de água das sementes de cacau com testa,

gérmen e polpa de todos os materiais estudados são elevados, o que permite o desenvolvimento de diversos microrganismos, inclusive alguns que possam prejudicar a saúde humana. Porém, conforme será observado nas Tabelas 8 a 11 (resultados das contagens microbiológicas), o pH do meio, conforme indica a Figura 6, bem como a presença ou ausência de oxigênio, favorecem os microrganismos adequados em cada período da fermentação, e permite que as reações bioquímicas adequadas e desejáveis ocorram (ROELOFSEN, 1958; OSTOVAR & KEENEY, 1973; SCHWAN *et al.*, 1995; SCHWAN, 1998). Após a secagem, é importante que as amêndoas de cacau apresentem umidade inferior a 8,0% e atividade de água inferior a 0,7, conforme foi observado para todos os materiais estudados. 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.

Verifica-se, na Tabela 2, que, nas primeiras 48 horas de fermentação, os cultivares TSH 565, TSAN 792 e EET 397 apresentaram as maiores perdas de umidade em relação aos demais materiais (5 a 7%), que apresentaram perdas entre 1 e 3%. De acordo com a Tabela 1 e conforme discutido anteriormente, TSH 565 e TSAN 792 foram os materiais que apresentaram maior teor de polpa, sendo que, grande parte desta é constituída de água, que pode ter sofrido exudação mais intensa no período inicial da fermentação.

Nas Tabelas 4 e 5 são apresentados, respectivamente, os valores de pH e acidez total titulável durante a fermentação e ao término da secagem.

Tabela 4. Valores de pH das sementes e amêndoas de dez cultivares de cacau durante a fermentação e término da secagem

	pH				Após secagem
	Tempo de fermentação (h)				
	0	48	96	144	
CEPEC 42	4,66 ± 0,14 ^c	4,90 ± 0,09 ^{ab}	4,27 ± 0,04 ^{cd}	4,75 ± 0,15 ^{cd}	4,72 ± 0,14 ^e
COMUM	4,73 ± 0,09 ^c	4,79 ± 0,02 ^{ab}	4,47 ± 0,01 ^{bcd}	5,01 ± 0,11 ^{abc}	4,74 ± 0,04 ^e
EET 397	5,16 ± 0,03 ^a	4,46 ± 0,13 ^c	4,58 ± 0,07 ^{bc}	5,05 ± 0,16 ^{abc}	5,03 ± 0,08 ^{bc}
TSA 654	4,84 ± 0,04 ^{bc}	4,49 ± 0,11 ^c	4,92 ± 0,34 ^a	5,26 ± 0,05 ^a	5,42 ± 0,05 ^a
TSA 656	5,06 ± 0,12 ^{ab}	4,80 ± 0,06 ^{ab}	4,51 ± 0,09 ^{bcd}	5,03 ± 0,07 ^{abc}	5,29 ± 0,03 ^{ab}
TSAN 792	5,04 ± 0,02 ^{ab}	4,96 ± 0,09 ^a	4,36 ± 0,04 ^{cd}	4,85 ± 0,03 ^{bcd}	5,37 ± 0,09 ^a
TSH 516	5,19 ± 0,06 ^a	4,77 ± 0,04 ^b	4,20 ± 0,26 ^d	4,97 ± 0,13 ^{abc}	5,36 ± 0,02 ^{ab}
TSH 565	4,84 ± 0,11 ^{bc}	4,49 ± 0,07 ^c	3,77 ± 0,40 ^e	4,65 ± 0,07 ^d	4,69 ± 0,05 ^e
TSH 774	5,15 ± 0,06 ^a	4,98 ± 0,01 ^a	4,72 ± 0,04 ^{ab}	5,21 ± 0,11 ^a	4,71 ± 0,06 ^e
TSH 1188	5,25 ± 0,06 ^a	4,82 ± 0,03 ^{ab}	4,48 ± 0,06 ^{bcd}	5,13 ± 0,09 ^{ab}	5,00 ± 0,06 ^{bcd}
D.M.S	0,23	0,18	0,32	0,30	0,19

D.M.S: Diferença mínima significativa

Valores de uma mesma coluna, com a mesma letra, não diferem significativamente entre si (Teste de Tukey a 5% de significância)

Tabela 5. Valores de acidez total titulável das sementes e amêndoas de dez cultivares de cacau do início da fermentação ao término da secagem

	Acidez total titulável (meq. NaOH/100 g)				Após secagem
	Tempo de fermentação (h)				
	0	48	96	144	
CEPEC 42	2,80 ± 0,35 ^{ab}	3,70 ± 0,14 ^d	10,27 ± 0,15 ^c	12,07 ± 0,67 ^a	19,40 ± 0,30 ^a
COMUM	3,93 ± 0,12 ^a	6,00 ± 0,57 ^{bc}	10,43 ± 0,57 ^c	7,57 ± 0,35 ^e	15,77 ± 0,55 ^c
EET 397	2,17 ± 0,31 ^b	9,50 ± 0,71 ^a	11,23 ± 0,25 ^{bc}	7,57 ± 0,25 ^e	11,23 ± 0,29 ^e
TSA 654	2,23 ± 0,15 ^b	9,65 ± 0,78 ^a	7,30 ± 0,46 ^d	5,97 ± 0,45 ^f	8,83 ± 0,76 ^f
TSA 656	3,00 ± 0,17 ^{ab}	5,35 ± 0,21 ^c	11,20 ± 1,47 ^{bc}	9,57 ± 0,25 ^{cd}	11,20 ± 0,35 ^e
TSAN 792	3,30 ± 0,20 ^a	3,65 ± 0,07 ^d	13,17 ± 0,51 ^{ab}	11,43 ± 0,31 ^{ab}	9,93 ± 0,45 ^f
TSH 516	3,53 ± 0,15 ^a	9,25 ± 0,35 ^a	10,07 ± 0,92 ^c	8,90 ± 0,26 ^d	9,90 ± 0,30 ^f
TSH 565	3,00 ± 0,26 ^{ab}	4,05 ± 0,07 ^d	13,23 ± 0,74 ^a	9,47 ± 0,25 ^{cd}	16,53 ± 0,67 ^{bc}
TSH 774	3,80 ± 0,17 ^a	7,30 ± 0,14 ^b	10,00 ± 0,60 ^c	6,77 ± 0,25 ^{ef}	16,83 ± 0,31 ^b
TSH 1188	3,67 ± 0,31 ^a	3,86 ± 0,36 ^d	13,07 ± 0,29 ^{ab}	7,50 ± 0,30 ^e	11,93 ± 0,45 ^e
D.M.S	1,21	1,13	1,99	1,11	1,39

D.M.S: Diferença mínima significativa

Valores de uma mesma coluna, com a mesma letra, não diferem significativamente entre si (Teste de Tukey a 5% de significância)

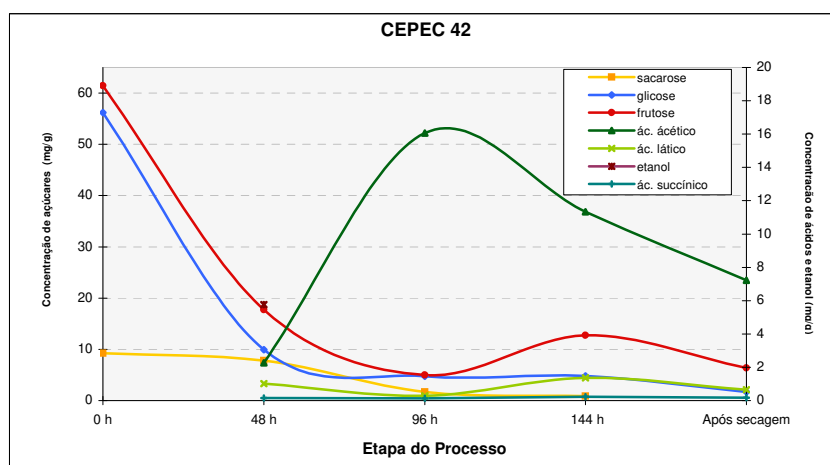
Na Tabela 5, verifica-se que a acidez total titulável das sementes dos diferentes materiais, no início da fermentação, apresentou valores próximos entre si. Durante a fermentação e ao término da secagem, as diferenças entre os materiais se acentuaram, de forma que os valores, em cada tempo avaliado, foram bastante distintos entre os materiais. Porém, verifica-se uma tendência de aumento da acidez total titulável do início da fermentação até o quarto dia, quando os valores, para todos os materiais, exceto Cepec 42, decrescem, conforme se verifica pelos dados do sexto dia de fermentação. Segundo Dias & Castro-Gomez (1988), a elevada acidez do cacau não é própria da semente, mas adquirida durante a fermentação quando os tecidos dos cotilédones absorvem ácidos e outras substâncias produzidas por microrganismos envolvidos no processo. Ainda de acordo com a Tabela 5, o aumento considerável da acidez total titulável verificado do término da fermentação (sexto dia) ao término da secagem pode ser explicado pela redução da umidade de 40 - 50% para 6 - 8%. De acordo com Biehl & Voigt (1996), amêndoas de cacau que adquirem acidez elevada durante a fermentação levam a produtos sem o aroma característico de chocolate. De acordo com Cohen & Jackix (2005), para amêndoas de cacau fermentadas e secas, a faixa de acidez desejada pelas indústrias situa-se entre 12 e 15 meq NaOH/ 100 g. Considerando-se esse aspecto, TSH 565, TSH 774, CEPEC 42 e o cacau comum apresentaram valores de acidez total titulável acima dos valores recomendados.

A redução dos valores de pH e o aumento da acidez total titulável do início da fermentação ao término da secagem observados para a maioria dos materiais estudados, conforme apresentado nas Tabelas 4 e 5, também foram verificados por outros autores (LOPEZ, 1983; DIAS & CASTRO-GOMEZ, 1988; CUBERO *et al.*, 1993; MATTIETTO, 2001). Dias & Castro-Gomez (1988), que determinaram os teores de ácidos livres, totais e acético na polpa e cotilédones de sementes de cacau do tipo comum durante a fermentação, verificaram que o pH dos cotilédones decresceu de 6,2 para 4,6 e da polpa/testa aumentou de 3,6 para 4,5 no decorrer da fermentação. Considerando que no presente estudo avaliou-se o pH e a acidez total titulável do conjunto cotilédone, testa e polpa (todos homogeneizados), os valores de pH observados encontram-se numa faixa próxima daquela

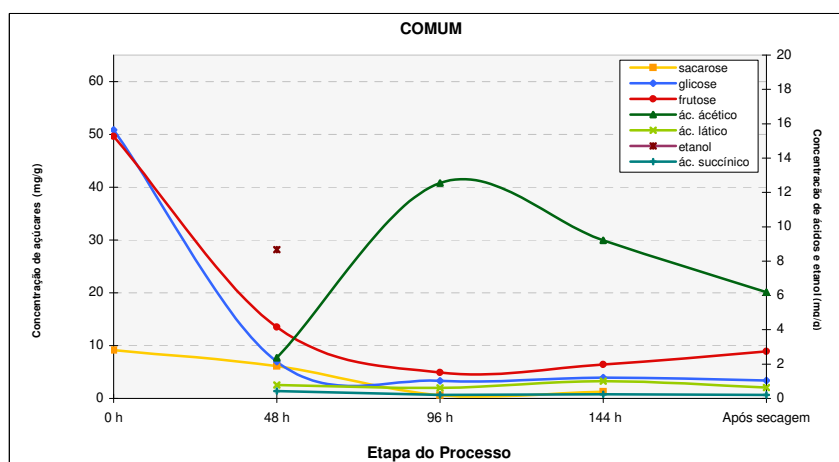
citada por Dias & Castro-Gomez (1988). De acordo com Mejía (1950), citado por Cubero *et al.* (1993), as diferenças de pH e acidez total titulável verificadas para os diferentes materiais estudados podem ter ocorrido devido a diferenças na composição da polpa de cada material.

Cubero *et al.* (1993), estudaram o efeito de genótipos dos grupos *Criollo*, Trinitário e *Forasteros* Alto Amazônico e Catongo (tipo Baixo Amazônico resultante de uma mutação, caracterizado, entre outros aspectos, por sementes com cotilédones brancos ou não pigmentados) sobre a fermentação de cacau. Para cada grupo avaliado foram utilizados pelo menos 7 clones. Os autores encontraram poucas diferenças em relação ao pH dos materiais dos diferentes grupos após a fermentação, o qual variou, em média, de 5,0 a 5,6. Nesse mesmo trabalho, em relação a acidez total titulável, os materiais do grupo *Criollo* apresentaram os maiores valores, seguidos dos do grupo Trinitário, *Forastero* Alto Amazônico e Catongo. No presente trabalho, todos os materiais avaliados possuem genes do grupo *Forastero* porém, parte dos materiais são híbridos de *Forasteros* com *Forasteros* (TSA's, EET 397) e parte de *Forasteros* com Trinitários (TSH's).

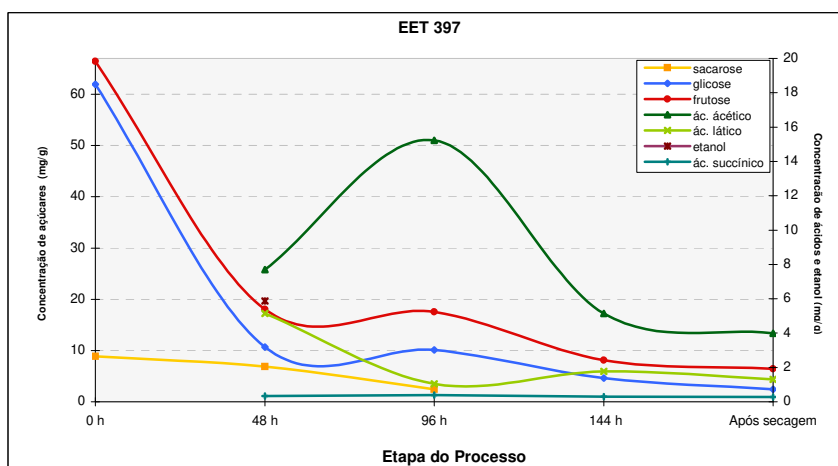
Na Figura 7 encontram-se os teores de ácidos orgânicos (ácidos láctico, acético e succínico), de açúcares (glicose, frutose e sacarose) e etanol, em base seca, dos diferentes materiais estudados, durante a etapa de fermentação (início ou tempo zero, 48, 96 e 144 h) e após a secagem.



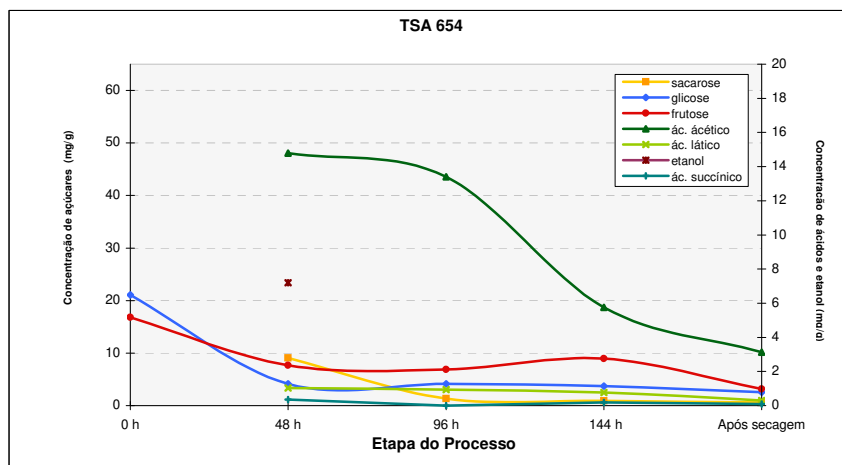
(a)



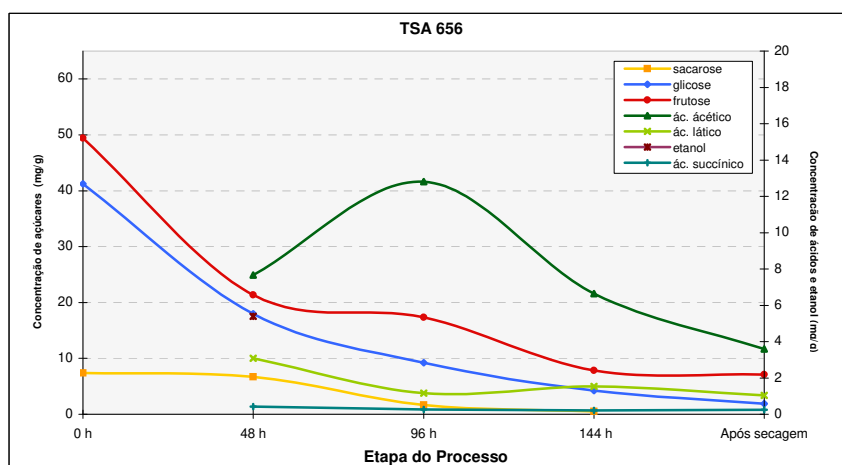
(b)



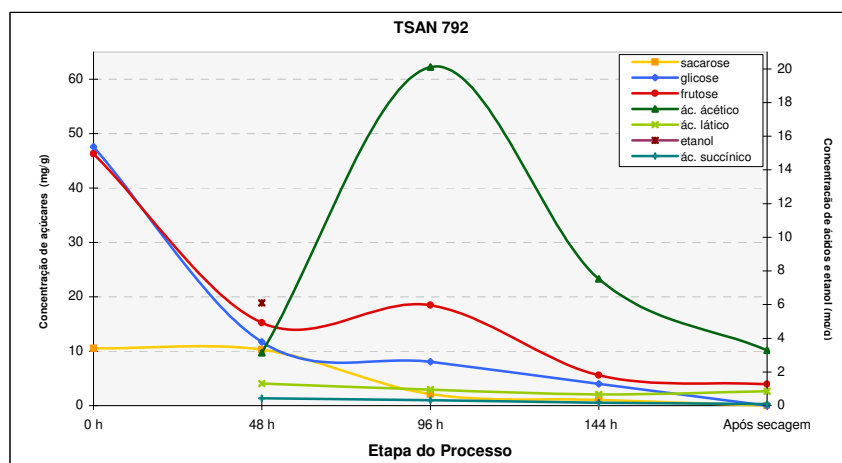
(c)



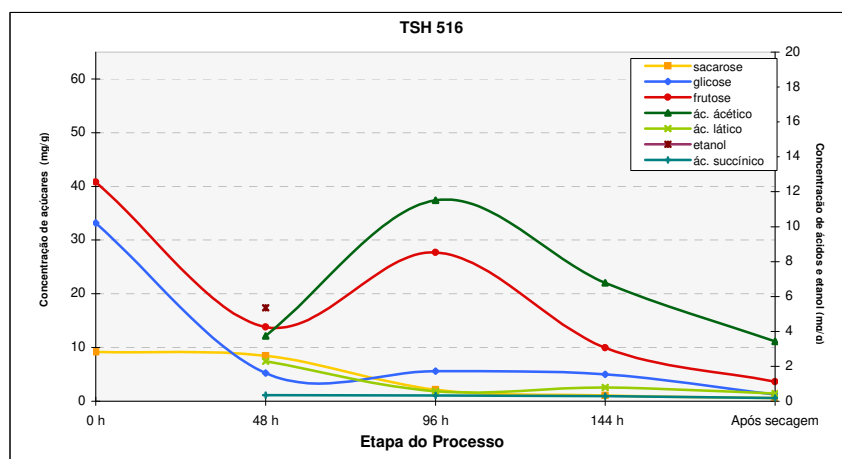
(d)



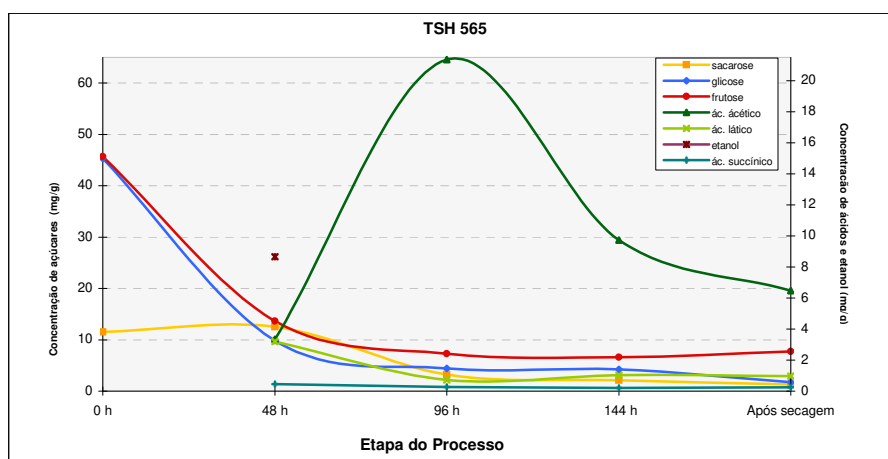
(e)



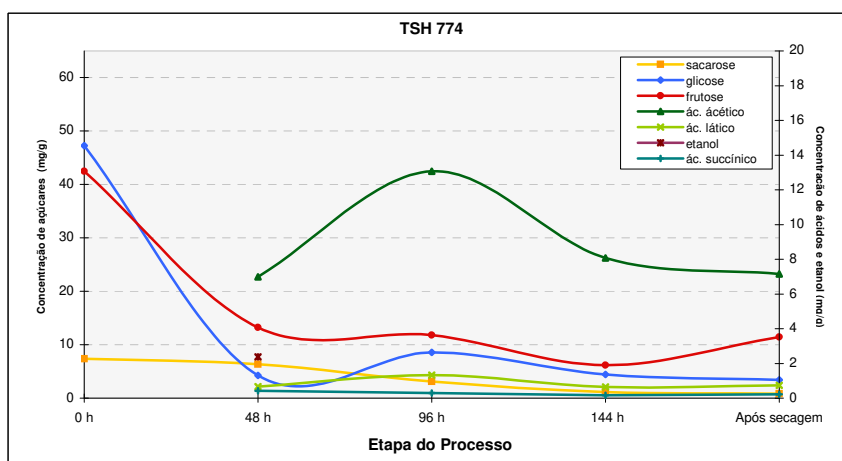
(f)



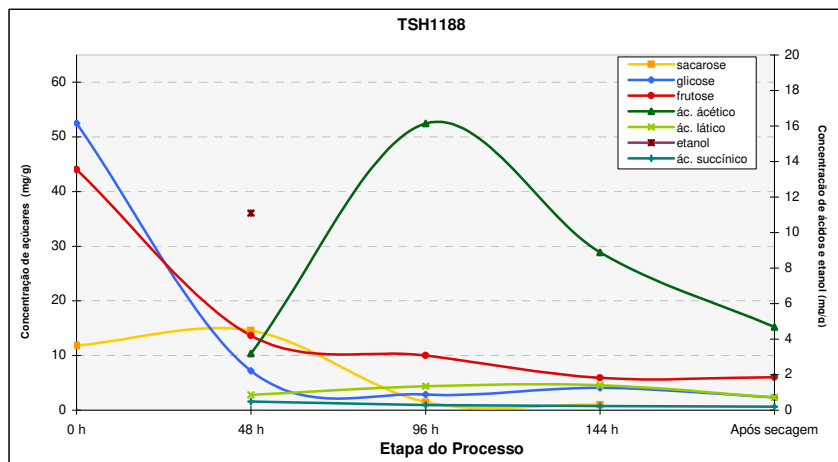
(g)



(h)



(i)



(j)

Figura 7. Teores, em base seca, de ácidos orgânicos, açúcares e etanol monitorados durante a etapa de fermentação e ao término da secagem de sementes de cacau de dez cultivares. Na Figura, (a) Cepec 42; (b) Comum; (c) EET 397; (d) TSA 654; (e) TSA 656; (f) TSAN 792; (g) TSH 516; (h) TSH 565; (i) TSH 774; (j) TSH 1188

De acordo com os resultados apresentados na Figura 7, verifica-se que o perfil geral de açúcares para todos os materiais foi similar nos diferentes períodos avaliados, tendo possivelmente ocorrido o seu consumo em reações bioquímicas ou a sua perda por meio do escoamento da polpa liquefeita de sacarose, glicose e frutose durante a fermentação. Para todos os materiais, o teor de sacarose, ao término da secagem, aproximou-se de zero. De acordo com Rohan & Stewart (1967) e Cross & Jeanjean (1995), a sacarose, cujos teores iniciais variam normalmente de 1 a 2%, é hidrolisada quase totalmente nos quatro primeiros dias de fermentação levando ao aumento dos teores de glicose e frutose. Verificou-se que os teores dos açúcares monitorados variaram consideravelmente entre os materiais estudados. A maior parte dos açúcares quantificados no início da fermentação se encontrava na polpa, sendo que as diferenças encontradas nos teores de sacarose, glicose e frutose para os diferentes materiais influenciaram a sua fermentação, uma vez que esses açúcares são substrato de leveduras na fase anaeróbica inicial da fermentação. Estudos como os de Clapperton *et al.* (1993); Figueira *et al.* (1997) e Sukha *et al.* (2008), que avaliaram a influência de genótipos nas características químicas e sensoriais de *liquors* ou

chocolates obtidos de microfermentações em quantidades de 1 a 3 Kg de sementes com polpa colocadas em lotes maiores de fermentação de misturas de outros genótipos, não consideraram os efeitos que a composição da polpa poderia causar à evolução do processo fermentativo, como por exemplo ao desenvolvimento dos microrganismos e às reações bioquímicas observadas e, conseqüentemente, sua influência às características avaliadas.

Outro comportamento comum a todos os materiais foi a diminuição do teor de ácido acético, do período de pico (verificado sempre no tempo de 96 h de fermentação, exceto para TSA 654), ao término da secagem. Isso já era esperado, uma vez que esse ácido é volátil, sendo que sua concentração diminui durante a fermentação e a secagem devido aos revolvimentos durante a fermentação e a intensa circulação de ar durante a secagem.

Uma vez que as amostras foram avaliadas de 48 em 48 h durante a fermentação, o etanol foi quantificado apenas com 48 h de fermentação, evidenciando como esperado, a formação desse composto, principalmente nos dois primeiros dias de fermentação, antes do primeiro revolvimento, como resultado da atividade de leveduras anaeróbicas que consumiram parte dos açúcares presentes na polpa, transformando-os em etanol. A partir de 48 h de fermentação, com a oxigenação da massa dos materiais estudados pelo revolvimento, tornou-se viável o desenvolvimento de bactérias que consumiram o etanol, formando outros compostos, como o ácido acético. Isso pode ser verificado na Figura 5, sendo que para todos os materiais, exceto o cultivar TSA 654, a concentração máxima de ácido acético foi verificada com 96 h de fermentação, ocorrendo em seguida queda. Durante essa etapa, a diminuição do pH das sementes devido principalmente à difusão do ácido acético formado, origina diversas reações bioquímicas necessárias ao desenvolvimento do sabor e aroma de cacau (JINAP *et al.*, 1995). Jinap & Dimick (1990), demonstraram que elevados teores de ácido acético estavam relacionados com baixos valores de pH e elevada acidez total titulável, conforme também foi observado nos resultados apresentados nas Tabelas 5 e 6 e Figura 5. Ao término da secagem, foram verificados menores valores de pH, maior acidez total titulável e maior concentração de

ácido acético para o cultivar CEPEC 42, seguido-se a este os cultivares TSH 774, TSH 565 e do cacau comum.

Para todos os materiais estudados foi verificada a formação de ácido láctico no decorrer da fermentação, devido à atividade de bactérias lácticas, conforme será verificado na Tabela 9, porém em concentrações sempre bem abaixo das concentrações de ácido acético, indicando a predominância da fermentação acética sobre a láctica em todos os materiais, o que é de extrema importância para a formação dos precursores de sabor do cacau. De acordo com Lopez (1983), no decorrer da fermentação verifica-se a redução do ácido láctico e o conseqüente aumento no teor de ácido acético, o qual é volátil e pode ser eliminado em etapas posteriores como a torração e a conchagem. Neste trabalho, a concentração de ácido láctico para os diferentes materiais estudados manteve-se constante ao longo da fermentação e na secagem.

O cultivar TSH 565 apresentou a mais intensa formação de ácido acético no decorrer da fermentação, sendo que alcançou concentração máxima próxima a 21,36 mg/g no quarto dia. Os cultivares TSH 1188 e TSH 774 apresentaram, respectivamente, a maior e a menor concentração de etanol com 48 h de fermentação (11,1 e 2,4 mg/g). Para uma melhor avaliação das concentrações de etanol formadas e perdidas durante a fermentação, amostras deveriam ter sido tomadas em intervalos menores que 48 h.

Avaliando-se as Figuras 5 e 6 (temperatura e pH da massa em fermentação) e a Figura 7, verifica-se que a fermentação do cultivar TSA 654 ocorreu de forma distinta dos demais materiais sendo mais rápida, ou seja, nas primeiras 48 h de fermentação não apenas houve a produção de etanol como também de ácido acético. As diferenças observadas nas Figuras 5, 6 e 7 em relação à evolução da fermentação dos diferentes materiais indicam que o tempo de fermentação de cada material não necessariamente deveria ter sido o mesmo, ou seja, alguns materiais necessitariam de maior e outros de menor tempo.

De acordo com Lopez (1983) e Cross (1999), o ácido láctico presente nos cotilédones ao final da fermentação é produzido a partir do ácido cítrico presente na polpa mucilaginosa que envolve as sementes previamente à fermentação. No presente trabalho, não foi possível monitorar os teores de ácido cítrico dos diferentes materiais.

Reineccius *et al.* (1972) citados por Pezoa-García (1989) demonstraram que a frutose é o açúcar redutor de maior importância na produção dos compostos aromáticos responsáveis pelo aroma característico do cacau, como as pirazinas. De acordo com os mesmos autores, o teor de frutose em relação ao de glicose é notadamente maior em amêndoas bem fermentadas, conforme observado para todos os materiais avaliados no presente trabalho. No Anexo 1, ao final deste Capítulo, encontram-se as tabelas com as concentrações de açúcares, ácidos orgânicos e etanol verificados durante a fermentação e ao término da secagem.

Não foram encontrados estudos que tenham avaliado as concentrações de ácidos orgânicos, açúcares e etanol nas etapas de fermentação e secagem de clones de cacau de diferentes cultivares. Holm *et al.* (1993) avaliaram o efeito das concentrações de ácidos orgânicos na acidez e no sabor de amêndoas fermentadas e secas procedentes de diferentes países produtores de cacau e concluíram que altas concentrações dos ácidos acético e láctico estavam correlacionadas positivamente com o sabor ácido verificado em chocolates produzidos com estes materiais. Conforme verificado neste trabalho, a concentração dos ácidos acético e láctico produzidos durante a fermentação variou de forma considerável, demonstrando a necessidade de se realizar fermentações específicas para cada material e não seguir um protocolo comum como neste estudo.

Na Tabela 6 encontram-se os teores de nitrogênio total dos diferentes materiais estudados, do início da fermentação ao término da secagem.

Tabela 6. Teor de nitrogênio total de sementes e amêndoas de dez cultivares de cacau no decorrer da fermentação e ao término da secagem

	Teor de nitrogênio total em base seca e desengordurada (g/100 g)				
	Durante a fermentação				Após secagem
	Início	48 h	96 h	144 h	
CEPEC 42	27,65 ± 0,53 ^{abc}	24,92 ± 1,04 ^{bc}	20,34 ± 0,18 ^{bcd}	20,99 ± 0,19 ^b	19,40 ± 0,88 ^{abc}
COMUM	25,43 ± 0,54 ^{def}	25,64 ± 0,76 ^{ab}	17,43 ± 0,10 ^{ef}	17,04 ± 0,18 ^f	17,66 ± 0,16 ^{cde}
EET 397	25,09 ± 1,00 ^{def}	25,18 ± 0,67 ^{abc}	19,86 ± 1,67 ^{cd}	18,77 ± 0,26 ^e	16,43 ± 0,91 ^{ef}
TSA 654	29,13 ± 0,76 ^a	26,74 ± 0,25 ^{ab}	22,77 ± 0,17 ^a	22,09 ± 0,10 ^a	21,41 ± 0,23 ^a
TSA 656	27,84 ± 0,37 ^{ab}	26,13 ± 0,49 ^{ab}	19,06 ± 0,66 ^{de}	19,66 ± 0,18 ^d	18,25 ± 0,34 ^{bcde}
TSAN 792	25,94 ± 0,29 ^{cde}	23,16 ± 1,13 ^c	21,66 ± 0,97 ^{abc}	20,93 ± 0,34 ^{bc}	16,98 ± 0,22 ^{def}
TSH 516	27,04 ± 0,01 ^{bcd}	27,44 ± 0,86 ^a	22,59 ± 0,50 ^a	20,24 ± 0,19 ^{cd}	18,70 ± 0,65 ^{bcde}
TSH 565	24,05 ± 0,29 ^f	26,89 ± 0,50 ^{ab}	19,13 ± 0,24 ^{de}	19,33 ± 0,55 ^{de}	18,72 ± 0,88 ^{bcd}
TSH 774	25,11 ± 1,22 ^{cdef}	24,98 ± 0,73 ^{bc}	16,74 ± 0,29 ^f	17,67 ± 0,34 ^f	15,13 ± 0,73 ^f
TSH 1188	24,92 ± 0,58 ^{ef}	24,53 ± 1,41 ^{bc}	22,26 ± 0,06 ^{ab}	22,29 ± 0,21 ^a	19,42 ± 0,69 ^{ab}
D.M.S	1,84	2,45	1,97	0,81	1,84

D.M.S: Diferença mínima significativa

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

De forma geral, todos os materiais estudados apresentaram perda de nitrogênio total no decorrer das etapas de fermentação e secagem. Houve uma tendência de maior perda de nitrogênio total entre 48 e 96 h da fermentação e durante a secagem. As perdas totais verificadas na farinha seca e desengordurada dos diferentes materiais, entre a fermentação e a secagem, foram, em média, de 22 a 40%, sendo que os cultivares TSH 565 e TSH 1188 apresentaram as menores perdas (próximas a 22%) e o cultivar TSH 774 apresentou a maior perda (de 40%). Os demais materiais apresentaram, em média, de 30 a 34% de perdas. Durante a fermentação, diversas reações bioquímicas levam a perdas protéicas devido a atuação de enzimas ou complexação com compostos fenólicos (HANSEN *et al.*, 1998; BRITO, 2000; SOARES, 2001). Foram observadas poucas diferenças significativas quanto ao teor de nitrogênio total entre os materiais estudados, o que não significa necessariamente que as diferenças nos teores de proteínas dos diferentes ensaios tenham também sido

pequenas. Cabe ressaltar que o método utilizado para determinação das proteínas (micro Kjeldahl) avalia o teor de compostos nitrogenados e não das proteínas em si. Uma análise mais aprofundada do perfil das proteínas de cada material estudado seria importante para a avaliação de sua influência na formação dos precursores de sabor desejáveis formados nas etapas de processamento do cacau.

A Tabela 7 apresenta os teores de compostos fenólicos totais avaliados no decorrer da fermentação e ao término da secagem dos diferentes materiais.

Tabela 7. Teor de compostos fenólicos totais de sementes e amêndoas de dez cultivares de cacau no decorrer da fermentação e ao término da secagem

	Teor de compostos fenólicos totais em base seca e desengordurada (mg/ g)				
	Durante a fermentação				Após secagem
	Início	48 h	96 h	144 h	
CEPEC 42	159,06 ± 2,39 ^{ab}	159,06 ± 2,39 ^{ab}	115,18 ± 2,44 ^b	106,19 ± 0,28 ^{cd}	102,12 ± 4,81 ^{ab}
COMUM	161,77 ± 4,32 ^{ab}	143,32 ± 6,74 ^{cde}	122,36 ± 2,36 ^b	110,76 ± 2,06 ^{bc}	107,74 ± 0,78 ^a
EET 397	152,13 ± 1,39 ^b	139,61 ± 1,31 ^{de}	121,54 ± 0,91 ^b	96,92 ± 0,71 ^{ef}	92,35 ± 3,61 ^{cde}
TSA 654	166,80 ± 0,04 ^a	161,67 ± 1,43 ^a	130,77 ± 6,09 ^a	101,58 ± 2,64 ^{de}	91,07 ± 0,86 ^{de}
TSA 656	162,18 ± 6,46 ^{ab}	130,91 ± 1,55 ^c	121,49 ± 0,73 ^b	120,51 ± 1,31 ^a	101,67 ± 0,33 ^{ab}
TSAN 792	129,04 ± 4,17 ^c	119,85 ± 4,27 ^f	96,65 ± 0,56 ^d	92,54 ± 5,67 ^f	73,79 ± 2,08 ^f
TSH 516	157,85 ± 8,81 ^{ab}	154,84 ± 1,80 ^{abc}	120,38 ± 2,81 ^b	112,75 ± 0,69 ^b	97,66 ± 2,80 ^{bcd}
TSH 565	162,05 ± 2,52 ^{ab}	148,24 ± 4,68 ^c	106,43 ± 0,38 ^c	100,92 ± 0,84 ^{de}	98,94 ± 1,09 ^{bc}
TSH 774	139,58 ± 2,22 ^c	137,62 ± 0,43 ^{de}	86,28 ± 3,66 ^e	76,95 ± 0,42 ^g	74,84 ± 0,21 ^f
TSH 1188	168,83 ± 0,48 ^a	160,11 ± 5,25 ^{ab}	122,19 ± 1,20 ^b	112,14 ± 1,72 ^{bc}	90,38 ± 1,06 ^e
D.M.S	12,08	9,36	7,83	6,46	6,60

D.M.S: Diferença mínima significativa

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

Verifica-se que o teor de compostos fenólicos totais ao início da fermentação variou de 129,04 a 168,83 mg/g, e ao término da secagem, de 73,79 a 107,74 mg/g, sendo que as perdas verificadas durante essas etapas para os diferentes materiais estudados variaram de 38,2 a 55,7%. Jonfia-Essien *et al.* (2008) que avaliaram o teor de compostos fenólicos de quatro tipos de materiais genéticos de Gana, híbridos de: Trinitários com *Forasteros*

Amazônicos; *Forasteros* Amazônicos com *Forasteros* Amazônicos; *Forasteros* Amazônicos com Amelonados e o cacau tradicional da região, verificaram que o teor de compostos fenólicos após a fermentação e secagem dos materiais variou de 70 a 80 mg/g. De acordo com os resultados apresentados na Tabela 7, no início da fermentação, os maiores teores de compostos fenólicos totais foram verificados nos cultivares TSH 1188 e TSA 654, seguidos dos cultivares TSA 656, TSH 565, Comum, CEPEC 42 e TSH 516, sendo que os materiais anteriores não apresentaram diferença estatística ao nível de 5% de significância em relação ao teor de compostos fenólicos totais. Os menores teores foram verificados nos cultivares TSH 774 e TSAN 792, tanto no início das fermentações como ao término da secagem. A partir de 48 h de fermentação, os teores de compostos fenólicos apresentaram maiores diferenças entre os materiais estudados. Nessa fase os maiores teores foram novamente verificados nos cultivares TSH 1188 e TSA 654.

O cultivar TSA 656 apresentou a maior perda de compostos fenólicos totais nas primeiras 48 h de fermentação, de aproximadamente 20%, enquanto os demais tiveram perdas de 11% ou inferiores. De forma geral, o cultivar TSH 774 apresentou a maior perda de compostos fenólicos entre 48 e 96 h de fermentação (37,3%), seguido dos cultivares TSH 565 e CEPEC 42 (respectivamente 28,2 e 27,4%). Por outro lado, o cultivar TSA 656, que sofreu a maior perda de compostos fenólicos totais nas primeiras 48 h de fermentação, sofreu perda de apenas 7,2% entre 48 e 96 h desta etapa. Entre 96 e 144 h de fermentação, os cultivares TSA 654 e EET 397 tiveram as maiores perdas em relação aos demais materiais, sendo estas de aproximadamente 20%. Durante a etapa de secagem, os cultivares TSAN 792 e TSH 1188 apresentaram 20% de perda dos compostos fenólicos totais, enquanto os cultivares TSA 656, TSH 516 e TSA 654 apresentaram de 10 a 15% de perdas e os demais materiais perderam menos de 5% dos compostos fenólicos. De forma geral, verificou-se que as concentrações dos compostos fenólicos totais e sua perda foi distinta para os diferentes materiais ao longo das etapas de fermentação e secagem, novamente mostrando que cada cultivar estudado apresenta especificidades, ou que as diferenças verificadas na etapa de fermentação levaram às distinções observadas.

Ao término da secagem, os maiores teores de compostos fenólicos totais foram observados nas amêndoas do cacau Comum, seguido das do Cepec 42 e TSA 656, sendo que os teores das amêndoas desses dois últimos cultivares não se diferenciaram dos teores de TSH 516 e de TSH 565.

As sementes do cacaueiro contêm de 12 a 20% de seu peso seco e desengordurado de polifenóis, teor considerado bastante elevado em comparação a outros vegetais (KIM & KEENEY, 1984; SANBONGI *et al.*, 1998; BRITO, 2000; SANCHEZ-RABANEDA *et al.*, 2003; EFRAIM *et al.*, 2006). Sua perda durante a fermentação está relacionada com o seu contato com enzimas como a polifenoloxidase e glicosidases (FORSYTH & QUESNEL, 1958), além de complexações com proteínas (BRITO, 2000; CROSS *et al.*, 1982). Na secagem, a perda de polifenóis é atribuída principalmente ao escurecimento enzimático causado pela polifenoloxidase.

Nas Tabelas 8, 9, 10 e 11 são apresentadas as contagens de microrganismos observadas ao decorrer da fermentação e ao término da secagem. Não foi observada presença de *Salmonella* e *E. Coli*.

Tabela 8. Contagem de microrganismos mesófilos totais de sementes e amêndoas de dez cultivares de cacau durante a fermentação e ao término da secagem

	Microrganismos aeróbios mesófilos totais (UFC/g)*				
	Durante a fermentação				Após secagem
	Início	48 h	96 h	144 h	
CEPEC 42	$8,0 \times 10^4$	$2,9 \times 10^3$	$2,8 \times 10^3$	$4,7 \times 10^5$	$2,7 \times 10^5$
COMUM	$1,5 \times 10^3$	$5,0 \times 10^4$	$1,0 \times 10^3$	$1,0 \times 10^7$	$4,2 \times 10^5$
EET 397	$4,7 \times 10^3$	$4,1 \times 10^2$	$3,6 \times 10^3$	$9,4 \times 10^5$	$2,5 \times 10^5$
TSA 654	$7,0 \times 10^2$	$3,6 \times 10$	$4,5 \times 10^6$	$> 6,5 \times 10^8$	$> 6,5 \times 10^6$
TSA 656	$6,8 \times 10^3$	$6,7 \times 10^4$	$1,8 \times 10^4$	$4,7 \times 10^7$	$4,9 \times 10^4$
TSAN 792	$1,1 \times 10^4$	$1,1 \times 10^4$	$2,4 \times 10^3$	$2,5 \times 10^6$	$3,6 \times 10^4$
TSH 516	$7,0 \times 10^3$	$3,2 \times 10^3$	$3,3 \times 10^2$	$9,1 \times 10^6$	$2,2 \times 10^5$
TSH 565	$2,6 \times 10^3$	$2,0 \times 10^4$	$1,3 \times 10^3$	$1,5 \times 10^6$	$2,2 \times 10^4$
TSH 774	$4,2 \times 10^2$	$1,0 \times 10^5$	$3,3 \times 10^3$	$1,2 \times 10^9$	$4,3 \times 10^4$
TSH 1188	$5,0 \times 10_3$	$8,1 \times 10^2$	$5,6 \times 10^3$	$6,0 \times 10^6$	$1,0 \times 10^5$

* Unidades Formadoras de Colônias por grama.

Tabela 9. Contagem de bactérias lácticas de sementes e amêndoas de dez cultivares de cacau durante a fermentação e ao término da secagem

	Bactérias Lácticas (UFC/g)*				
	Durante a fermentação				Após Secagem
	Início	48 h	96 h	144 h	
CEPEC 42	<10 – 60	20 – 40	<10 – 190	7,0 x 10 ⁴	<10
COMUM	< 10	< 10	<10 – 270	<10 – 1,6 x 10 ⁷	<10 – 2,0x 10 ⁵
EET 397	< 10	< 10	<10 – 800	6,3 x 10 ⁵	< 10 – 2,3 x 10 ⁴
TSA 654	190	< 10	1,1x10 ⁶ - 5,7x 10 ⁶	4,0 x 10 ⁷	5,2x 10 ⁵ - 6,5 x 10 ⁵
TSA 656	< 10 – 100	40 - 50	28 - 140	4,4 x 10 ⁷	1,5x10 ³ – 2,4 x 10 ³
TSAN 792	< 10	520	< 10 – 90	9,6 x10 ⁵ - 2,4x 10 ⁶	3,4x 10 ³ -5,8 x 10 ³
TSH 516	54	52 – 70	20	4,1x 10 ⁶ - 6,9 x 10 ⁶	< 10
TSH 565	< 10	50	40 - 50	1,7 x 10 ⁶	4,9 x 10 ³ - 8,1x 10 ³
TSH 774	< 10	10 - 50	8,6 x 10 ⁴	7,4x 10 ⁸ – 9,2x 10 ⁸	330 - 550
TSH 1188	<10	<10 – 14	1,3 x 10 ³	3,2 x 10 ⁶ - 5,3x 10 ⁶	640

* Unidades Formadoras de Colônias por grama.

Tabela 10. Contagem de bolores e leveduras de sementes e amêndoas de dez cultivares de cacau durante a fermentação e ao término da secagem

	Bolores e leveduras (UFC/g)*				
	Durante a fermentação				Após Secagem
	0 h	48 h	96 h	144 h	
CEPEC 42	1,0 x 10 ²	< 10	< 10	2,2 x 10 ³	2,1 x 10 ⁴
COMUM	3,0 x 10 ²	< 10	< 10	4,3 x 10 ⁵	2,0 x 10 ⁵
EET 397	2,0 x 10 ²	< 10	6,0 x 10 ²	2,1 x 10 ⁴	1,1 x 10 ⁴
TSA 654	6,0 x 10 ²	< 10	1,2 x 10 ⁵	8,6 x 10 ⁵	5,0 x 10 ⁵
TSAN 792	5,0 x 10 ³	1,5 x 10 ²	< 10	1,5 x 10 ³	1,0 x 10 ²
TSA 656	2,3 x 10 ³	< 10	< 10	6,6 x 10 ⁴	3,1 x 10 ³
TSH 516	1,2 x 10 ⁴	< 10	< 10	1,8 x 10 ⁴	4,6 x 10 ⁵
TSH 565	1,3 x 10 ³	5,0 x 10	1,0 x 10	1,2 x 10 ⁵	3,1 x 10 ³
TSH 774	1,3 x 10 ²	< 10	10	1,3 x 10 ⁶	1,3 x 10 ⁴
TSH 1188	3,9 x 10 ³	< 10	< 10	3,3 x 10 ⁵	1,7 x 10 ⁴

** Unidades Formadoras de Colônias por grama.

Tabela 11. Contagem de bolores termorresistentes de sementes e amêndoas de cacau de dez cultivares de cacau durante a fermentação e ao término da secagem

Bolores termorresistentes (em 25 g)					
	Durante a fermentação				Ap. Secagem
	0 h	48 h	96 h	144 h	
CEPEC 42	2 (<i>N. fischeri</i>)	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência
COMUM	1 (<i>N. fischeri</i>)	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência
EET 397	1 (<i>N. fischeri</i>)	2 (<i>N. fischeri</i>)	1 (<i>N. fischeri</i>)	Ausência	Ausência
TSA 654	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	3 (<i>Paecilomyces sp.</i>)
TSA 656	1 (<i>N. fischeri</i>)	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência
TSA 792	1 (<i>N. fischeri</i>)	1 (<i>Byssoschlamys sp.</i>)	Ausência	Ausência	Ausência
TSH 516	4 (<i>N. fischeri</i> , <i>Byssoschlamys sp.</i>)	2 (<i>N. fischeri</i>)	Ausência	Ausência	Ausência
TSH 565	5 (<i>N. fischeri</i>)	1 (<i>N. fischeri</i>)	Ausência	Ausência	Ausência
TSH 774	4,0 (<i>N. fischeri</i>)	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência
TSH 1188	4 (<i>N. fischeri</i>)	2 (<i>N. fischeri</i> , <i>Byssoschlamys sp.</i>)	Ausência	Ausência	1 (<i>N. fischeri</i>)

Não foi possível, neste trabalho, realizar a quantificação de bactérias acéticas pois a caracterização microbiológica não foi realizada no mesmo local da etapa de fermentação, de forma que os materiais dos diferentes períodos de fermentação e após a secagem foram congelados e transportados para posterior análise microbiológica. Pelos resultados apresentados na Tabela 10, verificou-se um maior teor de bolores e leveduras ao início da fermentação, seguido de um decréscimo considerável no segundo e quarto dias, coincidindo com a oxigenação da massa em fermentação devido aos revolvimentos. O aumento verificado nas contagens ao término da fermentação e da secagem pode indicar a presença de bolores nos materiais estudados.

A contagem de aeróbios mesófilos, para todos os materiais estudados, variou em relação aos tempos de fermentação avaliados e ao término da secagem. O material TSA 654 apresentou diferenças substanciais em relação aos outros, tanto no início da fermentação, quando foram verificadas contagens menores em relação aos demais materiais, quanto no final, quando suas contagens foram maiores em relação aos demais. As maiores contagens de microrganismos aeróbios mesófilos foram observadas decorridas 144 h de fermentação, com variações entre os materiais de $4,7 \times 10^5$ (Cepec 42) a $1,2 \times 10^9$ (TSH 774). Lagunes-Galvéz *et al.* (2007), que estudaram a microflora e alguns aspectos bioquímicos na fermentação de cacau na República Dominicana, verificaram que a contagem de microrganismos aeróbios mesófilos alcançou $4,2 \times 10^7$ UFC/g após 48 h de fermentação.

Em trabalhos que buscaram identificar os tipos de microrganismos que participam de cada período de fermentações típicas realizadas em diferentes países produtores, como Gana (NIELSEN *et al.*, 2007), República Dominicana (LAGUNES-GÁLVEZ *et al.*, 2007) e Brasil (PASSOS *et al.*, 1984; SCHWAN, 1998), a sucessão de microrganismos que participam desta etapa foi similar, sendo inicialmente verificado o crescimento mais intenso de leveduras, seguido de bactérias lácticas e depois acéticas, e em alguns casos é verificado o crescimento de fungos produtores ou não de toxinas. Diferenças nas contagens verificadas podem ser explicadas, entre outros fatores, pelos diferentes métodos de fermentação utilizados, sendo que Nielsen *et al.* (2007) utilizaram montes; Lagunes-Galvéz

et al. (2007) utilizaram caixas de madeira com 100 Kg de sementes com polpa e Passos *et al.* (1984) e Schwan (1998) utilizaram caixas de madeira com 1000-3000 Kg de sementes com polpa. Em todos esses trabalhos foram usadas misturas de cacau, ao contrário do realizado no presente trabalho.

3.3 Avaliação da qualidade das amêndoas fermentadas e secas

A Tabela 12 apresenta a caracterização física e a composição em frações das amêndoas fermentadas e secas dos diferentes materiais estudados.

Tabela 12. Caracterização física e composição em frações de amêndoas fermentadas e secas de dez cultivares de cacau

Cultivar	Densidade aparente (g/cm ³)	Massa Individual (g)	Nºamêndoas/ 100 g	Composição em frações (%)		
				Cotilédone	Gérmen	Testa
CEPEC 42	0,51 ± 0,01 ^{ab}	1,10 ± 0,09 ^{ab}	91 ± 4 ^a	82,72 ± 0,40 ^b	0,84 ± 0,01 ^a	16,44 ± 0,40 ^a
COMUM	0,47 ± 0,01 ^b	1,34 ± 0,28 ^a	93 ± 3 ^a	83,41 ± 0,60 ^{ab}	0,82 ± 0,02 ^a	15,76 ± 0,59 ^{ab}
EET 397	0,61 ± 0,03 ^a	1,32 ± 0,27 ^a	77 ± 3 ^{bc}	82,46 ± 0,55 ^b	0,81 ± 0,01 ^a	16,42 ± 0,57 ^a
TSA 654	0,49 ± 0,02 ^b	1,25 ± 0,42 ^{ab}	80 ± 2 ^b	84,15 ± 0,39 ^{ab}	0,86 ± 0,02 ^a	14,98 ± 0,78 ^b
TSA 656	0,55 ± 0,03 ^{ab}	1,04 ± 0,11 ^b	96 ± 3 ^a	84,47 ± 0,47 ^a	0,83 ± 0,01 ^a	14,71 ± 0,47 ^b
TSAN 792	0,50 ± 0,01 ^{ab}	1,25 ± 0,19 ^{ab}	80 ± 2 ^b	82,63 ± 0,45 ^b	0,84 ± 0,02 ^a	16,53 ± 0,44 ^a
TSH 516	0,51 ± 0,01 ^{ab}	1,19 ± 0,14 ^{ab}	84 ± 2 ^b	83,49 ± 0,52 ^{ab}	0,86 ± 0,01 ^a	15,62 ± 0,52 ^{ab}
TSH 565	0,47 ± 0,02 ^b	1,35 ± 0,22 ^a	74 ± 3 ^{cd}	85,39 ± 0,47 ^a	0,76 ± 0,03 ^a	13,85 ± 0,90 ^c
TSH 774	0,48 ± 0,01 ^b	1,10 ± 0,23 ^{ab}	91 ± 3 ^{ab}	83,75 ± 0,52 ^{ab}	0,85 ± 0,03 ^a	15,40 ± 0,55 ^b
TSH 1188	0,54 ± 0,03 ^{ab}	1,44 ± 0,34 ^a	70 ± 1 ^d	84,00 ± 0,95 ^{ab}	0,86 ± 0,03 ^a	15,44 ± 0,98 ^b
D.M.S	0,09	0,23	3	1,64	0,05	0,68

D.M.S: Diferença mínima significativa. Valores de uma mesma coluna, com a mesma letra, não diferem significativamente entre si (Teste de Tukey a 5% de significância)

Verifica-se que as amêndoas fermentadas e secas do cultivar EET 397 apresentaram maior densidade aparente em relação às dos demais materiais, com diferença estatística significativa apenas em relação aos materiais Comum, TSA 654, TSH 565 e TSH 774. Verificou-se, visualmente, que seu formato é mais arredondado e distinto das amêndoas dos

outros materiais, com formato mais ovóide. O maior teor de cotilédone foi observado nas amêndoas do cultivar TSH 565. Por outro lado, os maiores teores de testa foram verificados nas amêndoas dos cultivares EET 397, TSAN 792 e CEPEC 42. O peso das amêndoas e o teor de cotilédones em relação ao de testa têm grande importância para a indústria chocolateira, por estarem diretamente relacionados ao rendimento final. De acordo com Cubero *et al.* (1993), o peso mínimo de uma amêndoa deve ser de 1,0 g e o teor de testa deve estar entre 12 e 14%. Todos os materiais apresentaram peso individual superior a 1,0 g, sendo que o TSH 1188 apresentou o maior peso. O material TSH 565 apresentou o menor teor de testa em relação aos demais, sendo o único que ficou na faixa de 12 a 14% mencionada por Cubero *et al.* (1993).

A Tabela 13 apresenta os resultados da prova de corte das amêndoas secas.

Tabela 13. Resultados da prova de corte efetuada nas amêndoas fermentadas e secas de dez cultivares de cacau

	Marrons	Violáceas- marrons	Violáceas	Bem fermentadas	Parcialmente fermentadas	Pouco fermentadas
CEPEC 42	36,7 ± 1,2 ^e	27,0 ± 2,7 ^e	36,3 ± 0,6 ^{ab}	57,0 ± 1,0 ^{cde}	27,7 ± 1,5 ^c	15,0 ± 1,0 ^{cd}
COMUM	57,2 ± 1,3 ^b	18,0 ± 1,0 ^b	24,5 ± 1,5 ^d	73,2 ± 3,7 ^a	20,2 ± 1,6 ^d	6,6 ± 2,9 ^f
EET 397	34,2 ± 1,6 ^e	44,3 ± 5,7 ^f	21,2 ± 1,6 ^a	23,9 ± 2,0 ^g	59,1 ± 3,0 ^a	17,0 ± 2,0 ^{bc}
TSA 654	45,0 ± 2,0 ^{cd}	28,0 ± 1,0 ^{cd}	26,7 ± 0,6 ^{cd}	61,0 ± 1,0 ^{bc}	29,3 ± 3,5 ^c	10,0 ± 1,7 ^{def}
TSA 656	44,3 ± 2,5 ^{de}	29,7 ± 3,5 ^{de}	26,0 ± 3,0 ^d	43,3 ± 1,2 ^f	25,7 ± 1,5 ^{cd}	31,0 ± 2,7 ^a
TSA 792	52,7 ± 1,2 ^{bc}	34,3 ± 1,5 ^{bc}	13,0 ± 2,7 ^e	66,3 ± 2,1 ^b	27,3 ± 3,1 ^{cd}	6,7 ± 2,1 ^f
TSH 516	74,3 ± 2,1 ^a	10,0 ± 2,0 ^a	15,3 ± 2,5 ^e	66,3 ± 1,2 ^b	20,3 ± 1,5 ^d	13,3 ± 3,1 ^{cde}
TSH 565	44,7 ± 4,5 ^{cde}	32,7 ± 3,5 ^{cde}	22,7 ± 3,1 ^d	51,7 ± 3,1 ^e	25,7 ± 1,5 ^{cd}	23,0 ± 2,0 ^b
TSH 774	58,0 ± 6,0 ^b	35,7 ± 1,5 ^b	6,3 ± 2,5 ^f	52,7 ± 3,1 ^{de}	40,0 ± 2,0 ^b	7,7 ± 1,5 ^{ef}
TSH 1188	41,7 ± 1,5 ^{de}	26,0 ± 2,0 ^{de}	32,7 ± 2,1 ^{bc}	59,3 ± 3,5 ^{cd}	26,0 ± 3,6 ^{cd}	15,0 ± 1,0 ^{cd}
D.M.S	8,2	8,1	6,3	7,0	7,0	6,1

D.M.S: Diferença mínima significativa

Valores de uma mesma coluna, com a mesma letra, não diferem significativamente entre si (Teste de Tukey a 5% de significância)

O material TSH 516 apresentou elevado teor de amêndoas marrons, apesar de a temperatura e o pH da massa de sementes em fermentação no decorrer do processo fermentativo, terem sido similares em relação aos demais materiais, conforme apresentaram as Figuras 6 e 7. Por outro lado, os cultivares EET 397 e CEPEC 42 apresentaram as menores quantidades de amêndoas de coloração marrom. Verifica-se na Figura 4 que ao final da fermentação do material EET 397, houve um acentuado aumento do pH. Porém, isso não justifica o menor teor de amêndoas de coloração marrom e, por consequência, o maior teor de amêndoas violáceas (41,2%) em relação aos demais materiais. Diversos fatores podem ter influenciado os resultados observados, como os teores de cada tipo de compostos fenólicos, as reações bioquímicas que ocorreram durante a fermentação, entre outros. Com relação a compartimentação dos cotilédones, avaliação utilizada para a quantificação de amêndoas bem, parcialmente ou mal fermentadas, verificou-se que o material Comum apresentou o maior teor de amêndoas bem fermentadas (73,2%) e o menor teor de mal fermentadas (6,6%). Confirmando os resultados observados na avaliação da coloração, o material EET 397 apresentou o menor teor de amêndoas bem fermentadas (23,9%).

4. CONCLUSÕES

- Em relação às características biométricas dos cultivares avaliados, verificou-se que o tamanho dos frutos não está diretamente relacionado com parâmetros importantes a considerar como o percentual de sementes com polpa por fruto e a massa de sementes com polpa por Kg de frutos. Dos grupos de cacau estudados, os cultivares TSH 1188, TSA 654 e TSH 774, apresentaram as maiores médias de massa de fruto (1.174,04; 789,2 e 771,08 g, respectivamente), contudo, seus rendimentos em porcentagem de sementes com polpa por fruto (18,2; 17,6 e 17,4%, respectivamente) e em massa de sementes com polpa por Kg de frutos (177; 162 e 156 g/Kg de frutos, respectivamente), foram baixos, quando comparados com outros cultivares como cacau Comum, TSH 565, TSAN 792 e outros que apresentaram bom rendimento em relação ao percentual de sementes com polpa e a massa de sementes com polpa por Kg de frutos;

- Verificou-se que o acompanhamento da temperatura e do pH durante a fermentação como forma de avaliar a sua evolução, foram parâmetros importantes para o acompanhamento do processo, mas não definitiva na decisão do tempo ideal de fermentação para cada material. No tempo padronizado neste estudo para todos os materiais, de 144 h de fermentação, somente os clones TSA 654, TSA 656 e TSH 774 sugeriram a finalização do processo, considerando a evolução da temperatura e o pH. Todos os outros cultivares não evidenciaram a interrupção do processo nesse mesmo tempo, embora os testes de avaliação da fermentação tenham se apresentado satisfatórios para todos os materiais estudados;

- A utilização de Ressonância Magnética Nuclear para análise dos teores de ácidos orgânicos, açúcares e etanol mostrou-se adequada e permitiu que diversos compostos fossem analisados simultaneamente a partir de uma extração relativamente simples realizada com água deionizada. Apenas o ácido cítrico não pode ser quantificado, já que os seu sinal coincidia com o de açúcares também presentes no início da fermentação em elevada quantidade;

- Considerando todos os materiais avaliados, foram observadas perdas de 22 a 40% de nitrogênio total e de 38,2 a 55,7% de compostos fenólicos totais, além da queda dos teores de umidade e da atividade de água, bem como o aumento da acidez total titulável para os materiais estudados, do início da fermentação ao término da secagem;
- Confirmando as diferenças verificadas no processo fermentativo, em relação às medidas físico-químicas (principalmente a temperatura e o pH da massa em fermentação e os teores de açúcares e ácidos orgânicos), as contagens de bactérias lácticas e de bolores e leveduras foram distintas para cada material estudado no decorrer da fermentação e também na secagem. Foi verificada ausência de *Salmonella* e *E. Coli* para todos os materiais;
- De acordo com a avaliação das amêndoas fermentadas e secas, foram verificadas poucas diferenças quanto à densidade aparente, composição das frações (teores de gérmen, cotilédones e testa) e massa individual. Por outro lado, na prova de corte foram verificadas maiores diferenças quanto à coloração e compartimentação das amêndoas de cada material;
- Uma vez que não foi realizada a otimização da fermentação de cada material estudado, não é possível evidenciar materiais superiores em relação aos demais, inclusive ao Comum. Porém, as diferenças observadas no monitoramento das etapas de fermentação e secagem e nas caracterizações realizadas possivelmente impactam os produtos obtidos nas etapas seguintes do processamento para obtenção de derivados de cacau.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMERINE, M. A. & OUGH, S. S. (s.d). **Methods for Analyses of Musts and Wines**. 2ed. New York. Jywiley E. Sons, Inc. s.d, 337p.
- BAREL, M. Délai d'écabossage: Influence sur les rendements et la qualité du cacao marchand et du cacao torréfié. **Café, Cacao, Thé**, v. 31, n. 2, p. 141-150, 1987.
- BIEHL, B.; VOIGT, J. Biochemistry of chocolate flavour precursors. **Proceedings of 12th International Cocoa Research Conference**. Salvador - Brasil, p. 929-938, 1996.
- BRASIL. Resolução CONCEX nº 160, de 28 de junho de 1988. Especificações da padronização do cacau em amêndoas (*Theobroma cacao L.*) visando a sua classificação e fiscalização na exportação. **Diário Oficial da União**, Brasília, 29 set. 1988. Seção I, 8p.
- 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.
- CLAPPERTON, J.F., YOW, S.T.K., LIM, D.H.K. AND LOCKWOOD, G. Genetic variation in cocoa flavour. **Proceedings of 11th International Cocoa Research Conference**, Yamoussoukro-Côte D'Ivoire, p. 749-754, 1993.
- CLAPPERTON, J.F., YOW, S.T.K., CHAN, J., LIM, D.H.K., LOCKWOOD, G., ROMANCZYK, L.J. AND HAMMERSTONE, J.F. The contribution of genotype to cocoa (*Theobroma cacao L.*) flavour. **Tropical Agriculture (Trinidad)**, v. 71, p. 303-308, 1994.
- COHEN, K. O., JACKIX, M.N.H. Estudo do liquor de cupuaçu. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n.1, 2005.
- 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; JEANJEAN, N. Qualité du cacao: influence de la fermentation et du séchage. **Plantations, Recherche, Développement**, v. 23, n. 3, p. 21-27, 1995.
- CROSS, E. Cocoa flavor development. **The Manufacturing Confectioner**, v. 79, n. 2, p. 70-77, 1999.

- CUBERO, E.M; ENRIQUEZ, G.A.; HERNANDEZ, A.; RODRIGUEZ, T. Efecto del genótipo sobre el proceso de fermentacion de cacao. **Proceedings of 11th International Cocoa Research Conference**, Yamoussoukro, Côte D'Ivoire, p. 729-740, 1993.
- DIAS, J.C.; CASTRO-GOMEZ, R.J.H. Produção, absorção e retenção dos ácidos acético e livres totais durante o beneficiamento das sementes de cacau (*Theobroma cacao* L.). **Revista Ciência e Prática**, Lavras, v. 12, n. 1, p. 44-54, 1988.
- DOWNES, F.P.; ITO, K. (ed.) 2001. **Compendium of methods for microbiological examination of foods**, 4th ed. American Public Association, Washington, D.C.
- EFRAIM, P. **Estudo para minimizar as perdas de flavonóides durante a fermentação de cacau para produção de chocolate**. Campinas, 2004. Dissertação (Mestre em Tecnologia de Alimentos) Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, 2004.
- EFRAIM, P.; TUCCI, M.L.; GARCÍA, N.H.P ; HADDAD, R.; EBERLIN, M. Teores de compostos fenólicos de sementes de cacaueiro de diferentes genótipos. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 9, n.4, p. 229-236, 2006.
- FIGUEIREDO, I.M. ; PEREIRA, N.R. ; EFRAIM, P. ; GARCÍA, N.H.P; RODRIGUES, N.R. ; MARSAIOLI JÚNIOR, A. ; MARSAIOLI, A.J. 1H NMR, a Rapid Method to Monitor Organic Acids during Cupuassu (*Theobroma grandiflorum* Spreng) Processing. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 54, n. 12, p. 4102-4106, 2006.
- FIGUEIRA, A.; LAMBERT, S. V.; CARPENTER, D.; PIRES, J. L.; CASCARDO, J. C. M.; ROMANCZYK, L. . The Similarity of Cocoa Flavour of Fermented Seeds from Fingerprinted Genotypes of *Theobroma Cacao* L. from Brazil and Malaysia develop equivalent cocoa flavour. **Tropical Agriculture**, v. 74; n. 2, p. 132-139, 1997.
- FORSYTH, W.G.C; QUESNEL, V.C. Cacau glycosidase and colour changes during fermentation. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London. v, 8, p. 505-509, 1958.
- 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, p. 273-281, 1998.
- HOLM, C.S; ASTON, J.W.; DOUGLAS, K. The effects of the organic acids in cocoa on the flavour of chocolate. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 61, n. 1, p. 65-71, 1993.

HORWITZ, W ed. **AOAC Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists**, 18^a ed., 2005.

JINAP, S.; DIMICK, P.S.; HOLLENDER, R. Flavour evaluation of chocolate formulated from cocoa beans from different countries. **Food Control**, v.74, n.6, p.105–110, 1995.

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.

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

LAGUNES-GÁLVEZ, 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**, v. 114, p.124–130, 2007.

LOPEZ, A. Factors associated with cacao bean acidity and the possibility of its reduction by improved fermentation. **Revista Theobroma**, v. 13, n. 3, p. 233-248, 1983.

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).** 2001. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2001.

NIELSEN, D.S; TENIOLA, O.D.; BAN-KOFFI, L.; OWUSU M.; ANDERSSON T.S.; HOLZAPFEL W.H. The microbiology of Ghanaian cocoa fermentations analysed using culture-dependent and culture-independent methods. **International Journal of Food Microbiology**, v. 114, p. 168-186, 2007.

NIEMENAK, N.; ROHSIUS, C.; ELWERS, S.; NDOUMOUA; D. O.; LIEBEREI, R. Comparative study of different cocoa (*Theobroma cacao* L.) clones in terms of their phenolics and anthocyanins contents. **Journal of Food Composition and Analysis**. v.19, p.612–619, 2006.

JONFIA-ESSIEN, W.A.; WEST, G.; ALDERSON, P.G.; TUCKER, G. Phenolic content and antioxidant capacity of hybrid variety cocoa beans. **Food Chemistry**. v.108, p.1155 -1159, 2008.

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

OSTOVAR K., KEENEY P.G. Isolation and characterization of microorganisms involved in the fermentation of Trinidad's cacao beans. **Journal Food Science**. v.38, p.611–617, 1973.

- PASSOS, M.F.L.; LOPEZ, A.S; SILVA, D.O. Aeration and its influence on the microbial sequence in cocoa fermentations in Bahia with emphasis on lactic acid bacteria. **Journal Food Science**, v.49, p. 1470-1474, 1984.
- PEZOA-GARCÍA, N.H. **Contribution a l'étude d'un capteur por controlar em continu procede de torréfaction**. 170p. 1989. These (Docteur) – Université de Technologie de Compiègne, Compiègne, 1989.
- 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.
- PITT, J.I. & HOCKING, A.D. **Fungi and Spoilage**. London: Blackie Academic & Professional, 593p. 1997.
- ROHAN, T.A.; STEWART, T. The precursors of chocolate aroma: production of reduction sugars during fermentation of cocoa beans. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 32, p. 399-402, 1967.
- ROELOFSEN P.A. Fermentation, drying, and storage of cocoa beans. **Advance Food Research**, v. 8, p. 225–296, 1958.
- SANBONGI, C.; OSAKABE, N.; NATSUME, M.; TAKIZAWA, T.; GOMI, S., & OSAWA, T. Antioxidative polyphenols isolated from *Theobroma cacao*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 46, n. 2, p. 454-457, 1998.
- SANCHEZ-RABANEDA, O. et al. Liquid chromatographic/electrospray ionization tandem mass spectrometric study of the phenolic composition of cocoa (*Theobroma cacao* L.) **Journal of Mass Spectrometry**, n. 38, p. 35–42, 2003.
- SAS INSTITUTE INC. **SAS/STAT User's Guide. Release**. Cary, NC: SAS Institute INC, 1028p., 1993.
- SCHWAN, R.F.; ROSE, A.H.; BOARD, R.G. Microbial fermentation of cocoa beans, with emphasis on enzymatic degradation of the pulp. **Journal Applied Bacteriology**, v.79 (suppl), p. 96S–107, 1995.
- SCHWAN, R.F. Cocoa fermentations conducted with a defined microbial cocktail inoculum. **Appl. Environmental Microbiology**, v.64, p.1477–1483, 1998.
- SCHWAN, R. F.; WHEALS, A. E. The microbiology of cocoa fermentation and its role in chocolate quality. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.44, n.4, p.205-221, 2004.

-
- SHRIPAT; C.; SUKHA, D.; SPENCE, J.; COMISSIONG, 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.
- SOARES, M.S. **Estudo do melhoramento do sabor de cacau (*Theobroma cacao* L.) através de ação enzimática durante a fermentação**. 107p. 2001. Dissertação (Mestr em Tecnologia de Alimentos) Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2001.
- SUKHA, D.A.; BUTLER, D.R; UMAHARAN, P., E.; BOULT, E. The use of an optimised organoleptic assessment protocol to describe and quantify different flavour attributes of cocoa liquors made from Ghana and Trinitario beans. **European Journal of Food Technology**, v. 226, n. 3, p. 405-413, 2008.
- THOMPSON, S.S., MILLER, K.B., LOPEZ, A.S. Cocoa and coffee. In: 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., 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**. 111p. 1992. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1994.

ANEXO 1

Concentração (mg/g), em base seca, de açúcares, ácidos orgânicos e etanol monitorados durante a fermentação e ao término da secagem para as sementes inteiras, com polpa e testa

Concentração (mg/g) - início da fermentação			
	Sacarose	Glicose	Frutose
Cepec 42	9,26	56,17	61,46
Comum	9,13	50,84	49,60
EET 397	8,84	61,94	66,43
TSA 654	-	21,09	16,82
TSA 656	7,38	41,25	49,42
TSAN 792	10,56	47,61	46,32
TSH 516	9,19	33,19	40,84
TSH 565	11,54	45,28	45,69
TSH 774	7,37	47,28	42,46
TSH 1188	11,84	52,54	44,01

Concentração (mg/g) - após 48 h de fermentação							
	Sacarose	Glicose	Frutose	Ác. succínico	Ác. acético	Ác láctico	Etanol
Cepec 42	7,77	9,93	17,74	0,16	2,26	1,03	5,76
Comum	6,12	6,97	13,53	0,42	2,37	0,78	8,67
EET 397	6,87	10,70	18,06	0,33	7,70	5,14	5,86
TSA 654	9,08	4,11	7,68	0,35	14,79	1,03	7,20
TSA 656	6,71	17,97	21,35	0,43	7,67	3,08	5,38
TSAN 792	10,27	11,71	15,21	0,43	3,14	1,31	6,10
TSH 516	8,45	5,22	13,82	0,36	3,74	2,30	5,36
TSH 565	12,50	9,83	13,63	0,46	3,35	3,20	8,67
TSH 774	6,36	4,25	13,22	0,42	6,99	0,67	2,37
TSH 1188	14,56	7,22	13,63	0,49	3,18	0,87	11,10

Concentração (mg/g) – após 96 h de fermentação						
	Sacarose	Glicose	Frutose	Ác. Succínico	Ác. Acético	Ác lático
Cepec 42	1,69	4,73	4,98	0,14	16,06	0,29
Comum	0,63	3,34	4,93	0,21	12,54	0,62
EET 397	2,42	10,11	17,54	0,40	15,23	1,04
TSA 654	1,32	4,14	6,91	0,00	13,40	0,93
TSA 656	1,68	9,23	17,35	0,26	12,82	1,17
TSAN 792	2,13	8,06	18,49	0,33	20,11	0,96
TSH 516	2,16	5,59	27,68	0,33	11,51	0,56
TSH 565	3,21	4,40	7,28	0,28	21,37	0,73
TSH 774	3,09	8,56	11,78	0,29	13,06	1,33
TSH 1188	1,44	2,86	9,99	0,28	16,14	1,36

Concentração (mg/g) - após 144 h de fermentação						
	Sacarose	Glicose	Frutose	Ác. succínico	Ác. acético	Ác lático
Cepec 42	0,90	4,81	12,75	0,23	11,34	1,36
Comum	1,29	3,95	6,43	0,24	9,20	1,00
EET 397	0,00	4,65	8,12	0,30	5,14	1,76
TSA 654	0,94	3,75	8,93	0,18	5,75	0,77
TSA 656	0,52	4,25	7,84	0,21	6,64	1,52
TSAN 792	1,07	3,99	5,57	0,18	7,52	0,67
TSH 516	1,07	5,00	9,94	0,29	6,78	0,79
TSH 565	2,12	4,27	6,63	0,20	9,73	1,03
TSH 774	1,14	4,40	6,19	0,16	8,07	0,64
TSH 1188	1,00	4,12	5,92	0,24	8,88	1,41

	Concentração (mg/g) - após secagem					
	Sacarose	Glicose	Frutose	Ác. succínico	Ác. acético	Ác láctico
Cepec 42	-	1,67	6,39	0,17	7,23	0,66
Comum	-	3,37	8,89	0,21	6,19	0,64
EET 397	-	2,43	6,40	0,28	3,99	1,31
TSA 654	-	0,59	2,59	0,10	3,14	0,30
TSA 656	-	1,87	7,09	0,25	3,59	1,04
TSAN 792	-	0,00	3,93	0,10	3,29	0,86
TSH 516	0,62	1,23	3,66	0,19	3,43	0,44
TSH 565	1,32	1,72	7,76	0,24	6,47	0,98
TSH 774	0,82	3,39	11,43	0,21	7,15	0,74
TSH 1188	-	2,33	6,04	0,21	4,69	0,72

CAPÍTULO 3

OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE *LIQUOR* E MANTEIGA DE CACAU DE CLONES RESISTENTES À VASSOURA-DE-BRUXA

1. INTRODUÇÃO

O Brasil sempre esteve entre os seis maiores produtores de cacau do mundo. Até a década de 1980, ocupava a segunda posição, quando houve a introdução e a expansão da doença fúngica vassoura-de-bruxa, que causou uma grande devastação nas plantações da maior região produtora do país (sul do Estado da Bahia). Diversas referências científicas consideram o cacau brasileiro como um cacau comum, também denominado “bulk”. Dessa mesma forma são identificados os materiais de grandes produtores mundiais, como Costa do Marfim, Gana, Nigéria e Indonésia. No mercado internacional, as amêndoas de cacau são classificadas como comuns ou “bulk”, finas ou especiais e raras. De acordo com Sukha *et al.* (2008), amêndoas de cacau do tipo “bulk” são originadas de frutos do grupo *Forastero* Amazônico. Esse tipo de cacau é utilizado pelas indústrias para a produção de chocolates convencionais, principalmente do tipo ao leite. Amêndoas de cacau do tipo fino ou especial são mais valorizadas no mercado, atingindo preços duas a três vezes maiores que o tipo “bulk”. São geralmente obtidas a partir de frutos dos grupos *Criollo* e Trinitário e os produtos fabricados a partir desses materiais apresentam sabores diferenciados e particulares, que são valorizados na produção de chocolates tipo “*premium*”, com teores de cacau mais altos em sua formulação.

Para a obtenção dos principais produtos de cacau pela indústria de alimentos, as amêndoas de cacau fermentadas e secas são submetidas a diversas etapas de

processamento, sendo a torração fundamental ao desenvolvimento do sabor e das características de qualidade (KLEINERT, 1994). Em condições otimizadas, há o desenvolvimento máximo do potencial aromático da amêndoa (ZAMALLOA, 1994). Segundo Brito (2000), as condições de torração dependem de vários fatores: origem e tipo de amêndoa, período de colheita, tratamentos anteriores à torração, umidade, tamanho das amêndoas ou dos *nibs*. Nos produtos obtidos a partir do cacau, o desenvolvimento de sabor é influenciado pelas características intrínsecas das sementes, sendo que o fator genético tem grande influência, além dos processos pós-colheita realizados, com destaque para a fermentação e secagem (FIGUEIRA *et al.* 1997; Kirchhoff *et al.*, 1989 citados por BONVEHI, 2005). Porém, é na torração, através da Reação de Maillard propiciada pela temperatura e presença de compostos disponibilizados nas etapas de fermentação e secagem, que são formados os compostos de sabor característico e desejável de produtos de cacau, como o chocolate.

Após a torração, o material deve ser moído para a obtenção da massa de cacau, também conhecida como *liquor*, sendo que parte é comercializada para a fabricação de chocolates e parte é prensada para a obtenção de manteiga e torta de cacau, sendo que esta última origina o cacau em pó natural. Esses produtos são as principais matérias-primas utilizadas na fabricação de chocolates e produtos a base de cacau (KLEINERT, 1994). De acordo com Meursing (1994), algumas indústrias processadoras de cacau produzem dois tipos de *liquor*: um para utilização na fabricação de chocolates e outro para prensagem e obtenção de manteiga e pó de cacau. Ambos podem diferir em tamanho final das partículas e em tratamento térmico para desenvolvimento de sabor. De uma forma resumida, o *liquor* é obtido a partir da quebra das amêndoas de cacau, separação da testa (casca que envolve os cotilédones) e gérmen dos cotilédones quebrados. Para a obtenção da massa de cacau, os cotilédones quebrados, denominados *nibs* devem ser pré-moídos em moinhos de martelos, pinos ou discos e posteriormente é realizada a moagem fina em moinhos de discos (moinhos triplos), de esferas ou de cilindros até granulometria de 20 a 40 µm (NIEDIEK, 1994). As propriedades reológicas da massa de cacau são parâmetros de grande importância, pois afetam o processamento e a obtenção dos produtos como manteiga e pó

de cacau e chocolates (TANERI, 1976; NIEDIEK, 1994; GILABERT-ESCRIVÁ, 1997), e dependem de fatores como os teores de umidade e de manteiga de cacau, temperatura, bem como do período e da forma de armazenamento da massa de cacau (TANERI, 1976; GILABERT-ESCRIVÁ, 1997). De acordo com Taneri (1976), um aumento de 1,0 para 2,9% da umidade pode levar a um aumento de 200% da viscosidade. Em relação à granulometria, o mesmo autor verificou aumento da viscosidade plástica de Casson com o aumento do tamanho das partículas, mesmo que a superfície de contato seja menor. Uma hipótese citada que explica esse comportamento é que quanto mais fina a moagem em uma faixa de 15 a 30 μm , mais disponível a manteiga de cacau no meio, o que provoca a redução da viscosidade plástica. Por outro lado, o aumento da superfície de contato leva ao aumento do limite de escoamento de Casson (TANERI, 1976; BECKETT, 2000). Independentemente da utilização para a qual será destinada, a massa de cacau deve estar isenta de fungos termoresistentes e bactérias (MEURSING, 1994).

A manteiga de cacau é uma gordura de cor amarela, com sabor e odor característicos (LUCCAS, 2001). É o produto proveniente do cacau de maior valor econômico. Para uso na indústria de chocolates, sua extração deve ser realizada por prensagem hidráulica da massa de cacau seguida de filtragem e desodorização. Dependendo do fim a que se destina, a manteiga também pode ser extraída por prensa “expeller” ou por solvente, para usos não alimentícios, em cosmética, por exemplo. Em sua composição, segundo Minifie (1989) e Luccas (2001), são encontrados predominantemente os ácidos graxos saturados: esteárico (C18:0), em proporções de 32 a 36% e palmítico (C16:0), em proporções de 24 a 27%, e o ácido oléico (C18:1), monoinsaturado, na proporção de 33 a 37%. Este ácido graxo encontra-se predominantemente na posição central da estrutura que compõe os triacilgliceróis, que somam aproximadamente 98% da composição da manteiga de cacau, sendo os 2% restantes compostos por di e monoglicerídeos, esteróis e tocoferóis. Esta particularidade em relação à posição central do ácido oléico faz com que a manteiga de cacau apresente principalmente três triacilgliceróis simétricos: POP, POS e SOS, que correspondem a mais de 75% da composição em triacilgliceróis presentes na fração lipídica do cacau. Em consequência, a manteiga de cacau pode se cristalizar em uma elevada ordem

estrutural, responsável por suas características de fusão e cristalização (LIPP & ANKLAM, 1998; LUCCAS, 2001).

As características físicas e químicas da manteiga de cacau são influenciadas por diversos fatores, como o país de origem, condições climáticas e variedade do cacau (LUCCAS, 2001; TUCCI *et al.*, 2002; PIRES, 2003). De acordo com Luccas (2001), a manteiga de cacau brasileira de origem Bahia é considerada mais macia em relação a de outros países produtores de cacau, como Malásia e Costa do Marfim, por apresentar maior teor de ácido oléico. De acordo com Dimick (1991), a dureza da manteiga de cacau está relacionada ao comprimento de cadeia, grau de insaturação e posição dos ácidos graxos na molécula de glicerol.

A dureza da manteiga de cacau é um aspecto de particular interesse para o melhoramento genético de cacau no Brasil, pois, enquanto a maior parte do cacau no mundo é cultivada em uma faixa de 5 ° de latitude, a área mais importante de cultivo no país é o Sul da Bahia, a 15 °. Sabe-se que baixas temperaturas aumentam a proporção dos ácidos insaturados oléico e linoléico, tornando a manteiga de frutos colhidos durante o período de safra (principalmente de agosto a outubro) de menor dureza (BERBERT & ALVIM, 1972; BERBERT, 1976 citados por PIRES, 2003), o que leva a preços mais baixos no mercado internacional (MCHENRY & FRITZ, 1987). Pires (2003) avaliou, entre outros aspectos, o teor de lipídios totais, a dureza a 16 °C e a composição em triacilgliceróis de 490 acessos da coleção de germoplasma de cacau do CEPEC/CEPLAC, em Itabuna – BA. As determinações foram realizadas com a manteiga de cacau extraída das sementes de frutos obtidos por polinização aberta, colhidos em um período de safra. Tucci (1997) avaliou, entre outros aspectos, a manteiga de cacau de dez genótipos de cacaueiro produzidos em condições climáticas desfavoráveis, a 24 ° de latitude, no Estado de São Paulo. Ambos os trabalhos identificaram diferenças físicas e químicas na manteiga de cacau influenciadas por características genéticas.

Este trabalho objetivou a obtenção das principais matérias-primas utilizadas na fabricação de chocolates: *liquor* e manteiga de cacau, a partir de clones que vêm sendo cultivados no Estado da Bahia – BR por apresentarem resistência à doença fúngica vassoura-de-bruxa, bem como do cacau comum utilizado na região, o qual é susceptível à doença. A partir dos *liquors* e manteiga de cacau obtidos, objetivou-se, ainda, a sua caracterização física, química, microbiológica e sensorial para avaliar a possibilidade de aplicação na fabricação de chocolates.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material

Foram utilizadas amêndoas de cacau fermentadas e secas dos clones **CEPEC 42 (híbrido de TSA 644 x SIC 19)**, **EET 397 (oriundo de SCA)**, **TSA 654 (híbrido de SCA6 x IMC 67)**, **TSA 656 (híbrido de SCA6 x IMC 67)**, **TSAN 792 (híbrido de TSA 641 com genótipo desconhecido)**, **TSH 516 (híbrido de SCA6 x ICS1)**, **TSH 565 (híbrido de SCA6 x ICS1)**, **TSH 774 (origem desconhecida)** e **TSH 1188 (origem desconhecida)**, obtidos do campo de produção de progênies de cacau do CEPEC/CEPLAC em Itabuna – BA. Amêndoas fermentadas e secas do **tipo Comum** da região também foram avaliadas por este ser ainda amplamente utilizado na região, apesar de suscetível à vassoura-de-bruxa.

As etapas de fermentação e secagem dos diferentes materiais estudados foram realizadas simultaneamente e em condições similares, em dezembro de 2004, em Itabuna – BA, conforme apresentado no Capítulo 2 deste trabalho. As amêndoas de cacau de cada material foram mantidas sob refrigeração, em temperaturas entre 10 e 15 °C até sua utilização para a obtenção de *liquor*, manteiga de cacau e chocolate.

2.2 Processamento

A Figura 1 apresenta o fluxograma de processamento das amêndoas fermentadas e secas até a obtenção das massas ou *liquors* e manteiga de cacau.

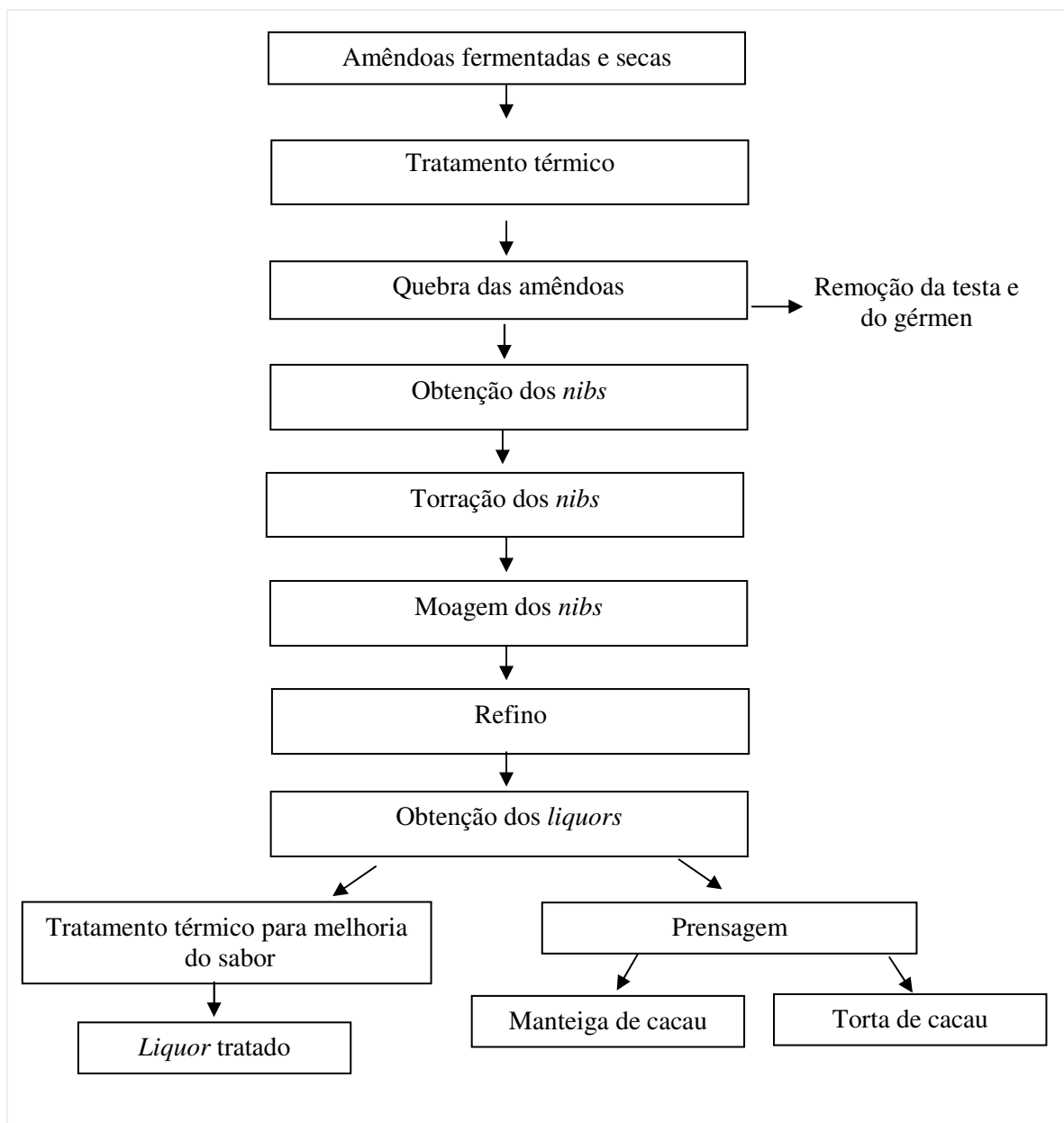


Figura 1. Fluxograma de processamento das amêndoas de cacau de dez cultivares até a obtenção dos *liquors* e manteiga de cacau

2.2.1 Processamento para obtenção de liquor e manteiga de cacau

Para obtenção dos *nibs*, as amêndoas fermentadas e secas de cada material estudado foram quebradas em um moinho de facas ICMA tipo Rietz e os fragmentos foram separados de acordo com sua granulometria em um aparelho vibratório marca Produtest, modelo T, série 3244 e em peneiras com aberturas de 6,35; 4,76 e 2,38 mm. A separação da testa (casca que envolve as amêndoas) e germen foi realizada por diferença de densidade em uma coluna de 3 m de altura construída em PVC, com circulação de ar gerado por um compressor, de aproximadamente 4 m³/s, da parte inferior para a superior.

Para a etapa de torração, foram utilizados *nibs* com granulometria entre 2,38 e 4,76 mm e sua umidade foi homogeneizada a 6%, buscando uniformidade entre os materiais estudados, já que a umidade inicial afeta consideravelmente o desenvolvimento dos compostos responsáveis pelo sabor desejável do cacau (PEZOA-GARCÍA, 1989; KLEINERT, 1994). Para isso, foi utilizada uma estufa com circulação e renovação de ar a 35°C. A torração foi realizada em forno elétrico rotativo PROBAT WERKE, modelo PRE17 em lotes de 300 g. Foram monitoradas a temperatura da camisa de aquecimento, fixada em 150 °C, e dos gases de torração dos *nibs* no interior do equipamento. O tempo de torração foi variado em 36, 38 e 40 minutos, conforme parâmetros estudados por Gilabert-Escrivá (1997) e Fadini (1998). De acordo com Huffman (1992), a torração realizada da forma tradicional (em amêndoas inteiras de cacau fermentadas e secas) tem sido substituída pela torração de *nibs* de cacau por importantes razões como: diminuição do gasto de energia, maior homogeneidade do tratamento térmico (fragmentos menores e homogêneos), temperaturas e/ou tempos menores, diminuição da perda de gordura (manteiga de cacau) e diminuição da contaminação microbiana. Em consequência do exposto e devido aos bons resultados observados em outros estudos (GILABERT-ESCRIVÁ, 1997; FADINI, 1998), a etapa de torração foi realizada nos *nibs* de cacau.

Após a torração, os *nibs* foram moídos para obtenção das massas de cacau de cada material, que em seguida foram refinadas em um moinho de três cilindros DRAISWERKE

GMBH, resfriados internamente com um banho termostático. A distância entre os cilindros foi ajustada para a obtenção de um tamanho máximo das partículas de 25 µm. Após o refino, os *liquors* foram submetidos a um tratamento térmico em uma mini-concha longitudinal marca FRIWESSA, tipo PPC, durante 3 horas a 75 °C. Essa operação objetivou eliminar com maior eficiência compostos voláteis indesejáveis ao chocolate, como, por exemplo, a umidade, o ácido acético e outros formados durante a fermentação, além de auxiliar no desenvolvimento do sabor característico e desejável de produtos de cacau como o chocolate, a partir dos precursores formados na etapa de fermentação (PEZOA-GARCÍA, 1989). Para a obtenção da manteiga de cacau, 200 g de *liquor* de cada material foram aquecidos a 60 °C e, em seguida, colocados em sacos de lona e prensados em uma prensa hidráulica manual, marca CARVER, modelo C, com pressão máxima de 9 t. O tempo total da prensagem foi de 30 min, sendo 5 min a 3 t, 15 min a 6 t e 10 min a 9 t (BISPO, 1999). As etapas anteriores foram realizadas no Laboratório de Frutas e Hortaliças do Departamento de Tecnologia de Alimentos da Faculdade de Engenharia de Alimentos - UNICAMP e nas plantas-piloto de fabricação de chocolates do Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Cereais e Chocolate do Instituto de Tecnologia de Alimentos – ITAL, ambos em Campinas - SP.

2.2.2 Escolha do tempo ideal de torração dos materiais

Os *liquors* obtidos a partir da torração dos *nibs* em 3 diferentes tempos foram submetidos a análise sensorial por consumidores para escolha do melhor tempo de torração para cada material. Para a avaliação, foi preparada uma bebida formulada com 70% de água filtrada, 12% de *liquor*, 10% de açúcar e 8% de leite em pó desnatado de acordo com EFRAIM (2004), adaptada de SOARES (2001). Para o preparo das bebidas, os *liquors* foram fundidos a 40 °C e misturados com a água filtrada a 50 °C, o açúcar e o leite em pó desnatado em um agitador IKA, tipo Turrax durante 5 minutos. Em seguida foram colocadas em garrafas térmicas e servidas a 40 °C.

As amostras foram submetidas à avaliação sensorial quanto à preferência, por meio de teste de ordenação, por um grupo de 60 consumidores apreciadores de bebida

achocolatada em geral, sem restrição quanto à idade, classe social ou sexo. Foi solicitado aos consumidores que ordenassem as amostras de forma decrescente quanto à preferência (1 = mais preferida, 3 = amostra menos preferida) e que especificassem as razões da preferência, conforme modelo de ficha de avaliação que consta na Figura 2.

AValiação DE BEBIBA À BASE DE CACAU

Nome: _____ Produto: _____

Será iniciada a análise de 10 conjuntos de 3 amostras de bebida à base de cacau para a escolha das melhores amostras a serem utilizadas na fabricação de chocolate em barra. Você deverá participar de 5 seções. Nesta primeira seção, você receberá 2 conjuntos de três amostras de bebida à base de cacau, além de água mineral natural que deve ser usada entre as amostras para limpar o palato. Você será solicitado para ordenar as bebidas quanto à sua preferência.

Por favor, prove as amostras da esquerda para a direita e indique sua preferência entre elas ordenando-as da mais preferida para a menos preferida.

_____ (1) mais preferida
 _____ (2) preferida em 2º lugar
 _____ (3) menos preferida

Indique a razão da sua preferência pela amostra indicada em primeiro, segundo e terceiro lugares.

Figura 2. Modelo da ficha de avaliação utilizada no teste de preferência dos *liquors* de dez cultivares de cacau para avaliação do tempo de torração de cada material

As amostras foram apresentadas em conjunto de três, com códigos de três números aleatórios e segundo um delineamento de blocos completos balanceados. Foram servidas em copos de 50 mL, disponibilizando-se água mineral natural para uso entre as amostras. O teste foi conduzido em cabines individuais iluminadas com lâmpadas fluorescentes com a coleta e a análise dos dados realizados por meio do sistema computadorizado Compusense Five versão 4.8 para avaliação sensorial, sendo os dados analisados estatisticamente com base na análise de Friedman e teste de Fisher para comparação entre as amostras (ISO, 1988). A análise sensorial foi conduzida no Centro de Ciência e Qualidade de Alimentos do ITAL.

2.3 Caracterização dos *liquors*

2.3.1 Determinações químicas e físico-químicas

Todas as determinações apresentadas abaixo foram realizadas em triplicata, com exceção da determinação do item f., que foi realizada em apenas uma replicata.

- a. Teor de umidade: de acordo com o método 977.10, item 31.1.03 (HORWITZ, 2005), em um equipamento Titroline Alpha marca Shott, modelo TZ1282;
- b. Teor de lipídios totais: de acordo com o método 963.15, item 31.4.02 (HORWITZ, 2005), com refluxo por 18 h para maior eficiência na extração da gordura, em uma bateria de extração Soxhlet da marca Tecnal modelo TE-188;
- c. pH e acidez total titulável: de acordo, respectivamente, com os métodos 970.21, item 31.1.07 e 11.14.3 (HORWITZ, 2005), em pHmetro Tecnal modelo TE-2 e bureta de 30 mL;
- d. Teor de nitrogênio total: método Kjeldahl, 970.22, item 31.1.08 (HORWITZ, 2005);
- e. Teor de compostos fenólicos totais: de acordo com o método de Efraim *et al.* (2006) adaptado de Amerine e Ough (s.d), sendo que a absorbância foi mensurada em espectrofotômetro BECKMANN, modelo DU70 a 765 nm e a curva padrão foi feita com ácido tânico da marca Sigma;
- f. Teores de ácidos orgânicos, teobromina e cafeína: monitorados de forma simultânea por espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN de ^1H). A extração dos compostos foi realizada com água deionizada filtrada em membrana de 0,22 μm (água MilliQ®), de acordo com Figueiredo *et al.* (2006). Os *liquors* foram aquecidos a 60°C e misturados com a água também a 60°C, na proporção de 10,00 g de *liquor* para 100,00 mL de água. Em seguida foi realizada uma agitação durante 3 minutos em agitador tipo vortex. Os extratos obtidos foram filtrados com membranas de 0,45 e 0,22 μm . Os compostos de interesse foram monitorados em espectrômetro de ressonância magnética nuclear Inova Varian 500 MHz. Para as determinações, o sinal da água foi eliminado por pré-saturação de 1,5 s. A quantificação foi feita com padrão interno (TPSA).

2.3.2 Determinações físicas

a. Viscosidade plástica e limite de escoamento de Casson

Os parâmetros reológicos foram determinados de acordo com o método descrito por Gilabert-Escrivá (1997), adaptada de IOCCSC (1973). Foi utilizado um reômetro programável digital marca BROOKFIELD, modelo RVDVIII+, dotado de adaptador para pequenas amostras e *spindle* #15, sendo a relação entre os raios dos cilindros de 0,75. A temperatura de trabalho foi mantida a $40 \pm 0,1$ °C. Os resultados foram expressos em Poise (P) para viscosidade plástica de Casson e em dyn/cm^2 para o limite de escoamento de Casson. As medidas foram realizadas em triplicata.

b. Tamanho máximo das partículas: foi determinado na saída do refinador visando garantir que o tamanho próximo de 25 μm . Foi utilizado um micrômetro digital MITUTOYO, com escala de 0 - 25 mm, de acordo com o método descrito por Efraim (2004). As medidas foram realizadas em dez replicatas;

2.3.3 Análises microbiológicas

Foram realizadas as contagens de *Salmonella*; *Coliformes totais* e *E. Coli*; *Enterobacteriaceae*; bolores e leveduras; bolores termoresistentes; contagem total de mesófilos aeróbios e bactérias lácticas de acordo com Pitt & Hocking (1997) e Downes & Ito (2001).

2.4 Caracterização da manteiga de cacau

2.4.1 Curva de sólidos

A manteiga de cacau dos materiais foi caracterizada fisicamente por meio da determinação do teor de gordura sólida (Sólid Fat Content – SFC) em um Espectrômetro de Ressonância Magnética Nuclear, Minispec Bruker pc120 de acordo com a metodologia de Firestone (1998).

2.4.2 Composição triacilglicerólica

As determinações foram realizadas em duplicata, para cada material, em cromatógrafo gasoso capilar – CGC, marca AGILENT 6850. Foi utilizada coluna capilar DB-17 HT - AGILENT CATALOG: 122-1811 (50% phenyl) – methylpolysiloxane, com dimensões 15 m; Ø int: 0,25 mm; 0,15 µm filme. As condições de operação do cromatógrafo utilizadas foram: fluxo coluna = 1,00 mL/min; velocidade linear = 40 cm/s; temperatura do detector: 375 °C; temperatura do injetor: 360 °C; temperatura forno: 250 - 350 °C (5 °C/min), 350 °C / 20 min; gás de arraste: Hélio; volume injetado: 1,0 µL, split 1:50; concentração amostra: 10 mg/mL tetrahydrofurano.

2.5 Análise sensorial dos *liquors*

Após a escolha do tempo ideal de torração, os *liquors* de cada material foram avaliados sensorialmente pelo painel de provadores de duas empresas processadoras de cacau com sede no Brasil, com o objetivo de detectar as diferenças e particularidades de cada material sensorialmente com maior acuidade.

- **Equipe 1:** Composta por 6 provadores treinados. Cada amostra foi avaliada três vezes por provador. O *liquor* foi provado puro, na forma líquida a aproximadamente 40 °C. Cada provador descreveu as características percebidas e avaliou sua intensidade. Outras características, quando verificadas, foram anotadas e igualmente avaliadas. Foi utilizada uma escala de intensidade de 9 pontos, sendo: 1 = nenhum; 5 = moderado; 9 = forte. Os atributos de sabor avaliados foram: cacau, frutal, nozes, ácido/azedo, adstringente, amargo, torrado e queimado/cinzas.

- **Equipe 2:** Composta por 6 provadores treinados. Cada amostra foi avaliada três vezes por provador. O *liquor* foi servido puro, na forma líquida a aproximadamente 40 °C. Foi utilizada uma escala de intensidade de 9 pontos, sendo: 1 = nenhum; 5 = moderado; 9 = forte. Os atributos de sabor avaliados foram: cacau, chocolate, frutal, nozes, madeira, terra, adstringente, ácido, amargo, torrado, queimado/cinzas.

Ambas as equipes foram treinadas de acordo com os critérios de cada empresa. O *liquor* obtido com cacau Comum foi utilizado como padrão para a avaliação dos demais *liquors* para ambas as equipes.

2.6 Análises estatísticas

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e ao teste de Tukey para determinação da diferença significativa entre as médias utilizando-se o pacote SAS (Statistical Analysis System) (SAS®, 1993).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Escolha do tempo de torração

A Figura 3 apresenta a evolução das temperaturas da camisa do equipamento e dos gases no interior do tambor rotativo durante a torração dos *nibs* de uma das amostras durante 38 minutos.

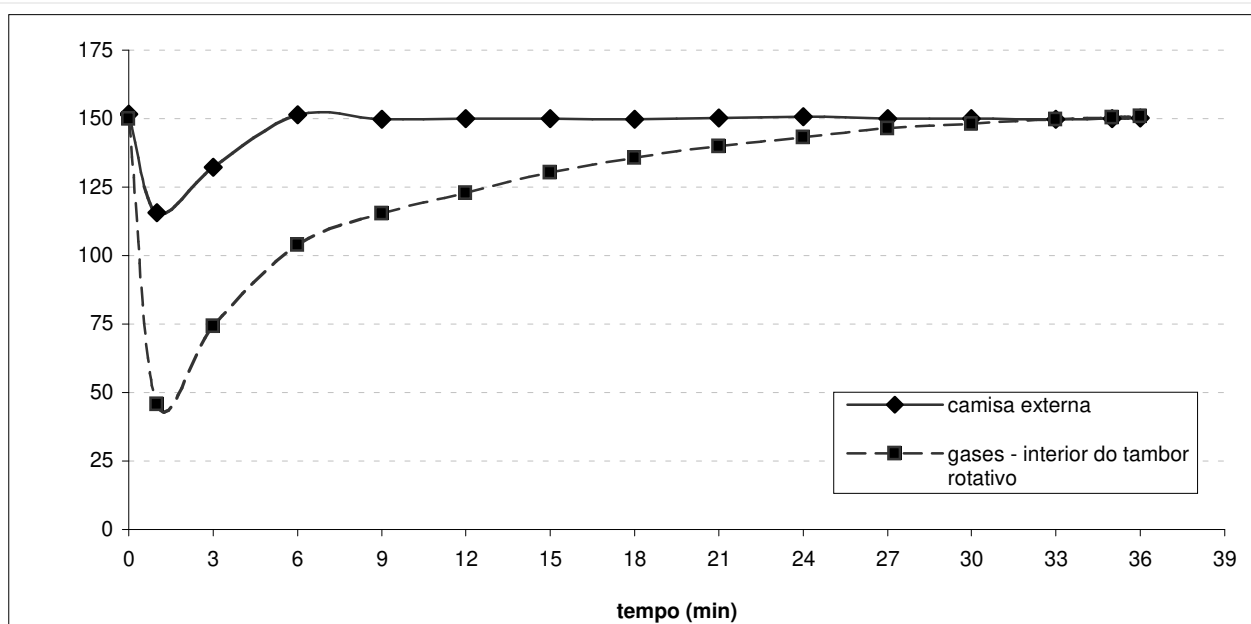


Figura 3. Evolução das temperaturas da camisa do equipamento e dos gases no interior do tambor rotativo durante a torração dos *nibs* de cacau do cultivar TSAN 792 torrados durante 38 minutos

Uma vez que os *nibs* de todos os materiais estudados tiveram a umidade, a massa e as temperaturas iniciais de torração uniformizadas, o perfil de torração de todos os materiais foi bastante similar ao apresentado na Figura 3, tendo variado apenas o tempo de torração em 36, 38 e 40 minutos, conforme relatado anteriormente.

Os resultados da avaliação sensorial dos *liquors* provenientes de *nibs* torrados em diferentes tempos são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Resultados obtidos no teste de ordenação quanto à preferência de bebidas preparadas com os *liquors* obtidos de torrações em diferentes tempos

Tempo de torração (min)	Cultivar									
	CEPEC 42	COMUM	EET 397	TSA 654	TSA 656	TSAN 792	TSH 516	TSH 565	TSH 774	TSH 1188
36	108 b	127 ^a	86 ^b	151 ^a	112 ^b	127 ^a	103 ^b	149 ^a	97 ^b	114 ^b
38	135 ^a	117 ^a	138 ^a	105 ^b	136 ^a	99 ^b	145 ^a	108 ^b	166 ^a	160 ^a
40	117 ^{ab}	116 ^a	136 ^a	104 ^b	112 ^b	134 ^a	112 ^b	103 ^b	97 ^b	86 ^c

Resultado expresso como a soma total da pontuação dada pelos consumidores segundo a ordem atribuída na Figura 2, na qual, quanto **menor** o valor de cada coluna, mais preferido foi o tempo de torração.

D.M.S.: Diferença mínima significativa ao nível de erro de 5% pelo Teste de Fisher para a ordenação (D.M.S. é igual a 21,47). Valores de uma mesma linha com mesma letra não diferem significativamente entre si (Teste de Fisher a 5% de significância)

Foi verificada diferença estatística ao nível de erro de 5% de significância para ao menos dois dos três tempos de torração avaliados para todos os materiais com exceção do cacau comum. Para a amostra TSAN 792, o tempo de 38 min de torração foi o preferido ao nível de erro de 5% em relação aos tempos 36 e 40 min. Para as amostras TSH 516, TSA 656 e TSH 774, não houve diferença significativa ao nível de erro de 5% para os tempos de torração de 36 e 40 min, sendo ambos os preferidos em relação a 38 min. Nesse caso, foi escolhido o menor tempo de torração (36 min). Para a amostra CEPEC 42, o tempo de 36 min foi o preferido, sendo que não foi verificada diferença significativa para os tempos de 36 e 40 min e entre os tempos de 38 e 40 min ao nível de 5% de erro. Para as amostras TSH 565 e TSA 654 não houve diferença significativa em relação aos tempos de 38 e 40 min e foram preferidos ao nível de erro de 5% em relação ao tempo de 36 min. Para essas

amostras, foi escolhido o tempo de torração de 38 min. Para a amostra TSH 1188, o tempo de 40 min foi preferido em relação aos tempos de 36 e 38 min.

Os tempos de torração destacados em negrito na Tabela 1 para cada cultivar foram utilizados nas análises apresentadas a seguir e na produção e caracterização dos chocolates (Capítulo 4).

3.2 Caracterização dos *liquors*

Nas Tabelas 2 e 3 são apresentados os resultados da caracterização química dos *liquors* dos diferentes materiais estudados.

Tabela 2. Caracterização química dos *liquors* de dez cultivares de cacau (valores reportados em base seca)

Amostra	Teobromina (mg/g)	Cafeína (mg/g)	Teobromina/ Cafeína	Teor de Lipídios (%)	Teor de Proteínas (%)	Teor compostos fenólicos totais (mg/g)
Cepec 42	6,23	1,12	5,56	56,56 ± 0,57 ^{bc}	6,69 ± 0,10 ^{bc}	47,33 ± 0,41
Comum	5,44	1,08	5,04	62,36 ± 0,49 ^a	6,84 ± 0,06 ^d	33,96 ± 2,53
EET 397	5,82	1,10	5,29	54,02 ± 0,32 ^{de}	6,47 ± 0,13 ^d	32,76 ± 0,74
TSA 654	3,61	0,51	7,08	57,07 ± 0,32 ^b	6,81 ± 0,33 ^d	45,04 ± 0,62
TSA 656	4,92	0,81	6,07	57,34 ± 0,64 ^b	7,82 ± 0,09 ^b	26,21 ± 1,66
TSAN 792	5,46	1,16	4,71	55,16 ± 0,76 ^{cd}	8,14 ± 0,32 ^b	27,18 ± 1,11
TSH 516	5,38	1,01	5,33	54,30 ± 0,38 ^{de}	7,33 ± 0,45 ^{cd}	45,25 ± 0,82
TSH 565	4,59	0,79	5,82	53,49 ± 0,69 ^{ef}	7,53 ± 0,56 ^{cd}	43,57 ± 2,18
TSH 774	5,39	1,01	5,34	52,28 ± 0,69 ^f	8,74 ± 0,14 ^b	38,17 ± 0,20
TSH 1188	3,97	0,86	4,61	55,08 ± 0,32 ^{cd}	9,74 ± 0,27 ^a	49,84 ± 0,22
D.M.S	-	-	-	1,57	1,87	3,77

* média ± desvio padrão; **D.M.S.: Diferença mínima significativa ao nível de erro de 5% pelo Teste de Tukey. Valores de uma mesma coluna, com a mesma letra, não diferem significativamente entre si (Teste de Tukey a 5% de significância)

De acordo com a Tabela 2, o maior valor de lipídios totais foi observado para o cacau Comum, que diferiu dos demais materiais avaliados. De uma forma geral, os materiais descendentes do grupo Trinitário (TSH's e TSAN 792) apresentaram menores valores, com exceção de TSH 1188 e TSAN 792 e os materiais com origem *Forastero* Amazônico (TSA's) os maiores valores. EET 397 e CEPEC 42 apresentaram teores médios

entre os demais materiais estudados. De acordo com os resultados observados por Pires (2003) que avaliou, entre outros aspectos, o teor total de lipídios de 490 acessos da coleção de germoplasma de cacau do CEPEC/CEPLAC, sendo alguns os mesmos avaliados neste trabalho (variedades tradicionais da Bahia, representando o material Comum, Cepec 42, EET 397, TSA 654, TSA 656, TSAN 792, TSH 516, TSH 565, TSH 774 e TSH 1188), as variedades tradicionais da Bahia apresentaram médias menores para o teores de lipídios totais e materiais de origem amazônica apresentaram as maiores médias. Os valores relatados por Pires (2003) variaram de 45,4 a 60,3% de lipídios totais, sendo que a manteiga de cacau dos acessos avaliados foi extraída de sementes não fermentadas. Devido às complexas reações bioquímicas que ocorrem durante esta etapa, os teores de vários compostos como lipídios, proteínas, metilxantinas compostos fenólicos, entre outros, sofrem alterações. Essa pode ser uma das causas das diferenças observadas entre os dados de Pires (2003) e os apresentados na Tabela 2 desse trabalho para o teor de lipídios, ainda que em ambos os trabalhos os materiais tenham sido colhidos em épocas de safra, locais próximos, porém, não no mesmo ano.

Neste estudo verificou-se uma variação nos teores observados para os diferentes *liquors* obtidos de 3,61 a 6,23 mg/g de teobromina e de 0,51 a 1,16 mg/g de cafeína. Quando se compara os valores da relação teobromina/cafeína entre os *liquors* dos materiais estudados, são verificadas menores diferenças, sendo que o cultivar TSH 1188 apresentou o menor valor (4,60) e o cultivar TSA 654 o maior valor (7,09). Com relação aos teores de compostos fenólicos totais, os valores encontrados variaram de 26,21 a 49,84 mg/g, respectivamente para os *liquors* dos cultivares TSA 656 e TSH 1188. Em geral, as características de amargor e adstringência são atribuídas aos compostos fenólicos, embora a literatura reporte outros fatores como a presença de certos aminoácidos, complexação de peptídeos com metilxantinas, entre outras, que contribuem fortemente para o amargor e adstringência. As metilxantinas são substâncias facilmente absorvidas pelo estômago e pelas paredes do intestino. Esses alcalóides têm efeito estimulante ao sistema nervoso central sendo que para a cafeína, esse efeito é notadamente mais marcante em relação à teobromina (BRUINSMA & TAREN, 1999; BORCHERS *et al.*, 2000). Zoumas *et al.*

(1980) citados por Matissek (1997) encontraram valores de 1,2% de teobromina e 0,2% de cafeína em *liquor* de cacau. Zamalloa (1994), que caracterizou genótipos de cacauzeiro de 10 cultivares produzidos no Estado de São Paulo, reportou valores médios para *nibs* torrados dos cultivares estudados, respectivamente de teobromina e cafeína de 15,53 e 1,61 mg/g. Os valores mostraram-se acima dos reportados por Minifie (1989). Luna *et al.* (2002), que estudaram a composição química e sensorial de *liquors* obtidos por autopolinização do clone EET 95 encontraram valores de 30,3 a 85 mg/g de polifenóis totais, enquanto que Osakabe *et al.* (1998) e Natsume *et al.* (2000), que estudaram o teor de polifenóis totais de *liquors* de diferentes países, encontraram valores, respectivamente, de 67 a 130 e de 12 a 60 mg/g. A grande variação entre os autores citados pode ser ocasionada por diferenças na fermentação dos materiais estudados, sendo essa etapa responsável pelas maiores perdas de compostos fenólicos considerando o processamento do cacau desde o fruto (KEALEY *et al.*, 1998; BRITO, 2000).

Tabela 3. Valores de pH, acidez total titulável e ácidos orgânicos dos *liquors* dos diferentes materiais estudados

Amostra	pH	Acidez total titulável (meq NaOH/100g)	Ácido acético (mg/g)	Ácido láctico (mg/g)	Ácido acético + láctico (mg/g)
Cepec 42	5,19 ± 0,06 ^{bcd}	3,94 ± 0,08 ^d	1,54	0,67	2,21
Comum	4,86 ± 0,11 ^e	5,49 ± 0,07 ^a	3,36	0,78	4,14
EET 397	5,17 ± 0,06 ^{cd}	4,95 ± 0,11 ^{ab}	1,40	0,18	1,58
TSA 654	5,36 ± 0,10 ^{abc}	3,89 ± 0,11 ^{cd}	2,08	0,30	2,38
TSA 656	5,19 ± 0,09 ^a	4,63 ± 0,22 ^{bcd}	2,77	0,61	3,37
TSAN 792	4,94 ± 0,12 ^e	5,40 ± 0,09 ^a	2,90	0,53	3,43
TSH 516	5,10 ± 0,05 ^{de}	4,49 ± 0,08 ^{bcd}	2,68	0,48	3,17
TSH 565	5,10 ± 0,12 ^{de}	4,99 ± 0,18 ^{ab}	3,24	0,00	3,24
TSH 774	4,94 ± 0,12 ^e	5,53 ± 0,12 ^a	3,08	0,48	3,56
TSH 1188	5,42 ± 0,08 ^a	4,51 ± 0,16 ^{bcd}	1,96	0,31	2,27
D.M.S	0,23	0,71	--	--	--

* média ± desvio padrão; **D.M.S.: Diferença mínima significativa ao nível de erro de 5% pelo Teste de Tukey. Valores de uma mesma coluna, com a mesma letra, não diferem significativamente entre si (Teste de Tukey a 5% de significância)

Verifica-se na Tabela 3 que os menores valores de pH foram encontrados no *liquor* do cacau comum, do TSAN 792 e TSH 774, assim como maior acidez total titulável e maior teor dos ácidos orgânicos avaliados (ácidos acético e láctico). Os maiores valores de pH foram observados no *liquor* do TSH 1188 e do TSA 654, sendo que as menores concentrações de ácido acético e láctico foram verificadas no TSH 1188 e Cepec 42. De forma geral, verifica-se, ainda, que quanto menor o pH dos *liquors*, maior a acidez total titulável e maior o teor dos ácidos acético e láctico somados. Para uniformizar esses parâmetros entre os diferentes materiais, o tratamento térmico realizado nos *liquors* para melhoria do sabor poderia ter sido mais longo para os materiais com menores valores de pH, para eliminar, principalmente, o ácido acético, que é volátil e é considerado indesejado nesta etapa por afetar o sabor (BAIGRIE & RUMBELOW, 1987). Por outro lado, um maior tempo de tratamento térmico poderia levar a alterações no sabor dos *liquors* pela formação de compostos desejáveis, o que poderia dificultar uma comparação entre os diferentes materiais estudados. Luna *et al.* (2002), encontraram valores de pH de 5,6 para *liquors* cuja etapa de fermentação foi realizada durante 5 dias. Baigrie & Rumbelow (1987), que estudaram o papel dos ácidos orgânicos bem como as possíveis causas da acidez considerada excessiva em *liquors* de origem Asiática encontraram valores de pH, respectivamente, para materiais provenientes de Papua-Nova Guiné, Malásia e Gana, de 5,17; 5,27 e 5,50. Os valores observados para alguns materiais avaliados no presente estudo mostraram-se abaixo de valores reportados em outros trabalhos. Cabe destacar que os equipamentos utilizados industrialmente para a torração e tratamento térmico do *liquor* são, em sua maioria, desenvolvidos para eliminar com alta eficiência os compostos voláteis indesejáveis e a umidade, permitindo um melhor desenvolvimento do sabor desejável do cacau.

Na Tabela 4 são apresentados os resultados das caracterizações físicas e físico-químicas dos *liquors*.

Tabela 4. Caracterização físico-química dos *liquors*

	Umidade (%)	Viscosidade plástica (P)	Limite de escoamento (dyn/cm ²)	Tamanho máx. partículas (µm)
CEPEC 42	1,18 ± 0,06 ^{abcd}	13,74 ± 0,29 ^{fg}	0,36 ± 0,07 ^f	23 ± 1,6 ^{abc}
COMUM	1,07 ± 0,02 ^{cde}	11,58 ± 0,98 ^g	0,97 ± 0,07 ^a	23 ± 2,0 ^{abc}
EET 397	1,11 ± 0,01 ^{bcd}	22,05 ± 0,42 ^e	0,58 ± 0,04 ^{cde}	24 ± 1,1 ^{abc}
TSA 654	1,10 ± 0,02 ^{abc}	20,65 ± 0,21 ^e	0,69 ± 0,03 ^{cd}	21 ± 1,3 ^c
TSA 656	1,08 ± 0,05 ^{ab}	15,21 ± 0,18 ^f	0,74 ± 0,03 ^{bc}	24 ± 1,4 ^a
TSA 792	0,99 ± 0,03 ^e	25,37 ± 0,04 ^d	0,88 ± 0,02 ^{ab}	22 ± 2,7 ^{abc}
TSH 516	1,06 ± 0,05 ^{cde}	31,25 ± 1,03 ^c	0,59 ± 0,04 ^{cde}	21 ± 1,8 ^{bc}
TSH 565	1,04 ± 0,11 ^{de}	36,32 ± 0,25 ^b	0,54 ± 0,09 ^{def}	21 ± 2,5 ^c
TSH 774	1,11 ± 0,02 ^{cd}	44,46 ± 1,28 ^a	0,49 ± 0,08 ^{ef}	22 ± 1,6 ^{bc}
TSH 1188	1,11 ± 0,06 ^a	15,13 ± 0,91 ^f	0,64 ± 0,07 ^{cde}	24 ± 1,3 ^{ab}
MDS	0,15	2,17	0,19	2,61

* média ± desvio padrão; **D.M.S.: Diferença mínima significativa ao nível de erro de 5% pelo Teste de Tukey. Valores de uma mesma coluna, com a mesma letra, não diferem significativamente entre si

Verifica-se que o teor de umidade dos *liquors* variou de 0,99 a 1,18%. Os valores de viscosidade plástica variaram consideravelmente entre as amostras. De acordo com Gilabert-Escrivá (1997), a massa ou o *liquor* de cacau é um dos principais componentes do chocolate, exercendo grande influência em suas características reológicas. O *liquor*, como o chocolate, é caracterizado como um fluido não-newtoniano, de Casson (TANERI, 1976; GILABERT-ESCRIVÁ, 1997). Os fatores que podem influenciar os parâmetros reológicos do *liquor* são a temperatura da análise, que deve ser mantida constante, o teor de lipídios totais (manteiga de cacau), o teor de umidade e o tamanho das partículas sólidas (GILABERT-ESCRIVÁ, 1997). De acordo com a Tabela 4, os maiores valores de viscosidade plástica foram observados para as amostras TSH 774 e TSH 565, as quais apresentaram os menores teores de lipídios totais em relação aos demais materiais. (Tabela 2), Seguindo esse mesmo raciocínio, o *liquor* do cacau comum, com teor de lipídios aproximadamente 20% superior a do TSH 774, apresentou a menor viscosidade plástica. De acordo com Gilabert-Escrivá (1997), o teor de manteiga de cacau tem uma grande influência sobre a viscosidade do *liquor*, conforme foi verificado neste estudo. Taneri (1976) que relacionou a viscosidade plástica de Casson de *liquors* com o teor de lipídios totais, relatou valores de 115,5 a 17,32 P para *liquors* com teor de lipídios de 50,2 a 59,1%.

A influência da umidade e do tamanho das partículas sólidas na foi considerada nos resultados reportados por Taneri (1976).

Na Tabela 5 são apresentados os valores de atividade de água e a caracterização microbiológica dos *liquors* dos materiais estudados.

Tabela 5. Atividade de água e caracterização microbiológica dos *liquors* estudados

<i>Liquor</i>	Atividade de água	Aeróbios mesófilos (UFC/g)*	Bactérias lácticas (UFC/g)*	Bolores e leveduras (UFC/g)*
CEPEC 42	0,483 ± 0,003	7,0 x 10	0,90 ± 0,02	< 10
COMUM	0,477 ± 0,010	< 10	1,03 ± 0,06	< 10
EET 397	0,481 ± 0,009	< 10	1,01 ± 0,01	< 10
TSA 654	0,435 ± 0,003	2,6 x 10 ³	0,92 ± 0,08	1,0 x 10
TSA 656	0,429 ± 0,001	1,5 x 10 ²	0,90 ± 0,03	1,0 x 10
TSAN 792	0,414 ± 0,007	1,0 x 10 ³	0,87 ± 0,02	1,1 x 10
TSH 516	0,409 ± 0,006	6,2 x 10 ²	0,84 ± 0,04	1,0 x 10
TSH 565	0,423 ± 0,007	2,0 x 10	0,88 ± 0,06	< 10
TSH 774	0,517 ± 0,007	4,9 x 10 ²	0,92 ± 0,04	< 10
TSH 1188	0,442 ± 0,026	1,8 x 10 ²	0,93 ± 0,01	1,0 x 10

* Unidades Formadoras de Colônias por grama

Além das contagens microbianas apresentadas na Tabela 5, também foram avaliados *Enterobacteriaceae*, Coliformes totais e *E. Coli*, *Salmonella* e bolores termorresistentes, sendo verificada ausência em todos os *liquors*. De acordo com Meursing (1994), o *liquor* de cacau, independentemente de ser utilizado para a fabricação de chocolate ou para a obtenção de manteiga e pó de cacau, deve estar em condições adequadas do ponto de vista microbiológico, com contagem máxima de bactérias totais de 10.000 UFC/g; de bolores e leveduras de 100 UFC/g e ausência de *Enterobacteriaceae*, *E. Coli* e *Salmonella*. De acordo com os dados apresentados na Tabela 5, todos os *liquors* mostraram-se adequados do ponto de vista microbiológico.

3.3 Análise sensorial dos *liquors*

Nas Figuras 4 e 5 são apresentados os resultados da análise sensorial realizada pelas Equipes 1 e 2, respectivamente. Com o objetivo de melhorar a visualização das diferenças e similaridades entre os materiais estudados, as Figuras 4 e 5 foram divididas nos itens (a): TSAN e TSH's e (b): CEPEC 42, Comum, EET 397 e TSA's.

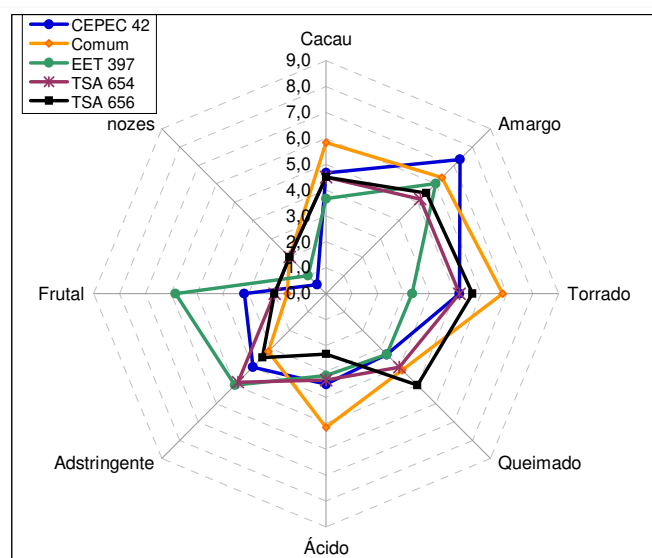
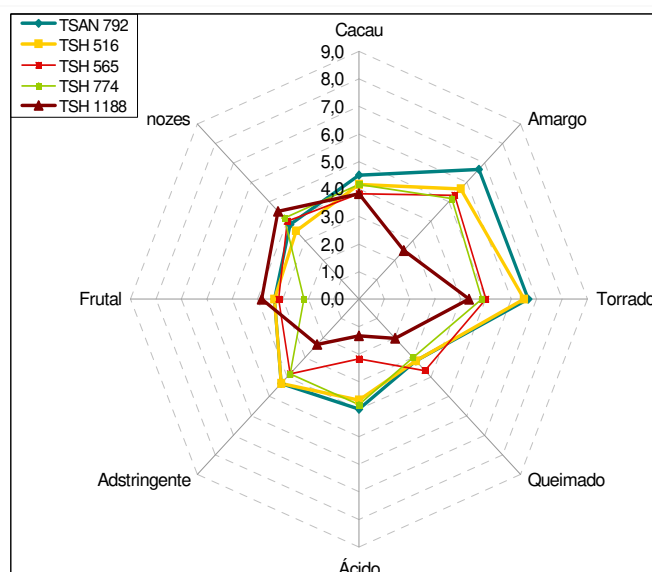


Figura 4. Resultados da análise sensorial realizada por equipe de provadores treinada (Equipe 1) nos *liquors* de dez cultivares de cacau

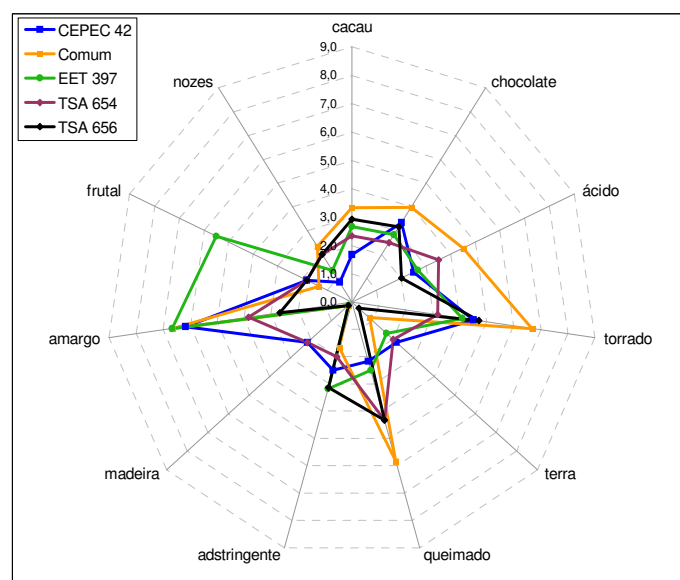
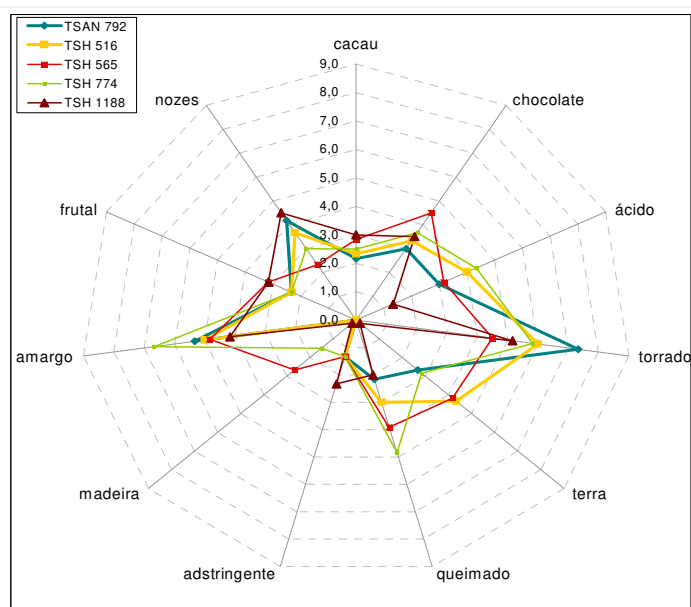


Figura 5. Resultados da análise sensorial realizada por equipe de provadores treinada (Equipe 2) nos *liquors* de dez cultivares de cacau

Nas Tabelas 6 e 7 são apresentadas as médias dos provadores, respectivamente da Equipe 1 e Equipe 2, em relação aos diferentes atributos avaliados nos *liquors*.

Tabela 6. Médias das notas da avaliação sensorial da Equipe 1 para os *liquors* de dez cultivares de cacau

Atributos	EQUIPE 1									
	CEPEC 42	Comum	EET 397	TSA 654	TSA 656	TSAN 792	TSH 516	TSH 565	TSH 774	TSH 1188
Cacau	4,7 ^{ab}	5,8 ^a	3,7 ^b	4,5 ^{ab}	4,5 ^{ab}	4,5 ^a	4,2 ^b	3,8 ^b	4,2 ^b	3,8 ^b
Amargo	7,3 ^a	6,3 ^{abc}	6,0 ^{abc}	5,2 ^c	5,5 ^{bc}	6,7 ^a	5,7 ^{bc}	5,3 ^{bc}	5,2 ^c	2,5 ^d
Ácido	3,5 ^{bcd}	5,2 ^a	3,2 ^{bcd}	3,3 ^{bcd}	2,3 ^{cde}	4,0 ^{ab}	3,7 ^{bc}	2,2 ^{de}	3,8 ^{ab}	1,3 ^e
Adstringente	4,0 ^{abc}	3,2 ^{cd}	5,0 ^a	4,8 ^{ab}	3,5 ^{bcd}	4,3 ^{abc}	4,3 ^{abc}	3,8 ^{abc}	3,8 ^{abc}	2,3 ^d
Frutal	3,2 ^{bc}	1,5 ^d	5,8 ^a	2,0 ^d	2,0 ^d	3,3 ^b	3,3 ^b	3,2 ^{bc}	2,2 ^{cd}	3,8 ^b
Nozes	0,5 ^c	2,0 ^{bc}	1,0 ^c	2,0 ^{bc}	2,0 ^{bc}	3,8 ^a	3,5 ^{ab}	4,0 ^a	4,2 ^a	4,5 ^a
Torrado	6,7 ^a	6,5 ^a	5,0 ^{bc}	4,8 ^{bc}	4,3 ^{cd}	5,2 ^{bc}	3,3 ^d	5,2 ^{bc}	5,7 ^{ab}	6,8 ^a
Queimado	3,2 ^{bc}	3,2 ^{bc}	3,7 ^b	3,0 ^{bc}	2,0 ^c	3,3 ^b	3,3 ^b	4,0 ^{ab}	5,0 ^a	4,2 ^{ab}

Valores de uma mesma linha, com a mesma letra, não diferem significativamente entre si (Teste de Tukey a 5% de significância)

DMS (Diferença mínima significativa ao nível de erro de 5% pelo Teste de Tukey): Cacau = 1,4; Amargo = 1,4; Ácido = 1,4 ; Adstringente = 1,3; Frutal = 1,2; Nozes = 1,7; Torrado = 1,3; Queimado = 1,3

Tabela 7. Médias das notas da avaliação sensorial da Equipe 2 para os *liquors* de dez cultivares de cacau

Atributos	EQUIPE 2									
	CEPEC 42	Comum	EET 397	TSA 654	TSA 656	TSAN 792	TSH 516	TSH 565	TSH 774	TSH 1188
Cacau	1,7 ^b	3,3 ^a	2,7 ^{ab}	2,3 ^{ab}	2,9 ^{ab}	2,2 ^{ab}	2,3 ^{ab}	2,8 ^{ab}	2,5 ^{ab}	3,0 ^{ab}
Chocolate	3,3 ^{bcd}	4,0 ^{ab}	2,8 ^{cd}	2,5 ^d	3,2 ^{bcd}	3,0 ^{bcd}	3,3 ^{bcd}	4,5 ^a	3,7 ^{abc}	3,5 ^{abcd}
Ácido	2,5 ^{def}	4,5 ^a	2,7 ^{de}	3,5 ^{abcd}	2,0 ^{ef}	3,0 ^{cde}	4,0 ^{abc}	3,2 ^{bcd}	4,3 ^{ab}	1,3 ^f
Terra	2,2 ^{bc}	0,8 ^{de}	1,7 ^{cd}	2,0 ^{bc}	0,3 ^e	2,7 ^{bc}	4,3 ^a	4,2 ^a	2,8 ^b	0,2 ^e
Adstringente	2,5 ^a	1,7 ^a	3,2 ^a	2,0 ^a	3,1 ^a	1,3 ^a	1,3 ^a	1,3 ^a	1,3 ^a	2,3 ^a
Madeira	2,2 ^{ab}	0,2 ^c	0,2 ^c	2,2 ^{ab}	0,2 ^c	0,0 ^c	0,0 ^c	2,7 ^a	1,5 ^b	0,2 ^c
Amargo	6,2 ^{ab}	6,7 ^a	6,7 ^a	3,8 ^{cd}	2,7 ^d	5,3 ^{abc}	5,0 ^{abc}	4,8 ^{bc}	6,7 ^a	4,2 ^{cd}
Frutal	1,8 ^c	1,3 ^c	5,5 ^a	1,8 ^c	1,8 ^c	2,3 ^{bc}	2,3 ^{bc}	3,2 ^b	2,3 ^{bc}	3,2 ^b
Nozes	0,8 ^f	2,3 ^{cde}	1,3 ^{ef}	2,0 ^{def}	2,0 ^{def}	4,2 ^a	3,7 ^{abc}	2,3 ^{cde}	3,0 ^{cde}	4,5 ^a
Torrado	4,5 ^e	6,7 ^{ab}	4,2 ^{ef}	3,2 ^f	4,7 ^{de}	7,3 ^a	6,0 ^{ab}	4,5 ^e	5,8 ^{bcd}	5,2 ^{cde}
Queimado	2,2 ^d	5,8 ^a	2,5 ^d	4,3 ^{bc}	4,3 ^{bc}	2,2 ^d	3,0 ^{cd}	4,0 ^{bc}	4,8 ^{ab}	2,0 ^d

Valores de uma mesma linha, com a mesma letra, não diferem significativamente entre si (Teste de Tukey a 5% de significância)

DMS (Diferença mínima significativa ao nível de erro de 5% pelo Teste de Tukey): Cacau = 1,5; Chocolate = 1,2; Ácido = 1,2; Terra = 1,1; Adstringente = 1,3; Madeira = 0,9; Amargo = 1,7; Frutal = 1,2; Nozes = 1,3; Torrado = 1,2; Queimado = 1,5

De acordo com as Figuras 4 e 5, verifica-se que o perfil geral das duas Equipes de provadores foi distinto, sendo que a Equipe 1 avaliou os *liquors* com notas de maior intensidade que a Equipe 2. Essa distinção observada sugere diferenças quanto às exigências de sabores observadas por cada uma das Equipes, que possivelmente são direcionadas no treinamento. Cabe destacar ainda que, os *liquors* deste estudo foram obtidos em escala-piloto, em equipamentos de concepções distintas das utilizadas industrialmente por empresas de grande porte, que trabalham com processos mais eficientes especialmente na etapa de torração, as notas dadas pelas equipes de provadores podem ter sido influenciadas, o que poderia justificar as baixas médias para os atributos de sabor desejáveis como cacau, chocolate e nozes. Ainda assim, as informações obtidas das equipes indicam diferenças entre os materiais estudados.

De acordo com os resultados apresentados nas Figuras 4 e 5 e nas Tabelas 6 e 7 verificou-se que o cultivar EET 397 apresentou as notas mais elevadas para o atributo “sabor frutal”, se diferenciando significativamente de todos os materiais. Verificou-se uma tendência de diferenciação dos materiais em dois grandes grupos para o atributo “sabor de nozes”, na avaliação realizada pela Equipe 1, sendo que os materiais com ascendência de Trinitário (TSAN 792, TSH 516, TSH 565, TSH 774 e TSH 1188) tiveram notas mais altas em relação aos demais materiais avaliados. O mesmo se repetiu para a Equipe 2 nesse igual atributo para os clones TSAN 792 e TSH 1188. De forma geral, foram verificadas diferenças entre os materiais estudados quanto aos atributos avaliados e entre as equipes de provadores. Com relação ao atributo “sabor de cacau”, verificou-se pelos resultados da Equipe 1 que o material Comum se diferenciou de todos os clones descendentes de Trinitário, sendo que não ocorreu o mesmo para a Equipe 2. A maior nota observada pela Equipe 2 para o atributo "sabor de chocolate" foi dada ao *liquor* TSH 565, cuja média das notas de avaliação não se diferenciou das médias do Comum, TSH 774 e TSH 1188.

3.4 Caracterização da manteiga de cacau

Na Figura 6 encontram-se as curvas do teor de gordura sólida da manteiga de cacau obtida a partir da prensagem dos *liquors* dos diferentes clones. Cabe ressaltar que todos os frutos dos diferentes clones utilizados neste estudo foram colhidos em um mesmo período, com duração de 1 a 3 dias, de forma que toda a variação climática sofrida durante o desenvolvimento dos frutos e que poderia afetar de forma considerável as características avaliadas foi a mesma para todos os materiais.

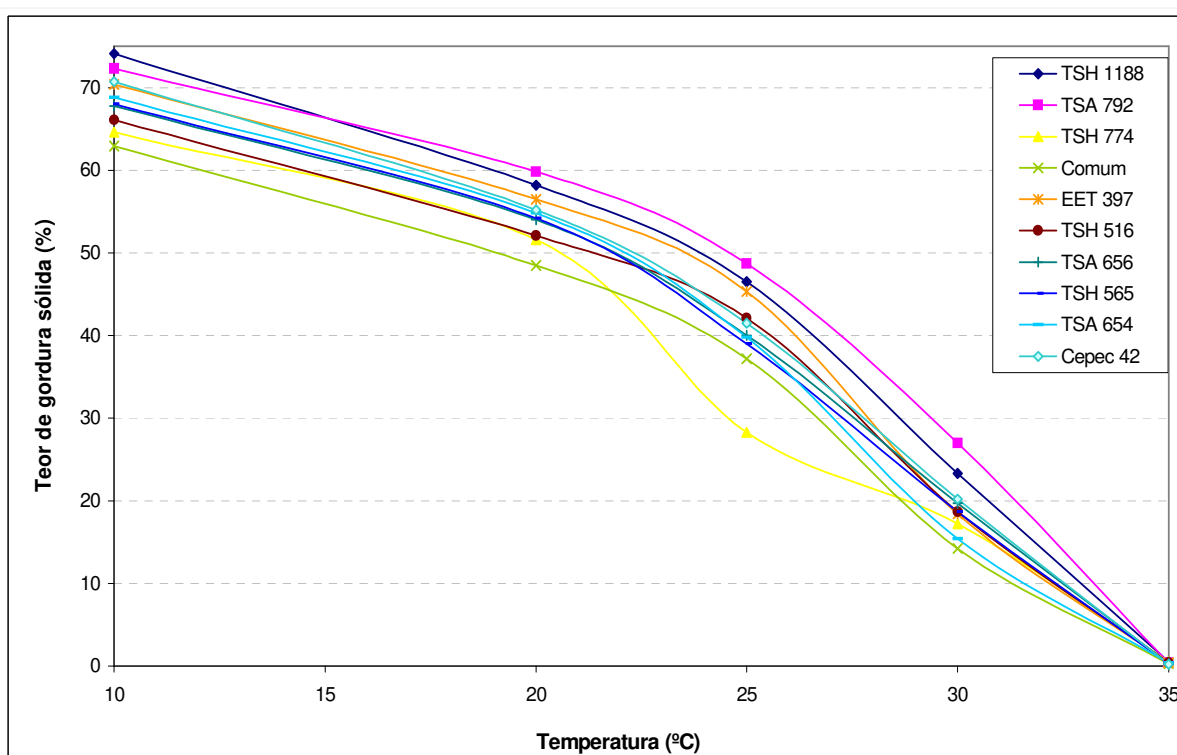


Figura 6. Curva de sólidos da manteiga de cacau de dez cultivares de cacau

Comparando-se os resultados da Figura 6 com os obtidos por Luccas (2001), que avaliou manteiga de cacau obtida de mistura de 30% de amêndoas de cacau brasileiras, 30% da África do Sul e 40% da Indonésia, verifica-se que o teor de gordura sólida dos materiais avaliados neste estudo, em todas as temperaturas, exceto 35 °C, foi menor que o

teor observado por Luccas (2001). Cabe destacar que a manteiga de cacau é uma gordura sólida em temperatura ambiente, com ponto de fusão próximo à temperatura do corpo humano (WOOD & LASS, 1987 citados por PIRES, 2003). Sua dureza está relacionada ao comprimento de cadeia, grau de insaturação e posição dos ácidos graxos na molécula de glicerol (DIMICK, 1991). Considerando que todos os materiais estudados foram provenientes de frutos colhidos em novembro de 2004 e que seu desenvolvimento e maturação nos cacaueiros ocorreu entre os meses de junho e novembro do referido ano, em temperaturas mais baixas que as observadas na África do Sul e Indonésia, era esperado o aumento na proporção dos ácidos insaturados oléico e linoléico, tornando a manteiga de cacau de menor dureza (BERBERT & ALVIM, 1972; BERBERT, 1976 citados por PIRES, 2003). De acordo com Slabas & Fawcett, (1992) e Ohlrogge *et al.* (1991) citados por Pires (2003) e com Tucci *et al.* (2002), várias plantas são capazes de ajustar o grau de insaturação de ácidos graxos em suas células em resposta a temperaturas mais frias, buscando a manutenção da fluidez.

De forma geral, o material Comum apresentou os menores teores de gordura sólida nas temperaturas de 15, 20 e 30 °C. A manteiga de cacau do cultivar TSH 774 apresentou uma queda mais intensa no teor de gordura sólida, sendo que a 25 °C apresentou o menor teor em relação aos demais materiais estudados. Por outro lado, os cultivares TSAN 792 e TSH 1188 apresentaram os maiores teores de gordura sólida, sendo que a 25 °C, o cultivar TSAN 792 apresentou o maior teor de gordura sólida e o cultivar TSH 1188 apresentou teor similar ao do EET 397.

Na Tabela 8 são apresentados os valores de gordura sólida a 25 °C, que representa a dureza ou o caráter quebradiço da gordura e a diferença do teor de gordura sólida entre 25 e 35 °C, que representa o perfil de fusão da gordura, associado diretamente à sensação de frio e ao desprendimento de sabor (LEISSNER *et al.*, 1993).

Tabela 8. Teor de gordura sólida a 25 °C e diferença do teor de gordura sólida entre 25 e 35 °C obtidos a partir dos resultados apresentados na Figura 5

Cultivar	S 25°C (%)	ΔS 25-35°C (%)
CEPEC 42	41,5	41,3
COMUM	37,2	36,9
EET 397	45,3	44,9
TSA 654	39,8	39,4
TSA 656	40,0	39,7
TSAN 792	48,7	48,3
TSH 516	42,1	41,7
TSH 565	39,0	38,7
TSH 774	28,3	27,8
TSH 1188	46,5	46,0

De acordo com os dados apresentados na Figura 5 e na Tabela 8, verifica-se que o teor de gordura sólida a 25 °C e em temperaturas inferiores, que representam a dureza ou o caráter quebradiço da gordura, foram maiores para a manteiga de cacau dos clones estudados, em relação ao cacau comum, em especial para o TSAN 792, TSH 1188 e EET 397 (respectivamente 48,7; 46,5 e 45,3% contra 37,2%). Em relação ao ΔS 25-35°C, verificou-se para o clone TSH 774 o menor valor, de 27,8%. Para o cacau comum, o valor de ΔS 25-35 °C foi de 36,9%, sendo que para todos os outros clones estudados esse valor ficou acima de 38,7%, com destaque para o TSAN 792, TSH 1188 e EET 397 (respectivamente 48,3; 46,0 e 44,9). Dessa forma, os resultados observados para a manteiga de cacau de todos os clones estudados, com exceção do TSH 774, mostraram-se melhores em relação ao cacau comum, dado importante para utilização desses materiais pela indústria de chocolates. Cabe ressaltar que o programa de melhoramento genético tem visado o aumento da dureza da manteiga de cacau originada no Estado da Bahia (PIRES, 2003), região tradicionalmente caracterizada por fornecer manteiga de cacau macia, ou seja, com menor teor de gordura sólida na temperatura ambiente (a 25 °C) (LUCCAS, 2001).

Na Tabela 9 é apresentada a composição dos triacilgliceróis formados por dois ácidos graxos saturados e um monoinsaturado e a Tabela 10 apresenta a composição dos

triacilgliceróis formados por dois ou mais ácidos graxos insaturados, ambos referentes à manteiga de cacau dos diferentes materiais estudados.

Tabela 9. Composição em triacilgliceróis que contenham pelo menos dois ácidos graxos saturados da manteiga de cacau de dez cultivares

Cultivar	Triacilglicerol (g/100 g)			
	POS	SOS	POP	SOA
CEPEC 42	42,09 ± 0,12	28,04 ± 0,19	17,25 ± 0,03	1,07 ± 0,08
COMUM	41,76 ± 0,26	22,57 ± 0,01	16,48 ± 0,01	1,10 ± 0,04
EET 397	41,85 ± 0,02	25,64 ± 0,04	19,49 ± 0,04	1,08 ± 0,01
TSA 654	42,21 ± 0,22	26,71 ± 0,25	18,31 ± 0,11	1,06 ± 0,02
TSA 656	42,50 ± 0,19	27,66 ± 0,06	18,12 ± 0,05	1,11 ± 0,05
TSAN 792	42,78 ± 0,83	27,65 ± 0,15	18,91 ± 0,07	1,01 ± 0,08
TSH 516	42,45 ± 0,22	25,81 ± 0,58	19,75 ± 0,10	0,93 ± 0,03
TSH 565	43,24 ± 0,71	28,37 ± 0,39	20,07 ± 0,04	1,27 ± 0,02
TSH 774	41,59 ± 1,26	27,73 ± 3,76	18,66 ± 0,08	1,16 ± 0,21
TSH 1188	43,30 ± 1,03	27,19 ± 0,16	20,43 ± 0,06	1,26 ± 0,10

Na Tabela, os triacilgliceróis representados são formados pelos seguintes ácidos graxos: P = ácido palmítico (saturado); O = ácido oléico (monoinsaturado); S = ácido esteárico (saturado)

Tabela 10. Composição em triacilgliceróis que contenham pelo menos dois ácidos graxos insaturados da manteiga de cacau de dez cultivares

Cultivar	Triacilglicerol (g/100 g)				
	PLiP	POO	POLi	SOO	OOA
CEPEC 42	2,32 ± 0,07	4,56 ± 0,44	0,67 ± 0,02	3,49 ± 0,19	0,52 ± 0,16
COMUM	2,04 ± 0,01	4,36 ± 0,25	0,54 ± 0,04	10,70 ± 0,04	0,45 ± 0,09
EET 397	2,73 ± 0,03	4,50 ± 0,00	0,98 ± 0,01	3,21 ± 0,07	0,52 ± 0,01
TSA 654	2,43 ± 0,01	4,59 ± 0,14	0,67 ± 0,04	3,55 ± 0,20	0,48 ± 0,03
TSA 656	2,38 ± 0,01	4,06 ± 0,08	0,50 ± 0,03	3,06 ± 0,18	0,60 ± 0,09
TSAN 792	2,14 ± 0,01	4,24 ± 0,63	--	2,87 ± 0,15	0,41 ± 0,05
TSH 516	2,77 ± 0,07	4,68 ± 0,13	--	3,09 ± 0,41	0,52 ± 0,05
TSH 565	2,59 ± 0,03	3,89 ± 0,83	--	1,02 ± 0,18	0,27 ± 0,24
TSH 774	2,28 ± 0,05	4,89 ± 1,37	--	0,79 ± 0,11	0,45 ± 0,04
TSA 1188	2,79 ± 0,05	4,13 ± 1,13	--	2,37 ± 0,21	0,16 ± 0,02

Na Tabela, os triacilgliceróis representados são formados pelos seguintes ácidos graxos: P = ácido palmítico (saturado); O = ácido oléico (monoinsaturado); S = ácido esteárico (saturado); Li = ácido linoléico (diinsaturado); A = ácido araquídico (saturado)

Neste trabalho, os teores dos triacilgliceróis POS, SOS e POP variaram, respectivamente, de 41,76 a 43,30; 22,57 a 28,37 e 16,48 a 20,43%. Os valores reportados

por Luccas (2001) para POP e POS encontram-se na faixa verificada neste trabalho. Porém, para SOS, os teores de todos os materiais avaliados estão acima dos reportados por Luccas (2001). TSH 565 apresentou os maiores teores de POS e SOS e TSH 1188 apresentou os maiores teores de POS e POP em relação aos demais materiais. Por outro lado, o cacau comum apresentou os menores teores de POS e POP e o maior teor de SOO, o qual diferiu consideravelmente dos valores encontrados para os demais materiais estudados. O teor observado para o cacau comum (10,70%) encontra-se próximo ao reportado por Luccas (8,24%) para manteiga de cacau extraída de amêndoas de cacau da Bahia – BR. Este elevado teor de SOO observado pode ter sido uma das causas dos menores teores de gordura sólida verificados para este material (Figura 5). Luccas (2001) observou teores, respectivamente, dos triacilgliceróis POS, SOS, POP, POO e SOO de 37,38; 24,89; 18,88; 7,24 e 8,24 em manteiga de cacau extraída de amêndoas de cacau de origem Bahia – Brasil. Pires (2003) encontrou valores de SOS para clones dos materiais avaliados neste estudo, exceto o cacau comum de 16,96% (TSA 656); 18,17% (EET 397); 18,64% (TSH 565); 19,31% (CEPEC 42); 19,70% (TSAN 792); 20,56% (TSA 654); 20,98% (TSH 1188) e 25,44% (TSH 774).

De forma análoga, Chaiseiri & Dimick (1989) concluíram que a manteiga produzida no Brasil tem menor dureza que a produzida no Sudeste da Ásia e Oeste da África, e apresenta maior proporção de POO e SOO, e menor de SOS. De acordo com End (1990) citado por Pires (2003), os níveis de SOS são maiores em manteiga de cacau produzida em temperaturas mais altas. O triacilglicerol SOS tem sido relacionado com a rápida formação de núcleos de cristalização e com a dureza final (CHAISSIERI & DIMICK, 1995). Os resultados apresentados indicam que alguns dos materiais utilizados no Programa de Melhoramento Genético do Brasil e estudados neste trabalho apresentaram diferenças consideráveis em relação ao teor de gordura sólida e a composição dos triacilgliceróis, quando comparados com o cacau comum, sendo seu comportamento interessante do ponto de vista das necessidades das indústrias processadoras de cacau e do mercado de chocolates.

4. CONCLUSÕES

- Embora tenha sido feita uma uniformização prévia dos *nibs* quanto ao teor de umidade, tamanho, massa e temperatura inicial, verificou-se que os parâmetros de torração dos *nibs* para obtenção dos *liquors*, devem necessariamente ser específicos para cada material; diferenças no tempo de torração de até 4 minutos entre alguns dos cultivares estudados levaram a maior ou menor aceitação sensorial, sendo que uma equipe de provadores não treinados foi capaz de detectar diferenças e apresentar preferência por determinados tempos para determinados materiais;
- Constatou-se a viabilidade de obtenção e aplicação industrial de *liquor* e manteiga de cacau a partir dos materiais avaliados, sendo que a maioria desses produtos obtidos apresentaram características superiores em relação aos obtidos do cacau Comum. Entre as diferenças observadas entre os clones e o cacau Comum, destacam-se o perfil sensorial, pH, acidez total titulável e teor de nitrogênio total dos *liquors*, além do teor e características físicas e químicas da manteiga de cacau. Algumas das diferenças observadas podem ter como causas a evolução dos processos de fermentação e secagem e as próprias diferenças genéticas dos materiais estudados;
- Verificou-se que, microbiologicamente, todos os *liquors* obtidos mostraram-se adequados. Em relação ao pH, acidez total titulável e teores de ácidos orgânicos, verificou-se que, quanto menores os valores de pH, maior a acidez total titulável. O *liquor* do cultivar TSH 1188 apresentou o maior valor de pH e o menor teor dos ácidos orgânicos acético e láctico somados, resultados evidenciados na análise sensorial dos *liquors* por equipes treinadas, na qual este material teve a menor nota para acidez. Por outro lado, os menores valores de pH e maiores concentrações dos ácidos acético e láctico foram observados para os *liquors* Comum, TSH 774 e TSAN

792, sendo que este primeiro recebeu as maiores notas de acidez na análise sensorial dos *liquors*;

- Em relação à análise sensorial dos *liquors* realizada por duas equipes treinadas de provadores de duas empresas processadoras de cacau, foram verificadas diferenças entre os materiais estudados, em relação aos atributos avaliados e entre as equipes de provadores. Verificou-se, ainda, uma tendência de diferenciação dos materiais em dois grandes grupos para o atributo “sabor de nozes”, sendo que os materiais com ascendência Trinitária (TSAN 792, TSH 516, TSH 565, TSH 774 e TSH 1188) tiveram notas mais altas em relação aos demais materiais avaliados;
- Em relação à manteiga de cacau, foram verificadas diferenças no teor total presente nos *liquors* e nas características físicas, avaliadas pelo teor de gordura sólida em diferentes temperaturas, e químicas, pela composição e teor de triacilgliceróis. Ambas as características têm importância nas propriedades de derretimento, no consumo (*snap*) e na estabilidade de produtos como chocolates produzidos com esses materiais e mantidos em temperatura ambiente.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMERINE, M. A. & OUGH, S. S. (s.d). **Methods for Analyses of Musts and Wines**. 2ed. New York. Jywiley E. Sons, Inc. s.d, 337p.
- BAIGRIE, B.D.; RUMBELOW, S.J. Investigation of flavour defects in Asian cocoa liquors. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 39, p. 357-368, 1987.
- BONVEHI, J.S. Investigation of aromatic compounds in roasted cocoa powder. **European Food Research Technology**, v. 221, p. 19-29; 2005.
- BORCHERS, A.T.; KEEN, C.L.; HANNUM, S.M.; GERSHWIN, M.E. Cocoa and chocolate: composition, bioavailability and health implications. **Journal of Med. Food**, v. 3, n.2, p.77-105, 2000.
- 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 Americam Dietetic Assossiation**, n. 99, p. 1249-1256, 1999.
- CHAISSIERI, S.; DIMICK, P.S. Lipid and hardness characteristics of cocoa butters from different geographic regions. **Journal of American Oil Chem. Soc.** v. 66, p. 1771-1776. 1989.
- CHAISSIERI, S.; DIMICK, P.S. Dynamic crystallization of cocoa butter. 2 Morphological, thermal, and chemical characteristics during crystal growth. **Journal of American Oil Chem. Soc.** v. 72, p. 1497-1504, 1995.
- DIMICK, P.S. Principles of cocoa butter crystallization. **The Manufacturing Confectioner**. v. 71, n.5, p. 109-114,1991.
- DOWNES, F.P.; ITO, K. (ed.) 2001. **Compendium of methods for microbiological examination of foods**, 4 th ed. American Public Association, Washington, D.C.
- EFRAIM, P. **Estudo para minimizar as perdas de flavonóides durante a fermentação de cacau para produção de chocolate**. Campinas, 2004. Dissertação (Mestre em Tecnologia de Alimentos) Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, 2004

- EFRAIM, P.; TUCCI, M.L.; GARCÍA, N.H.P ; HADDAD, R.; EBERLIN, M. Teores de compostos fenólicos de sementes de cacauzeiro de diferentes genótipos. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 9, n.4, p. 229-236, 2006.
- FADINI, A.L. **Comparação da eficiência do processo convencional de torração frente ao processo por microondas**. Campinas, 1998, 109p. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Engenharia de Alimentos – UNICAMP, 1998.
- FIGUEIRA, A.; LAMBERT, S. V.; CARPENTER, D.; PIRES, J. L. ; CASCARDO, J. C. M. ; ROMANCZYK, L. . The Similarity of Cocoa Flavour of Fermented Seeds from Fingerprinted Genotypes of Theobroma Cacao L. from Brazil and Malaysia develop equivalent cocoa flavour. **Tropical Agriculture**, v. 74, n. 2, p. 132-139, 1997.
- FIRESTONE, D. (Ed.). **Official methods and recommended practices of the AOCS**. 5.ed. Illinois: American Oil Chemists Society, 1998. 2v.
- GILBERT ESCRIVÁ, M. V. **Comparação das propriedades reológicas da massa de cacau torrada convencionalmente e por microondas**. Campinas, 1997. Dissertação (Mestre em Tecnologia de Alimentos). Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, 1997.
- HORWITZ, W ed. **AOAC Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists**, 18^a ed., 2005.
- HUFMAN, P. Chocolate flavor: Practical guide for the User. **The Manufacturing Confectioner**, n. 2, v.72, p. 65-68, 1992.
- INTERNATIONAL OFFICE OF COCOA, CHOCOLATE AND SUGAR CONFECTIONER (IOCCSC). Viscosité du chocolat: Determinacion de la limite d'e coulement et de viscosité plastique de cason. **Rev. Int. Choc. (RIC)** v. 28, p. 216–218, 1973.
- ISO 8587– **Sensory Analysis- Methodology- Ranking**, First Edition, 1988, 9 p.
- KEALEY, K.S., SNYDER, R.M., ROMACZYK, L.J., GEYER, H.M., MEYERS, M.E., WHITHCARE, E.J., HAMMERSTONE, J.F. & SCHMITZ, H.H. (1998). Cocoa components, edible products having enhanced polyphenol content, methods of making same medical uses. **Patent Corporation Treaty (PCT)** WO 98/09533, Mars Incorporated, USA.
- KLEINERT, J. Cleaning, roasting and winnowing. In: BECKETT, S.T. **Industrial Chocolate Manufacture and Use**, 2ed., p. 55-69. London: Black Academic & Professional, 1994.

-
- LEISSNER, R. *et al.* **Cocoa butter alternatives:** Handbook Karlshamns Oils & Fats Academy, v. 3, 135p., 1993.
- LIPP, M.; ANKLAM, E. Review of cocoa butter alternatives fats for use in chocolate – part A: compositional data. **Food Chemistry**, v. 62, n. 1, p. 73-97, 1998.
- LUCCAS, V. **Fracionamento térmico e obtenção de gorduras de cupuaçu alternativas a manteiga de cacau para uso na fabricação de chocolate.** 2001. 188p. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2001.
- LUNA, F.; CROUZILLAT, D.; CIROU, L.; BUCHELI, P. Chemical composition and flavor of Ecuadorian cocoa liquor. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 12, p. 3527-3532, 2002.
- MATISSEK, R. Evaluation of xanthine derivatives in chocolate-nutritional and chemical aspects. **Journal of Food Technology**, v. 205, n.3, p.175-184, 1997.
- McHENRY, L.; FRITZ, P.J. Cocoa butter biosynthesis: effect of temperature on *Theobroma cacao* acyltransferases. **Journal of American Oil Chem. Soc.** v. 64, p. 1012-1015. 1987.
- MEURSING, E.H. Cocoa mass, cocoa butter, cocoa powder. In: BECKETT, S.T. (Ed.). **Industrial chocolate manufacture and use.** 2.ed. London: Chapman & Hall, 1994. cap. 6, p. 70-82.
- MINIFIE, B.W. **Chocolate, cocoa, and confectionery. Science and Technology**, 3^a ed., Chapman & Hall, New York, London, 1989.
- NATSUME M, OSAKABE N, YAMAGISHI M, TAKIZAWA T, NAKAMURA T, MIYATAKE H, HATANO T, YOSHIDA T. Analyses of polyphenols in cacao liquor, cocoa, and chocolate by normal-phase and reversed-phase HPLC. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, v. 64, n.12, p. 2581-2587, 2000.
- NIEDIEK, E.A. Particle size reduction. In: BECKETT, S.T. (Ed.). **Industrial chocolate manufacture and use.** 2.ed. London: Chapman & Hall, 1994. cap. 7, p. 83-100.
- OSAKABE, N; YAMAGISHI, M; SANBONGI, C; NATSUME, M; TAKIZAWA, T; OSAWA, T Antioxidative substances in cacao liquor. **Journal of Nutr. Sci. Vitaminol** (Tokyo). v. 44, n. 2, p.313-21, 1998.
- PEZOA-GARCÍA, N.H. **Contribution a l'étude d'un capteur por controlar em continu procede de torréfaction.** 170p. 1989. These (Docteur) – Université de Technologie de Compiègne, Compiègne, 1989.

- 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.
- PITT, J.I., HOCKING, A.D. **Fungi and Spoilage**. London: Blackie Academic & Professional, 593p. 1997
- SAS INSTITUTE INC. **SAS/STAT User's Guide**. Release. Cary, NC: SAS Institute Inc, 1028p., 1993.
- SUKHA, D.A.; BUTLER, D.R.; UMAHARAN, P.; BOULT, E. The use of an optimised organoleptic assessment protocol to describe and quantify different flavour attributes of cocoa liquors made from Ghana and Trinitario beans. **European Journal of Food Technology**, v. 226, n. 3, p. 405-413, 2008.
- TANERI, C.E. Chocolate liquors: factors affecting viscosity. **The Manufacturing Confectioner**. v. 56, n. 3, p. 45-55. Glen Rock, NJ, 1976.
- TUCCI, M.L.S. **Seleção de genótipos para produção de manteiga de cacau no Vale do Ribeira, São Paulo, Brasil**. 120p. 1997. Dissertação (Mestrado). Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz". Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1997.
- TUCCI, M.L.S.; FIGUEIRA, A.; BOVI, M.L.A.; TURATTI, J.M.; GUTIERREZ, L.E.; SAES, L.A. Avaliação de genótipos para produção de manteiga de cacau no Vale do Ribeira, São Paulo, Brasil. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v.5, n.2, p.1-9, 2002.
- 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.

CAPÍTULO 4

OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE CHOCOLATES PRODUZIDOS A PARTIR DE CULTIVARES DE CACAU RESISTENTES À VASSOURA-DE-BRUXA

1. INTRODUÇÃO

O chocolate é um alimento consumido e apreciado mundialmente. Entre os diversos fatores que o diferenciam dos demais alimentos, destacam-se suas características sensoriais como sabor, textura, derretimento rápido ao ser consumido, bem como a presença e os teores de diversos compostos químicos que influenciam seu perfil sensorial, nutricional e funcional. O desenvolvimento do sabor do chocolate, além de estar relacionado à variedade do cacau utilizado, depende também das etapas de beneficiamento que se iniciam no campo, com a colheita dos frutos em adequado estado de maturação, além da correta realização das etapas de fermentação e secagem das sementes e dos processos industriais de fabricação como a torração das amêndoas, *nibs* ou massa de cacau (dependendo do sistema utilizado) e da conchagem do chocolate até a obtenção do produto final (BECKETT, 1994; CROSS, 1999). Entre os inúmeros compostos químicos responsáveis pelo sabor do chocolate, estão substâncias voláteis, como as pirazinas, e não voláteis como metilxantinas, polifenóis, alguns ácidos orgânicos, entre outras (JINAP *et al.*, 1995).

Grande parte dos chocolates fabricados mundialmente utilizam *liquor* e manteiga de cacau provenientes de misturas de amêndoas de diferentes países ou regiões, como forma de buscar a padronização do sabor e de características de importância aos processos

tecnológicos utilizados, como a acidez, dureza da manteiga, grau de fermentação, entre outros. Por outro lado, há ainda um fator de variabilidade pouco explorado pelas empresas processadoras de cacau e chocolate, relacionado às características genéticas do cacau e sua influência na qualidade de chocolates. Quanto a esse aspecto, verifica-se uma grande dificuldade na realização de estudos comparativos, visto que a padronização das operações de pré-processamento, como a colheita, fermentação e secagem também é difícil (CROSS, 1999). Com isso, são escassos trabalhos que tenham se aprofundado quanto à influência genética do cacau nas características tecnológicas do chocolate, principal produto elaborado a partir dessa matéria-prima. Mesmo tendo como objetivo a avaliação das características sensoriais de genótipos de cacaueiro, o chocolate se apresenta como o principal produto a ser avaliado por provadores não treinados, uma vez que não é costume o consumo direto de amêndoas de cacau ou *liquor*.

O Brasil é atualmente o quarto maior produtor mundial de chocolates, com faturamento, em 2006, de aproximadamente US\$ 5,5 bilhões e produção de 404.000 toneladas (crescimento de 12% em relação a 2005) (FUJII, 2007). Porém, no mercado internacional, as amêndoas de cacau brasileiras têm sido muitas vezes classificadas como de qualidade mediana pelos produtores de chocolate, por serem um pouco mais ácidas, amargas, adstringentes e apresentarem pouco desenvolvimento de sabor, principalmente em relação às amêndoas de cacau produzidas em Gana e Costa do Marfim, o que lhes confere muitas vezes baixa cotação no mercado mundial (DIMICK & HOSKIN, 1981; HANCOCK, 1994). Isso pode estar relacionado às características genéticas do cacau utilizado, como também às práticas de beneficiamento, envolvendo as importantes etapas de fermentação e secagem. Em relação à questão genética, com a incidência da doença fúngica vassoura-de-bruxa na maior região produtora de cacau do Brasil, o sul da Bahia e graças ao programa de melhoramento genético que vem sendo conduzido no país, com especial atenção para aquela região, novos materiais que apresentam não apenas resistência a doenças, como também elevada produtividade e características físicas superiores, têm sido indicados aos produtores, que também produziram novas seleções. No entanto, outros aspectos relacionados à qualidade desses materiais, como seu desempenho tecnológico e

sensorial na produção de chocolate tornam-se relevantes, especialmente na busca de melhorias que levam à maior agregação de valor e que permitam mudar a imagem do cacau brasileiro no mercado internacional.

Em vista das questões abordadas, esta etapa do trabalho teve como objetivos: o processamento de chocolates a partir de *liquor* e manteiga de cacau obtidos de clones de cacau resistentes à vassoura-de-bruxa utilizados comercialmente no Estado da Bahia, bem como sua caracterização física, físico-química e sensorial.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material

Foram utilizados *liquors* e manteiga de cacau submetidos aos mesmos processos de fabricação e obtidos a partir da fermentação e secagem realizada simultaneamente de frutos de cacau obtidos por polinização aberta dos clones **CEPEC 42 (híbrido de TSA 644 x SIC 19)**, **EET 397 (oriundo de SCA)**, **TSA 654 (híbrido de SCA6 x IMC 67)**, **TSA 656 (híbrido de SCA6 x IMC 67)**, **TSAN 792 (híbrido de TSA 641 com genótipo desconhecido)**, **TSH 516 (híbrido de SCA6 x ICS1)**, **TSH 565 (híbrido de SCA6 x ICS1)**, **TSH 774 (origem desconhecida)** e **TSH 1188 (origem desconhecida)**, selecionados na região da Bahia por sua alta produtividade e por apresentar resistência à vassoura-de-bruxa. Os clones foram obtidos no campo de multiplicação de progênies da CEPLAC (Comissão Executiva para o Plano da Lavoura Cacaueira) em Itabuna – BA. O **tipo Comum**, da região, também foi avaliado por ainda ser amplamente utilizado na região, apesar de suscetível à vassoura-de-bruxa.

Cabe ressaltar que, quanto à sua ascendência, os materiais estudados podem ser divididos nos seguintes grupos:

- Materiais descendentes do tipo *Forastero*: TSA 654, TSA 656 e CEPEC 42, EET 397;
- Materiais descendentes dos tipos *Forastero* e Trinitário: TSH 516, TSH 565, TSH 774, TSH 1188 e TSAN 792;
- tipo Comum da região sul da Bahia (*Forastero*).

2.2 Processamento

A Figura 1 apresenta o fluxograma de processamento dos chocolates dos diferentes materiais estudados.

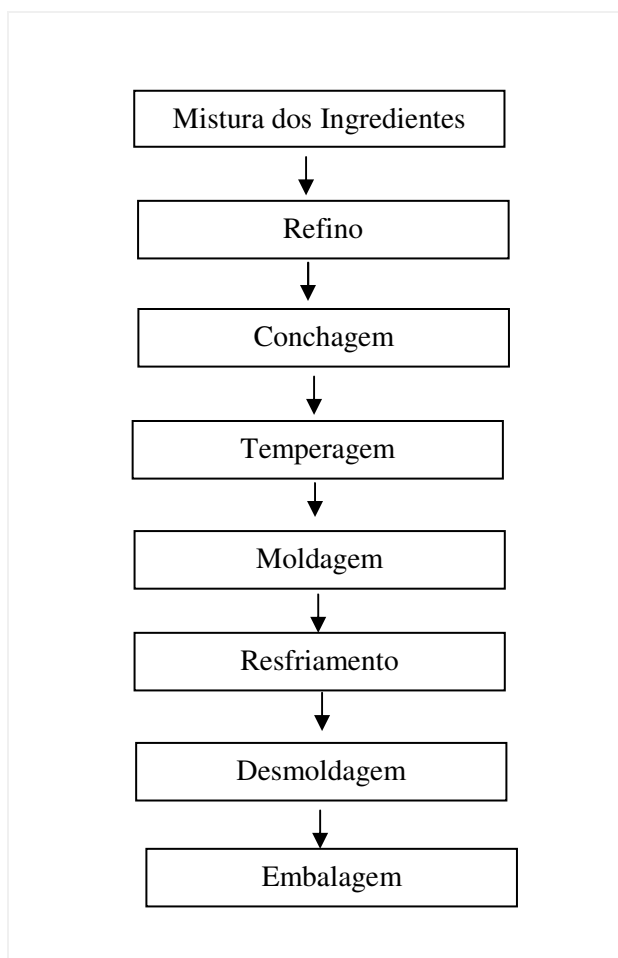


Figura 1. Fluxograma de processamento dos chocolates de dez cultivares de cacau

Para a produção dos chocolates, foram utilizados os *liquors* e a manteiga de cacau obtidos conforme descrito no item 2.2.1 (Capítulo 3), provenientes da torração de *nibs* dos diferentes materiais estudados a 150 °C (temperatura na camisa de aquecimento do equipamento) nos seguintes tempos (determinados de acordo com análise sensorial - Teste de Ordenação):

- Cultivares Cepec 42, Comum, EET 397, TSA 656, TSH 516, TSH 774: 36 min;
- Cultivares TSA 654, TSAN 792, TSH 565: 38 min;
- Cultivar TSH 1188: 40 min.

Inicialmente, foi determinado o teor de lipídios totais dos *liquors* em bateria de extração Soxhlet da marca Tecnal modelo TE-188, de acordo como método 31.4.02 (HORWITZ, 2005), com refluxo por 18 h para maior eficiência na extração da gordura. Visando a uniformização dos materiais estudados, cada um dos *liquors* teve seu teor de manteiga de cacau corrigido para 57,2%, por meio da adição direta da manteiga ou torta extraídas de cada clone, sob agitação e manutenção da temperatura a 40 °C.

Foram produzidos chocolates tipo amargos, isentos de leite, com alto teor de cacau, visando melhor avaliação das diferenças de sabor pelos provadores para os diferentes materiais estudados. A formulação geral utilizada foi composta por 56,0% de *liquor* de cacau contendo 57,2% de manteiga de cacau; 42,6% de açúcar (Glaçucar, marca União); 1% de manteiga de cacau adicional e 0,4% de lecitina de soja (Solec CH, marca Solae). Todos os chocolates foram produzidos em lotes de 700 g com um teor total de manteiga de cacau de 33%.

Uma vez que os *liquors* utilizados na fabricação dos chocolates apresentavam granulometria inferior a 25 µm, na etapa de mistura foram usados 35% dos 56% totais de *liquor* que compunham as formulações, sendo esses misturados na forma fundida (a 40°C) ao total de açúcar (42,6%) em misturador planetário KITCHEN AID, modelo K5SS, com capacidade para 5 L (Kitchen-Aid, St. Joseph, MI). A mistura desses ingredientes foi realizada até que se formasse uma massa com consistência pastosa. Os 21% restantes do *liquor* foram acrescentados no início da etapa de conchagem.

O refino da massa foi realizado em um único estágio em refinador marca DRAISWERK, modelo GMBH, composto por 3 cilindros encamisados horizontais de aço, resfriados internamente com água a 15 °C. Ajustou-se a distância entre os cilindros para se

obter um tamanho máximo das partículas da massa entre 20 e 25 μ m, medido com micrômetro digital, conforme será descrito no item 2.3.2.

A conchagem foi realizada em bateladas de 700 g em miniconcha longitudinal, marca FRIWESSA, tipo PPC, com capacidade para 1 kg. A velocidade da concha, foi mensurada em 40 ciclos/min, de acordo com o número de vezes que o braço desta realizou um ciclo de ida e volta por minuto. Ao início dessa etapa, o restante do *liquor* (21%) foi incorporado à massa refinada. Essa primeira fase da conchagem foi realizada durante 20 h a 60°C, quando se adicionou o emulsificante (lecitina de soja), misturado a 1% de manteiga de cacau fundida. Essa segunda fase foi realizada durante 4 h a 60 °C (temperatura do chocolate no interior da concha).

A temperagem foi realizada em temperadeira de laboratório, APMC, modelo D45134, com capacidade máxima de 1 kg. Utilizou-se o método de temperagem em três estágios proposto por Talbot (1994) e Luccas (2001), sendo que, na primeira fase, o chocolate permaneceu durante 10 min a 40 °C, para a estabilização da temperatura. Em seguida foi realizado o resfriamento até $29 \pm 0,3$ °C, a uma taxa de $2 \pm 0,2$ °C/ min, permanecendo durante 10 min na temperatura. Na terceira fase, o chocolate foi reaquecido à 31 °C, permanecendo nessa temperatura por 3 min. A temperatura do ambiente foi mantida em $20,0 \pm 1,0$ °C. Para avaliação do grau de temperagem e a garantia de que todos os chocolates estavam uniformemente pré-cristalizados, utilizou-se um temperímetro, marca Sollich, modelo E3. Foram considerados e utilizados índices de temperagem entre 4,5 e 5,5.

Após a temperagem, os chocolates foram moldados em fôrmas de polietileno no formato de barras retangulares de 8,2 x 2,5 x 0,7 cm e resfriados, em uma única passagem, em túnel de resfriamento SIAHT, com 8 m de comprimento dotado de compressor na posição central. A temperatura do ar resfriado na posição central do túnel foi mantida em $10 \pm 2,0$ °C, sendo que na entrada e saída a temperatura do ar frio insuflado estava entre 14 e 17 °C. A velocidade da esteira foi ajustada para 1,0 m/min. Após a desmoldagem, os

chocolates foram embalados em papel alumínio e armazenados em câmara a 23 °C durante 15 dias previamente à determinação da textura instrumental e à realização da análise sensorial para permitir a máxima cristalização da manteiga de cacau na forma β induzida durante a temperagem, a qual é estável em temperatura ambiente.

2.3 Caracterização dos chocolates

2.3.1 Caracterização físico-química

- a. Teor de umidade, de acordo com o método 977.10, item 31.1.03 (HORWITZ, 2005), em equipamento Titroline Alpha Shott, modelo TZ1282;
- b. pH, em pHmetro Tecnal modelo TE-2 de acordo com o método 970.21, item 31.1.07;
- c. Acidez total titulável, de acordo com o método 11.14.3, (HORWITZ, 2005);
- d. Teor de nitrogênio total, segundo o método Kjeldahl, 970.22, item 31.1.08 (HORWITZ, 2005);
- e. determinação da atividade de água: realizada em higrômetro Decagon-Aqualab modelo CX-2, com resolução de 0,01 acoplado a um banho termostatizado Brookfield, modelo TC 500, com resolução de 0,1°C. As determinações foram feitas a $25 \pm 0,3^\circ\text{C}$;

Uma vez que durante a etapa de conchagem ocorrem perdas reduzidas dos teores de polifenóis (KEALEY *et al.*, 1998), esse parâmetro não foi mensurado nos chocolates, uma vez que os dados apresentados para os *liquors* (item 3.2, Tabela 2 - Capítulo 3) são um indicativo dos possíveis teores de polifenóis dos chocolates, considerando-se que utilizou-se 56% de *liquor* e que nenhum dos demais ingredientes da formulação possuem tais compostos.

Todas as determinações foram realizadas em triplicata, exceto a atividade de água que foi realizada em nove replicatas.

2.3.2 Caracterização física

- a. Propriedades reológicas: foram determinados os parâmetros de viscosidade e limite de escoamento de Casson em reômetro programável Brookfield modelo RVDV III+, dotado de adaptador para pequena quantidade de amostra (5 - 10 g) (IOCCSC, 1973; VISSOTTO *et al.*, 1999) acoplado a banho termostatizado BROOKFIELD, modelo TC 500, para manutenção da temperatura em $40 \pm 0,5$ °C durante as leituras. Utilizou-se *spindle* cilíndrico S15, com relação de raios dos cilindros interno e externo de 0,75. As medidas foram realizadas em triplicata;
- b. Tamanho máximo das partículas: foi determinado durante o refino e após a conchagem visando garantir que o tamanho máximo das partículas fosse de 25 µm e em uma faixa próxima entre os chocolates, garantindo que esse parâmetro não interferisse nos resultados das demais determinações físicas. Foi utilizado um micrômetro digital MITUTOYO, com escala de 0 - 25 mm, de acordo com o método descrito por Luccas (2001). As medidas foram realizadas em dez replicatas;
- c. Textura instrumental: determinação, neste caso, da tensão de ruptura da barra de chocolate. Foi utilizado um texturômetro TA.XT2i, Stable Micro System, com base SMS P/W e probe HDP/3PB, de acordo com Luccas (2001). As determinações foram feitas em ambiente climatizado a 25 °C. Foram realizadas, no mínimo, 10 repetições por amostra.

2.4 Análise sensorial

Os chocolates foram avaliados sensorialmente no Centro de Ciência e Qualidade de Alimentos, do ITAL, através de Teste de Aceitabilidade com consumidores de chocolate (MOSKOWITZ, 1983; MEILGAARD *et al.*, 1988).

A avaliação sensorial dos chocolates amargos foi conduzida segundo delineamento de blocos completos casualizados com 50 provadores sem restrição de idade, sexo e classe social. Os aspectos sensoriais estudados foram avaliados por meio de escala do ideal e hedônica. As amostras foram avaliadas quanto aos atributos: aroma e sabor de chocolate,

amargor, acidez e dureza ou força necessária para a quebra do chocolate, por meio de uma escala de 7 pontos da seguinte forma: 7 = “muito mais forte do que eu gosto” a 1 = “muito menos forte do que eu gosto”; quanto ao derretimento, os chocolates foram avaliados através da escala de 7 pontos: 7 = “muito mais difícil do que eu gosto” a 1 = “muito mais fácil do que eu gosto”; quanto a aceitação de modo global do produto, com uma escala de 9 pontos que foram de 9 = gostei muitíssimo a 1 = desgostei muitíssimo e quanto à intenção de compra, com uma escala de 5 pontos: 1 = certamente compraria a 5 = certamente não compraria. O modelo da ficha de avaliação apresentada aos consumidores encontra-se na Figura 2. Além das questões relacionadas à avaliação dos produtos, os consumidores responderam a questões relacionadas aos hábitos de consumo de chocolate em barra.

As amostras foram identificadas por meio de códigos de três dígitos numéricos aleatórios e apresentadas de forma monádica seqüencial. As avaliações foram conduzidas em cabines individuais equipadas com iluminação por meio de lâmpadas fluorescentes e sistema computadorizado com programa Compusense Five 4.6 para coleta de dados.

AVALIAÇÃO SENSORIAL DE CHOCOLATE AMARGO								
Nome: _____			Data: ____/____/____ AMOSTRA _____					
Por favor, indique como você classifica a INTENSIDADE DO AROMA DE CHOCOLATE:								
(7)	()	()	()	()	()	()	(1)	
Muito mais forte do que eu gosto	Mais forte do que eu gosto	Um pouco mais forte do que eu gosto	Do jeito que eu gosto	Um pouco menos forte do que eu gosto	Menos forte do que eu gosto	Muito menos forte do que eu gosto		
Por favor, indique como você classifica a INTENSIDADE DO SABOR DE CHOCOLATE:								
(7)	()	()	()	()	()	()	(1)	
Muito mais forte do que eu gosto	Mais forte do que eu gosto	Um pouco mais forte do que eu gosto	Do jeito que eu gosto	Um pouco menos forte do que eu gosto	Menos forte do que eu gosto	Muito menos forte do que eu gosto		
Por favor, indique como você classifica o DERRETIMENTO DO CHOCOLATE NA BOCA:								
(7)	()	()	()	()	()	()	(1)	
Muito mais difícil do que eu gosto	Mais difícil do que eu gosto	Um pouco mais difícil do que eu gosto	Do jeito que eu gosto	Um pouco mais fácil do que eu gosto	Mais fácil do que eu gosto	Muito mais fácil do que eu gosto		
Por favor, indique como você classifica a FORÇA NECESSÁRIA para QUEBRAR O CHOCOLATE:								
(7)	()	()	()	()	()	()	(1)	
Muito mais forte do que eu gosto	Mais forte do que eu gosto	Um pouco mais forte do que eu gosto	Do jeito que eu gosto	Um pouco menos forte do que eu gosto	Menos forte do que eu gosto	Muito menos forte do que eu gosto		
Por favor, indique como você classifica a INTENSIDADE DO AMARGOR:								
(7)	()	()	()	()	()	()	(1)	
Muito mais forte do que eu gosto	Mais forte do que eu gosto	Um pouco mais forte do que eu gosto	Do jeito que eu gosto	Um pouco menos forte do que eu gosto	Menos forte do que eu gosto	Muito menos forte do que eu gosto		
Por favor, indique como você classifica a INTENSIDADE DE ACIDEZ:								
(7)	()	()	()	()	()	()	(1)	
Muito mais forte do que eu gosto	Mais forte do que eu gosto	Um pouco mais forte do que eu gosto	Do jeito que eu gosto	Um pouco menos forte do que eu gosto	Menos forte do que eu gosto	Muito menos forte do que eu gosto		
Indique o quanto você gostou do CHOCOLATE DE MODO GLOBAL:								
Gostei muitíssimo	Gostei muito	Gostei pouco	Não gostei nem desgostei	Desgostei pouco	Desgostei muito	Desgostei muitíssimo		
(9)	()	()	()	()	()	()	(1)	
Por favor, descreva o que você mais gostou e menos gostou nesta amostra								
Se este produto estivesse a venda, você:								
(1)	()	(3)	()	(5)				
Certamente compraria	Possivelmente compraria	Talvez compraria talvez não	Possivelmente não compraria	Certamente não compraria				

Figura 2. Ficha utilizada para a avaliação sensorial dos chocolates de dez cultivares de cacau

2.5 Análises estatísticas e tratamento de dados

Os dados obtidos foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA) e as médias foram comparadas pelo Teste de Tukey, ao nível de 5% de significância. Também foi realizada análise multivariada (MANOVA), sendo o valor de lambda de Wilks utilizado

para verificação da significância do teste. Foi feito estudo de correlação dos resultados das análises físico-químicas entre si e com os resultados da análise sensorial, utilizando o método de Pearson. Todas as análises foram realizadas no pacote estatístico SAS (Statistical Analysis System) (SAS®, 1993).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Caracterização dos Chocolates

3.1.1 Caracterização físico-química

Na Tabela 1 são apresentados os valores de umidade, atividade de água, pH, acidez total titulável e proteínas das amostras de chocolate dos diferentes cultivares.

Tabela 1. Valores de umidade, atividade de água, pH, acidez titulável e proteínas dos chocolates produzidos com dez cultivares de cacau

Amostra	Umidade (%)*	Aw*	pH*	Acidez total titulável (meq NaOH/100g)*	Proteína (%)* •
Cepec 42	1,07 ± 0,11 ^{abcd}	0,46 ± 0,05 ^{abc}	5,29 ± 0,12 ^{bc}	4,10 ± 0,09 ^{bc}	7,63 ± 0,12 ^{ab}
Comum	1,04 ± 0,04 ^{cde}	0,48 ± 0,04 ^a	5,14 ± 0,03 ^c	4,81 ± 0,13 ^a	6,39 ± 0,06 ^b
EET 397	1,03 ± 0,07 ^{bcd}	0,40 ± 0,05 ^d	5,30 ± 0,05 ^{bc}	3,96 ± 0,22 ^{bc}	6,40 ± 0,13 ^b
TSA 654	1,07 ± 0,10 ^{abc}	0,42 ± 0,03 ^{bc}	5,52 ± 0,08 ^a	3,62 ± 0,35 ^c	6,43 ± 1,01 ^b
TSA 656	1,05 ± 0,03 ^{ab}	0,49 ± 0,02 ^a	5,38 ± 0,05 ^{ab}	3,89 ± 0,20 ^{bc}	7,87 ± 0,09 ^{ab}
TSAN 792	0,95 ± 0,03 ^e	0,41 ± 0,03 ^{cd}	5,22 ± 0,07 ^{bc}	4,33 ± 0,15 ^{ab}	7,80 ± 0,31 ^{ab}
TSH 516	1,06 ± 0,05 ^{cde}	0,47 ± 0,02 ^{ab}	5,41 ± 0,04 ^{ab}	3,83 ± 0,11 ^{bc}	6,89 ± 0,42 ^b
TSH 565	1,04 ± 0,11 ^{de}	0,47 ± 0,01 ^{ab}	5,41 ± 0,03 ^{ab}	3,98 ± 0,14 ^{bc}	6,95 ± 0,51 ^{ab}
TSH 774	1,04 ± 0,12 ^{cd}	0,47 ± 0,03 ^{abc}	5,21 ± 0,08 ^{bc}	4,09 ± 0,22 ^{bc}	7,86 ± 0,13 ^{ab}
TSH 1188	1,01 ± 0,05 ^a	0,42 ± 0,02 ^{bc}	5,54 ± 0,10 ^a	3,70 ± 0,24 ^c	8,59 ± 1,29 ^a
D.M.S**	0,15	0,05	0,20	0,58	1,66

* média ± desvio padrão; **D.M.S.: Diferença mínima significativa ao nível de erro de 5% pelo Teste de Tukey. Valores de uma mesma coluna, com a mesma letra, não diferem significativamente entre si (Teste de Tukey a 5% de significância); • valores em base seca

Verifica-se que os valores de umidade dos diferentes chocolates foram de 0,95 a 1,07%, dentro da faixa recomendada para chocolate (LEES & JACKSON, 1992; BECKETT, 1994; LUCCAS, 2001). O pH das amostras ficou na faixa de 5,14 a 5,52. De acordo com Dimick & Hoskin (1981), uma conchagem eficiente pode levar ao aumento do pH de 4,95 para 5,70; valor considerado bom para chocolates, uma vez que um baixo pH e

um teor elevado de ácidos orgânicos, principalmente o acético, proveniente da fermentação das sementes de cacau, afetam de forma indesejável o sabor do chocolate (HOSKIN & DIMICK, 1979; DIMICK & HOSKIN, 1981; BRYSELBOUT & FABRY, 1995; BRITO & NARAIN, 2003). A acidez total titulável dos chocolates ficou entre 3,62 e 4,81 meq NaOH/100g, sendo que o cacau comum apresentou o maior valor de acidez titulável e o menor pH em relação às demais amostras, não diferindo significativamente de TSAN 792 em relação à acidez titulável e de Cepec 42, EET 397, TSAN 792 e TSA 656 em relação ao pH.

De acordo com Ley (1994) e Bryselbout & Fabry (1995), no processo de fabricação de chocolates a partir de *liquor* e manteiga de cacau, é na etapa de conchagem que ocorre a volatilização do ácido acético, aldeídos de baixo peso molecular, bem como da umidade, que deve alcançar valores máximos de 1,5% ao final desta etapa. Porém, ainda de acordo com Ley (1994), a etapa de conchagem não deve ser vista como uma etapa isolada, uma vez que completa processos e reações químicas e físicas desejadas que foram iniciadas, principalmente, nas etapas de fermentação, secagem e torração.

Foi verificada diferença significativa quanto ao teor de nitrogênio total (proteínas) entre o chocolate TSH 1188, que apresentou o maior teor de nitrogênio total (8,59% em base seca) e os chocolates TSH 516, TSA 654, EET 397 e Comum (respectivamente 6,89; 6,43; 6,40 e 6,39%), sendo que não houve diferença significativa entre os demais materiais entre si e em relação aos anteriores. Sabe-se que a composição nutricional do chocolate varia de acordo com a formulação. Cook (1972) citado por Abecia-Soria (1999) reportou teor de proteínas de 8,4% para chocolate contendo 70% de *liquor*, 1% de umidade, 37% de lipídios totais, bem como 1,05% de teobromina. Considerando que todos os chocolates produzidos e avaliados no presente estudo continham 56% de *liquor* e 33% de manteiga de cacau, os teores de proteínas mostraram-se próximos ou maiores que os reportados por Cook (1972), resultado interessante do ponto de vista nutricional dos chocolates produzidos com os materiais avaliados.

A atividade de água dos chocolates ficou compreendida entre 0,40 (EET 397) e 0,49 (TSA 656). Os valores indicam que os chocolates produzidos estavam em uma faixa de atividade de água em que pouquíssimas reações de deterioração podem ocorrer, indicando sua estabilidade química e física, caso sejam armazenados em condições adequadas de umidade e temperatura.

3.1.2 Caracterização física

A Tabela 2 apresenta os resultados do tamanho máximo das partículas após a conchagem, da viscosidade plástica, do limite de escoamento de Casson e da tensão de ruptura que representa a força necessária para a quebra dos chocolates.

Tabela 2. Tamanho máximo das partículas, viscosidade plástica e limite de escoamento de Casson e tensão de ruptura dos chocolates produzidos com dez cultivares de cacau

Amostra	Tamanho máx. partículas (μm)*	Viscosidade plástica (Pa.s)*	Limite de escoamento (Pa)*	Tensão de ruptura (Kgf/cm^2) *
Cepec 42	$21 \pm 2,1^a$	$4,01 \pm 0,16^{cd}$	$8,28 \pm 0,28^a$	$2,361 \pm 0,127^{abc}$
Comum	$21 \pm 2,3^a$	$6,18 \pm 0,35^a$	$8,84 \pm 0,30^a$	$2,042 \pm 0,120^{de}$
EET 397	$21 \pm 1,8^a$	$4,64 \pm 0,50^{cd}$	$5,76 \pm 0,19^b$	$2,392 \pm 0,169^{abc}$
TSA 654	$20 \pm 2,3^a$	$5,76 \pm 0,18^a$	$3,65 \pm 0,21^c$	$2,371 \pm 0,153^{abc}$
TSA 656	$21 \pm 2,4^a$	$4,72 \pm 0,38^{bc}$	$5,72 \pm 0,46^b$	$2,278 \pm 0,232^{bcd}$
TSAN 792	$21 \pm 2,4^a$	$5,88 \pm 0,21^a$	$4,16 \pm 0,15^{bc}$	$2,504 \pm 0,116^{ab}$
TSH 516	$20 \pm 1,7^a$	$5,68 \pm 0,68^{ab}$	$4,58 \pm 1,29^{bc}$	$2,337 \pm 0,148^{abc}$
TSH 565	$21 \pm 2,5^a$	$6,18 \pm 0,35^a$	$2,95 \pm 0,25^c$	$2,533 \pm 0,159^a$
TSH 774	$21 \pm 2,6^a$	$3,66 \pm 0,21^d$	$8,93 \pm 0,31^a$	$2,031 \pm 0,114^c$
TSH 1188	$21 \pm 1,9^a$	$3,68 \pm 0,21^d$	$8,88 \pm 0,99^a$	$2,502 \pm 0,180^{ab}$
D.M.S	3,2	1,04	1,65	0,242

* média \pm desvio padrão

**D.M.S.: Diferença mínima significativa ao nível de erro de 5% pelo Teste de Tukey

Valores de uma mesma coluna, com a mesma letra, não diferem significativamente entre si (Teste de Tukey a 5% de significância)

Em relação às características físicas avaliadas, de reologia e textura, os resultados encontrados não sugerem uma possível tendência de diferenciação dos materiais em grupos (descendentes de *Forasteros*, de Trinitários e material comum).

O tamanho máximo das partículas das amostras após a conchagem ficou compreendido em uma faixa de valores bem próximos, sendo que não houve diferença significativa. Cabe destacar que o tamanho das partículas, em conjunto com a umidade, o teor de gordura e a adição de emulsificantes afetam a viscosidade plástica de Casson do chocolate, o que pode afetar seu derretimento ao ser consumido (VOLTZ & BECKETT, 1997; LUCCAS, 2001). De acordo com Bryselbout & Fabry (1995), o tamanho médio das partículas do chocolate deve estar entre 15 e 25 μm , sendo que na faixa de 25 a 30 μm verifica-se uma sensação de arenosidade durante a degustação e abaixo de 10 μm verifica-se uma sensação de aderência do chocolate ao palato, devido ao aumento da área superficial, o que consequentemente leva ao aumento da viscosidade. Chevalley (1994) verificou o aumento da viscosidade plástica de Casson para chocolate ao leite com 32% de gordura quando mais de 20% das partículas estavam com tamanho maior ou igual a 27 μm . Por outro lado, de acordo com o mesmo autor, o aumento do tamanho das partículas leva a diminuição progressiva do limite de escoamento, na faixa de 10 a 40 μm .

Considerando que os valores de tamanho máximo das partículas não foram significativamente diferentes entre os materiais estudados e que o teor de gordura foi padronizado durante o processo, as diferenças observadas nos valores de viscosidade e limite de escoamento podem ter sido causadas pelas diferenças na umidade das amostras (Tabela 1) ou influenciadas por diferenças na temperatura de análise, fixada em 40 °C com variação de 0,5 °C acima ou abaixo do estabelecido, além de variações na distribuição do tamanho das partículas e na composição química dos *liquors* e manteiga de cacau de cada material utilizado. De acordo com a Tabela 2, verifica-se que os valores de viscosidade plástica para os diferentes chocolates variaram de 3,66 a 6,18 Pa.s e o limite de escoamento também variou de forma considerável, com valores entre 2,95 e 8,93 Pa. As diferenças observadas nas propriedades reológicas podem afetar o processo industrial de fabricação de

chocolates, sendo necessárias correções na dosagem ou tipos de emulsificantes durante a fabricação dos chocolates (SCHANTZ *et al.*, 2005). Apesar das diferenças, todas as amostras apresentaram valores de viscosidade plástica e limite de escoamento de Casson característicos de chocolates amargos produzidos com 0,4% de emulsificante (lecitina de soja) (CHEVALLEY, 1994; LUCCAS, 2001; SCHANTZ *et al.*, 2005). Verificou-se diferença significativa entre o chocolate TSA 656 e os demais materiais estudados, com exceção de TSH 516, quanto a viscosidade plástica. As médias da viscosidade plástica de Casson dos chocolates Comum, TSA 654, TSAN 792, TSH 516 e TSH 565 não foram diferentes significativamente entre si. O mesmo foi observado para os chocolates TSH 774, TSH 1188, CEPEC 42 e EET 397. Com relação ao limite de escoamento, os chocolates TSH 774, TSH 1188, CEPEC 42 e Comum apresentaram as maiores médias, que foram consideradas significativamente distintas. Os menores valores foram observados para os chocolates TSA 654, TSAN 792, TSH 516 e TSH 565.

As propriedades reológicas não são apenas importantes industrialmente para o escoamento do chocolate nas tubulações, como também estão relacionadas ao derretimento e fluidez do chocolate na boca, influenciando a textura final do produto (VOLTZ & BECKETT, 1997). Vários são os fatores que afetam as propriedades reológicas de chocolates, como a temperatura e o tempo de conchagem, a umidade, o teor de gordura, a distribuição do tamanho das partículas e o teor de emulsificantes (CHEVALLEY, 1994). A temperatura e o tempo de conchagem, bem como o teor de emulsificantes, foram os mesmos para todas as amostras, sendo assim excluídos dos fatores que afetariam as propriedades reológicas.

Em relação à tensão de ruptura, ou seja, tensão necessária para a quebra do chocolate, verificou-se, pelos dados da Tabela 2, que os valores variaram de 2,031 a 2,533 Kgf/cm². Os menores valores foram observados para os chocolates TSH 774 e Comum. No Capítulo 3, Figura 6, verifica-se pelos dados apresentados para o teor de gordura sólida em diferentes temperaturas que TSH 774 e o material Comum apresentaram os menores valores de gordura sólida a 23 °C, temperatura em que os chocolates foram armazenados

previamente à análise instrumental de textura. Nessa mesma temperatura, ainda de acordo com a Figura 6, Capítulo 3, os maiores teores de gordura sólida foram encontrados para TSAN 792, seguido de TSH 1188 e EET 397. De acordo com os resultados apresentados na Tabela 2 deste Capítulo, a tensão de ruptura foi maior nos chocolates TSH 565, TSAN 792 e TSH 1188, apresentando diferença significativa em relação aos chocolates TSH 774 e Comum. Avaliando-se o teor total dos triacilgliceróis simétricos POP, POS e SOS, que caracterizam-se por uma alta ordem estrutural e portanto são responsáveis pela formação de uma rede cristalina mais compacta (LUCCAS, 2001), por meio da soma das porcentagens apresentadas na Tabela 9, item 3.4 - Capítulo 3, verifica-se os maiores teores para TSH 565 (91,68%), seguido de TSH 1188 (90,92%) e TSAN 792 (89,34%) e o menor teor para o material Comum (80,81%). Esse resultado também se relaciona aos valores observados para a tensão de ruptura dos chocolates. De acordo com Voltz & Beckett (1997), a textura do chocolate é única entre os diversos alimentos. Caracteriza-se por ser sólida, porém quebradiça em temperatura ambiente e por se fundir rápida e totalmente na boca. Os fatores que afetam a textura do chocolate são: a composição e o tipo de gordura; a etapa de pré-cristalização ou temperagem; o tamanho das partículas e a eficiência da etapa de conchagem. Considerando que todos os chocolates foram elaborados utilizando os mesmos processos e condições de fabricação e que seu teor de gordura foi padronizado, as diferenças observadas possivelmente resultam de diferenças na composição da manteiga de cacau de cada material.

Foi verificada estimativa negativa de correlação entre os resultados de viscosidade plástica de Casson e os teores de umidade ($r = -0,54$; $p \leq 0,002$), indicando que esse último fator afeta a viscosidade plástica do chocolate, conforme discutido anteriormente; e novamente correlação negativa entre a viscosidade plástica e o limite de escoamento de Casson ($r = -0,66$; $p \leq 0,0001$). De acordo com os resultados, para a maioria dos chocolates avaliados, quanto maiores os valores de limite de escoamento de Casson, que representa a força necessária para o chocolate iniciar seu escoamento, menor foi a viscosidade plástica de Casson, ou seja, a energia necessária para o chocolate continuar seu movimento. Nesse caso, a relação negativa é verificada quando não são utilizados emulsificantes que atuem

diretamente na redução do limite de escoamento, como, por exemplo, o poliricinoleato de poliglicerol (SHANTZ & ROHM, 2005). Com relação a esse aspecto, deve-se considerar que todos os chocolates foram formulados apenas com lecitina de soja, emulsificante que atua principalmente na redução da viscosidade plástica de Casson (CHEVALLEY, 1994). Verificou-se ainda correlação negativa entre a acidez total titulável e a umidade dos chocolates ($r = -0,51$; $p \leq 0,004$), o que era esperado, uma vez que, quanto menor o teor de umidade, maior a concentração de alguns compostos, inclusive os ácidos tituláveis. Como era esperado, o pH e a acidez titulável apresentaram alta estimativa de correlação negativa ($r = -0,73$; $p \leq 0,0001$).

3.2 Análise sensorial dos chocolates

3.2.1 Caracterização do grupo de consumidores

O perfil do grupo de consumidores de chocolate (18% homens e 82% mulheres) quanto à faixa etária e frequência de consumo de chocolate é apresentado na Figura 3 e a preferência em relação ao tipo de chocolate (ao leite, meio amargo, amargo, branco, outros) é apresentada na Figura 4.

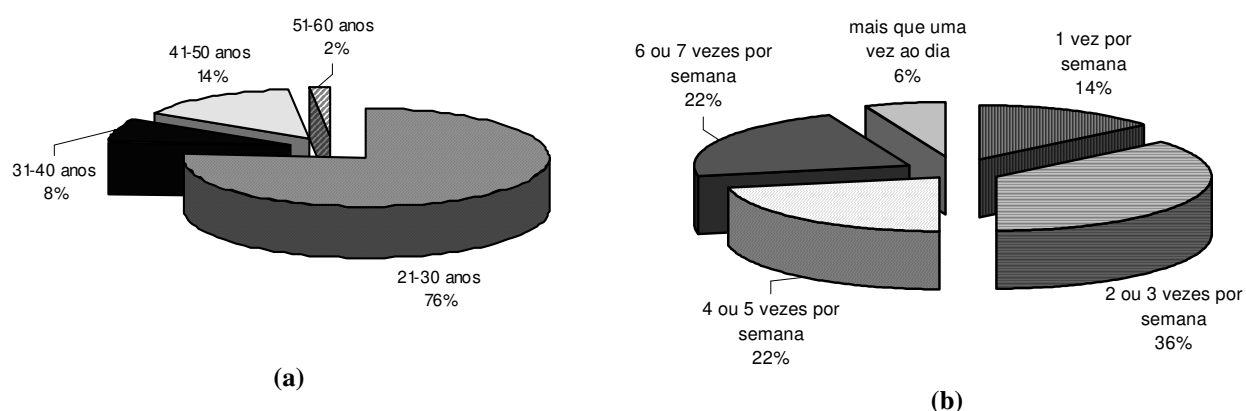


Figura 3. Faixa etária (a) e frequência de consumo de chocolate (b) do grupo de consumidores recrutado para avaliação das amostras de chocolate amargo

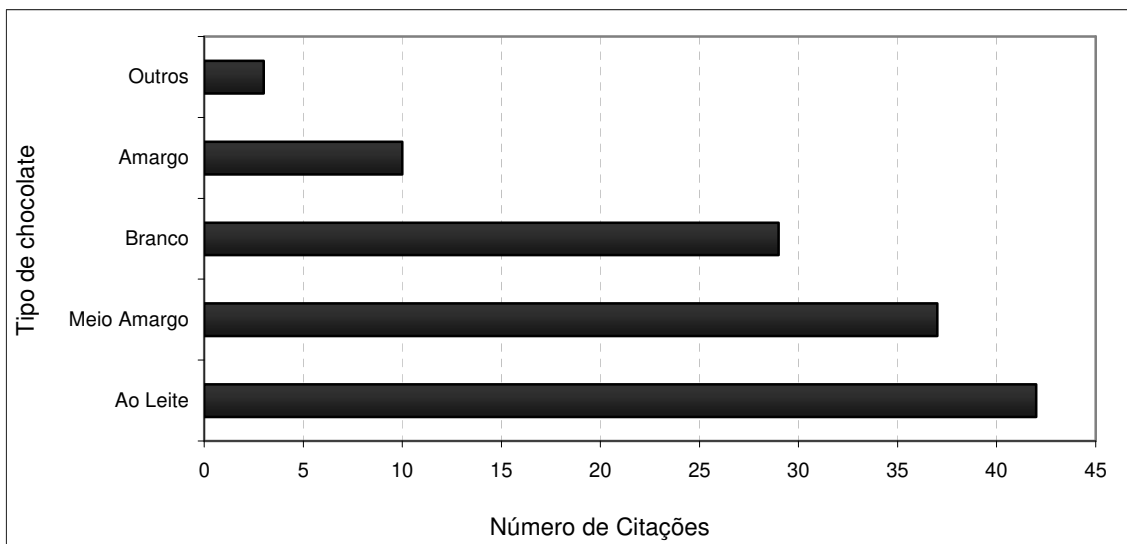


Figura 4. Tipos de chocolate preferidos pelo grupo de consumidores recrutado para avaliação das amostras de chocolate amargo de dez cultivares de cacau

A Tabela 3 apresenta a frequência das respostas dos provadores para os diferentes atributos avaliados na análise de aceitação sensorial. Para a construção da tabela, as notas dadas para cada atributo com valor superior a 4,0 foram computadas como “acima do ideal” considerado pelos provadores, bem como as notas abaixo de 4,0 foram computadas como “abaixo do ideal”.

Tabela 3. Frequência das notas dadas pelos provadores na avaliação de chocolate amargo de dez cultivares de cacau

		CEPEC 42	COMUM	EET 397	TSA 654	TSA 656	TSAN 792	TSH 1188	TSH 516	TSH 565	TSH 774
Aroma	Abaixo do ideal	22	28	26	26	22	20	28	28	24	22
	Ideal	62	50	50	62	58	66	60	50	64	66
	Acima do ideal	16	22	24	12	20	14	12	22	12	12
Quebra	Abaixo do ideal	2	0	4	2	0	2	4	4	2	4
	Ideal	54	58	60	62	66	42	60	78	68	68
	Acima do ideal	44	42	36	36	34	56	36	18	30	28
Derretimento	Abaixo do ideal	48	42	40	50	46	36	24	34	28	38
	Ideal	50	58	52	48	46	62	72	64	70	58
	Acima do ideal	2	0	8	2	8	2	4	2	2	4
Sabor	Abaixo do ideal	20	6	16	6	10	14	14	18	18	12
	Ideal	46	34	24	46	44	62	74	42	60	54
	Acima do ideal	34	60	60	48	46	24	12	40	22	34
Amargor	Abaixo do ideal	6	6	6	2	4	12	14	14	14	4
	Ideal	42	24	18	38	38	42	72	36	48	50
	Acima do ideal	52	70	76	60	58	46	14	50	38	46
Acidez	Abaixo do ideal	6	4	8	6	6	0	4	4	6	4
	Ideal	44	38	34	54	40	62	78	46	60	58
	Acima do ideal	50	58	58	40	54	38	18	50	34	38
Adstringência	Abaixo do ideal	4	2	4	2	2	2	8	4	4	0
	Ideal	44	44	20	34	34	52	72	52	54	58
	Acima do ideal	52	54	76	64	64	46	20	44	42	42

Avaliando-se os resultados da Tabela 3 de forma global, verifica-se que as amostras dos cultivares Comum, EET 397, TSA 654 e TSA 656 foram consideradas com sabor “acima do ideal” por mais de 46% dos provadores. Um elevado percentual de provadores também considerou as intensidades do amargor, da acidez e da adstringência dessas amostras elevadas. Com isso, pode-se sugerir que estes três atributos citados impactaram fortemente na avaliação do sabor das amostras, que foi considerado mais intenso, ou poder-se-ia dizer, mais agressivo do que o considerado ideal para os materiais Comum, EET 397, TSA 654 e TSA 656, sendo que todas essas amostras pertencem ao grupo de materiais descendentes de *Forasteros* com *Forasteros*.

Quanto ao aroma de chocolate, a frequência de respostas “abaixo” e “acima do ideal” variou de 12 a 28% e a frequência de respostas “ideal” variou de 50 a 66%. De uma forma geral, verificou-se certo equilíbrio entre a frequência de respostas considerando o aroma dos chocolates “abaixo” ou “acima” do ideal. Com relação a esse atributo, deve-se considerar que os consumidores de forma geral estão habituados ao consumo de chocolates adicionados de aromatizantes naturais ou artificiais, geralmente baunilha. Os chocolates produzidos neste estudo não foram adicionados de aromatizantes, buscando-se evitar que esse aditivo alimentar influenciasse nos resultados observados na avaliação sensorial.

Em relação à força necessária para a quebra dos chocolates, verificou-se que entre 96 e 100% das respostas consideraram esse atributo ideal ou acima do ideal para todos os materiais. Isso indica que a etapa de temperagem, que teve como objetivo a pré-cristalização controlada da manteiga de cacau presente nos chocolates na forma cristalina estável, foi realizada corretamente, permitindo a formação e posterior maturação de cristais estáveis durante o armazenamento dos chocolates previamente às análises sensorial e de textura instrumental. De acordo com a Figura 4, a maioria dos consumidores recrutados para a análise sensorial apreciam mais os chocolates dos tipos ao leite e meio amargo, sendo que o tipo ao leite é o mais consumido no Brasil atualmente, apesar do consumo de chocolates amargos e com alto teor de cacau estar aumentando (KLINKE, 2005). Verificou-se que 78% dos provadores consideraram a força necessária para a quebra do chocolate TSH 516 como ideal e, por outro lado, 56% dos provadores consideraram que a força necessária para a quebra do chocolate TSAN 792 esteve acima do ideal. Conforme discutido anteriormente, os resultados das análises do teor de gordura sólida realizadas na manteiga de cacau (Figura 6, Capítulo 3) indicaram maior teor de gordura sólida desse material a 25 °C (temperatura próxima à condição de armazenamento dos chocolates previamente à análise sensorial e de textura instrumental – de 23 °C e da temperatura durante mantida nas cabines em que foram realizadas as avaliações sensoriais) e em relação aos demais avaliados, o que poderia ser um indicativo de que sua dureza em temperatura ambiente é maior que a dos outros materiais avaliados, como TSH 774 e Comum. Porém,

essa mesma relação encontrada para TSAN 792 entre os resultados do teor de gordura sólida (Figura 6, Capítulo 3), a força necessária para a quebra avaliada sensorialmente (Tabelas 3 e 6) e a tensão de ruptura avaliada de forma instrumental (Tabela 2) não se confirmou para os materiais TSH 774 e Comum.

Em relação ao atributo derretimento, verificou-se que mais de 92% das respostas consideraram os chocolates produzidos com derretimento ideal ou abaixo do ideal. Um derretimento abaixo do ideal indica que os chocolates demoraram mais tempo para se derreter ao serem consumidos em relação ao considerado ideal pelos provadores. Os chocolates TSH 1188 e TSH 565 apresentaram, respectivamente, 72 e 70% de respostas considerando seu derretimento ideal. Cepec 42, TSA 654 e TSA 656 apresentaram praticamente a mesma porcentagem de respostas que considerou o derretimento dos chocolates “abaixo do ideal” e “ideal”, indicando que os provadores perceberam maior dificuldade de derretimento para essas amostras. Avaliando-se os resultados apresentados na Tabela 8, Capítulo 3, que apresenta a diferença entre o teor de gordura sólida a 25 e a 35 °C (ΔS 25-35°C), o que, segundo Leissner *et al.* (1993) e Luccas (2001), representa o perfil de fusão da manteiga de cacau ao ser consumida, verifica-se que os materiais com menores valores de ΔS 25-35°C (TSH 774 e Comum, de acordo com a Tabela 8 – Capítulo 3), cujos chocolates deveriam apresentar sensorialmente maior dificuldade de derretimento, na análise realizada, apresentaram 58% de respostas considerando seu derretimento ideal. Por outro lado, materiais como TSAN 792 e TSH 1188 que apresentaram valores de ΔS 25-35°C, respectivamente, de 48,3 e 46,0 (Tabela 8 – Capítulo 3), deveriam apresentar melhor derretimento que as amostras anteriores, o que de fato foi verificado, principalmente para o chocolate TSH 1188, que teve seu derretimento avaliado como “ideal” por 72% dos provadores, seguido de TSH 565; TSH 516 e TSAN 792, respectivamente com 70, 64 e 62% das respostas considerando seu derretimento ideal.

Em relação à frequência das respostas dos provadores para o atributo “sabor de chocolate”, destacaram-se principalmente TSH 1188, com 74% de respostas considerando seu sabor “ideal” e EET 397 e Comum, com 60% das respostas considerando seu sabor

“mais intenso que o ideal”. O mesmo foi verificado para amargor e acidez, sendo que 72 e 78% das respostas consideraram o amargor e a acidez de TSH 1188 ideais e 70-76% e 58% dos provadores consideraram os chocolates mais amargos e mais ácidos que o ideal para EET 397 e Comum.

Mais de 91% das respostas consideraram os chocolates com adstringência entre ideal e acima do ideal, sendo que 76% dos provadores consideraram EET 397 com adstringência acima do ideal, em comparação com apenas 20% para TSH 1188.

Foi testada a correlação entre os resultados das análises físico-químicas (Tabelas 2 e 3) e os atributos avaliados sensorialmente utilizando o método de Pearson. Foi verificada baixa estimativa de correlação entre os dados, sendo que apenas o teor de nitrogênio total (teor de proteínas) apresentou coeficiente de correlação negativo em relação ao sabor ($r = -0,74$; $p \leq 0,01$) e ao amargor ($r = -0,62$; $p \leq 0,04$), indicando que quanto maior o teor de nitrogênio total, menores foram as notas dadas aos chocolates em relação ao sabor e ao amargor. Também foi verificada correlação negativa entre o pH e a acidez dos chocolates ($r = -0,62$; $p \leq 0,05$).

A Tabela 4 apresenta a diferença entre os chocolates para o conjunto das variáveis consideradas na avaliação sensorial, verificada por meio do valor de lambda de Wilks obtido na análise estatística multivariada (PROC–GLM / MANOVA - SAS®).

Tabela 4. Probabilidade de erro para a rejeição da hipótese nula (de igualdade) entre as amostras de chocolate dos materiais estudados com relação aos atributos sensoriais avaliados

	Cepec 42	Comum	EET 397	TSA 654	TSA 656	TSAN 792	TSH 1188	TSH 516	TSH 565	TSH 774
Cepec 42		ns	*	ns	ns	ns	**	ns	ns	ns
Comum			*	ns	ns	*	**	*	**	ns
EET 397				*	ns	**	**	**	**	**
TSA 654					ns	ns	**	ns	ns	ns
TSA 656						ns	**	ns	ns	ns
TSAN 792							ns	*	ns	ns
TSH 1188								*	ns	ns
TSH 516									ns	ns
TSH 565										ns
TSH 774										

Na Tabela, 'ns' indica que a diferença entre as amostras não foi significativa nos níveis avaliados; '*' e '**' indicam, respectivamente, que houve diferença estatística entre as amostras a 5 e 1% de significância

Nota-se que o chocolate EET 397 se diferenciou de todos os materiais estudados ao nível de 1 ou 5% de significância, exceto do chocolate TSA 656, que se diferenciou apenas do chocolate TSH 1188 ao nível de 5% de significância. Os chocolates Cepec 42 e TSA 654 se diferenciaram do EET 397 e de TSH 1188 e os chocolates TSH 565 e TSH 774 se diferenciaram apenas de EET 397. Pelos dados da Tabela 4, verifica-se que o chocolate produzido com cacau Comum se diferenciou do produzido com EET 397 e de todos os materiais descendentes de Trinitário (TSAN 792, TSH 516, TSH 565, TSH 774 e TSH 1188) com 1% de significância. Por outro lado, TSH 1188 se diferenciou de todos os materiais com origem pura do grupo *Forastero* (Cepec 42, Comum, EET 397, TSA 654 e TSA 656), e também de TSH 516.

Foi analisado, ainda, o contraste entre os seguintes grupos: grupo 1 = materiais descendentes do tipo *Forastero*: TSA 654, TSA 656 e CEPEC 42, EET 397; grupo 2 =

materiais descendentes dos tipos *Forastero* com Trinitário: TSH 516, TSH 565, TSH 774, TSH 1188 e TSAN 792 e grupo 3 = material do tipo Comum. Os resultados são apresentados na Tabela 5.

Tabela 5. Probabilidade de erro para a rejeição da hipótese nula (de igualdade) entre os grupos de chocolate avaliados

	Grupo 3	Grupo 1
Grupo 1	ns	
Grupo 2	**	**
Grupos 1 e 2	**	

Na Tabela, ‘ns’ indica que a diferença entre as amostras não foi significativa nos níveis avaliados e ‘**’ indica, que houve diferença estatística entre os grupos a 1% de significância. Ainda na Tabela, grupo 1 = materiais descendentes do tipo *Forastero*: TSA 654, TSA 656 e CEPEC 42, EET 397; grupo 2 = materiais descendentes dos tipos *Forastero* com Trinitário: TSH 516, TSH 565, TSH 774, TSH 1188 e TSAN 792 e grupo 3 = material do tipo Comum

De acordo com os dados apresentados na Tabela 5, os Grupos 1 e 3 não apresentaram diferença significativa em nível menor que 5% (o resultado foi de 8,61%), de forma que, sensorialmente, os provadores não diferenciaram claramente as amostras desses dois grupos. Torna-se importante considerar que ambos os Grupos 1 e 3 são descendentes apenas de materiais *Forasteros*. Por outro lado, o contraste entre o Grupo 2 e os Grupos 1 e 3 resultou, nos dois casos, em diferença significativa ao nível de 1%.

Os resultados apresentados nas Tabelas 4 e 5 indicam que um painel não treinado de consumidores foi capaz de diferenciar de forma conclusiva os materiais de acordo com sua ascendência genética, o que pode sugerir a possibilidade e o interesse pela produção e comercialização de chocolates monovarietais e, no caso atual do Brasil, talvez monoclonais. Os resultados também comprovam a possibilidade de ganho de qualidade, no melhoramento genético do cacau, com a inclusão de variedades Trinitárias e *Criollas* nos programas de cruzamento, associando resistência a doenças com outras características de interesse como a qualidade do produto.

Os resultados das médias das notas dadas pelos provadores na avaliação sensorial são apresentados na Tabela 6.

Tabela 6. Valores das médias e desvio padrão das notas dos provadores para os atributos sensoriais avaliados

Chocolate	Atributo Sensorial								Intenção de compra
	Aroma Chocolate	Força quebra	Derretimento	Sabor Chocolate	Amargor	Acidez	Adstringência	MODO GLOBAL	
Cepec 42	4,0 ± 1,0 ^a	4,5 ± 0,8 ^{abc}	3,5 ± 0,6 ^a	4,3 ± 1,1 ^{ab}	4,7 ± 1,1 ^{abc}	4,6 ± 0,9 ^{ab}	4,7 ± 0,9 ^{bc}	6,3 ± 1,8 ^{ab}	2,9 ± 1,2 ^b
Comum	4,0 ± 1,1 ^a	4,6 ± 0,9 ^{ab}	3,6 ± 0,5 ^a	4,8 ± 1,0 ^a	5,0 ± 1,0 ^{ab}	4,9 ± 1,0 ^a	4,8 ± 0,9 ^{ab}	6,2 ± 1,7 ^b	3,0 ± 1,2 ^{ab}
EET 397	3,9 ± 1,0 ^a	4,4 ± 0,7 ^{abc}	3,6 ± 0,8 ^a	4,8 ± 1,4 ^a	5,2 ± 1,2 ^a	4,9 ± 1,2 ^a	5,3 ± 1,1 ^a	4,9 ± 2,3 ^c	3,7 ± 1,3 ^a
TSH 516	4,0 ± 1,1 ^a	4,2 ± 0,6 ^c	3,6 ± 0,6 ^a	4,4 ± 1,0 ^{ab}	4,5 ± 1,1 ^{bcd}	4,6 ± 0,8 ^{ab}	4,6 ± 0,9 ^{bc}	6,4 ± 1,7 ^{ab}	2,9 ± 1,2 ^b
TSH 565	3,9 ± 0,8 ^a	4,3 ± 0,6 ^{abc}	3,7 ± 0,6 ^a	4,1 ± 0,8 ^b	4,3 ± 0,8 ^{cd}	4,3 ± 0,8 ^b	4,5 ± 0,8 ^{bc}	6,7 ± 1,5 ^{ab}	2,6 ± 1,0 ^{bc}
TSA 654	3,9 ± 0,8 ^a	4,4 ± 0,7 ^{abc}	3,4 ± 0,8 ^a	4,5 ± 0,8 ^{ab}	4,7 ± 0,7 ^{abc}	4,4 ± 0,7 ^{ab}	4,7 ± 0,7 ^{ab}	6,6 ± 1,4 ^{ab}	2,6 ± 1,1 ^{bc}
TSA 656	4,0 ± 1,0 ^a	4,4 ± 0,7 ^{abc}	3,6 ± 0,8 ^a	4,5 ± 1,0 ^{ab}	4,8 ± 1,0 ^{abc}	4,7 ± 0,8 ^{ab}	4,9 ± 0,9 ^{ab}	6,2 ± 1,8 ^b	2,9 ± 1,3 ^b
TSH 774	3,9 ± 0,6 ^a	4,2 ± 0,5 ^c	3,6 ± 0,6 ^a	4,4 ± 0,9 ^{ab}	4,6 ± 0,8 ^{bcd}	4,5 ± 0,9 ^{ab}	4,5 ± 0,7 ^{bc}	6,9 ± 1,6 ^{ab}	2,4 ± 1,2 ^{bc}
TSA 792	4,0 ± 0,7 ^a	4,7 ± 0,8 ^a	3,6 ± 0,7 ^a	4,2 ± 0,8 ^b	4,4 ± 0,9 ^{bcd}	4,4 ± 0,6 ^{ab}	4,5 ± 0,6 ^{bc}	6,7 ± 1,6 ^{ab}	2,6 ± 1,0 ^{bc}
TSH 188	3,8 ± 0,8 ^a	4,3 ± 0,7 ^{abc}	3,8 ± 0,6 ^a	3,9 ± 0,8 ^b	4,0 ± 0,8 ^d	4,2 ± 0,5 ^b	4,2 ± 0,7 ^c	7,3 ± 1,3 ^a	2,0 ± 0,9 ^c
D.M.S.*	0,6	0,4	0,4	0,6	0,6	0,5	0,5	1,1	0,7

*D.M.S.: Diferença mínima significativa ao nível de erro de 5% pelo Teste de Tukey

Valores de uma mesma coluna, com a mesma letra, não diferem significativamente entre si (Teste de Tukey a 5% de significância)

De acordo com os dados apresentados na Tabela 6, não foi verificada diferença ao nível de 5% de significância para as médias das notas dos provadores em relação aos atributos “aroma de chocolate” e “derretimento”. Com relação aos atributos “sabor de chocolate” e “acidez”, foi verificada diferença ao nível de 5% de significância para as amostras TSH 565 e TSH 1188 em relação a EET 397 e Comum, sendo que essas últimas apresentaram sabor de chocolate e acidez acima do considerado ideal pelos provadores, e as primeiras estiveram mais próximas do ideal para os atributos citados. As demais amostras não apresentaram diferença ao nível de 5% de significância. Com relação ao amargor, as amostras reunidas nos grupos 1 e 3 descritas anteriormente se diferenciaram de forma significativa das amostras do grupo 2. Em relação ao atributo “adstringência”, TSH 1188 apresentou o menor valor, e se diferenciou de todas as amostras do Grupos 1 e 3, com exceção de EET 397, além de sua média ter sido a mais próxima do valor considerado ideal, de 4,0. Na avaliação dos chocolates de modo global, EET 397 se diferenciou de todas as amostras, e foi o menos apreciado entre as demais. A maior média para este atributo foi de TSH 1188, que não apresentou diferença estatística ao nível de 5% de significância de todas as outras amostras reunidas no grupo 2.

A avaliação das médias para a intenção de compra dos chocolates mostrou que TSH 1188 apresentou a melhor resposta, com média correspondente, na escala utilizada, indicando que os provadores provavelmente comprariam esse produto caso estivesse a venda. Para este atributo, não foi verificada diferença ao nível de 5% de significância entre TSH 1188 e as demais amostras pertencentes ao grupo 2, com exceção de TSH 516. De uma forma geral, verificou-se que a intenção de compra e a avaliação dos chocolates de modo global foram influenciados e possivelmente determinados pelos atributos "amargor", "adstringência" e "acidez", bem como pelo atributo "sabor de chocolate".

Ainda de acordo com os resultados das Tabelas 3 e 6, verifica-se que os chocolates reunidos no grupo 1 e grupo 3 apresentaram frequência maior de notas que consideraram os atributos "amargor", "acidez" e "adstringência" acima do ideal, enquanto que, em relação a esses mesmos atributos, com exceção do "amargor" e incluindo "sabor de chocolate" os

chocolates do grupo 2 apresentaram frequência maior de notas que os consideraram "ideais".

De uma forma geral, verifica-se que a análise estatística univariada aplicada (ANOVA) e o teste de médias (Tukey a 5% de significância) complementaram a análise estatística multivariada, sendo que foi verificada a capacidade de uma equipe de provadores não treinada diferenciar características sensoriais dos chocolates possivelmente influenciadas pela ascendência genética dos cultivares estudados.

De acordo com LUNA *et al.* (2002), poucos estudos avaliaram detalhadamente a influência de genótipos de cacau aos atributos sensoriais. Estes mesmos autores, buscando relacionar o sabor do cacau e sua composição química com a origem genética de materiais do Equador, correlacionaram as características genéticas e químicas (ácidos orgânicos, açúcares, polifenóis e metilxantinas) com características sensoriais importantes como a adstringência, o amargor, a acidez, a intensidade de sabor de cacau e notas florais e frutais. Clapperton *et al.*, 1993; 1994), demonstraram a relação existente entre diferentes genótipos e sua composição química e atributos sensoriais como a adstringência, o amargor e a intensidade de sabor de cacau. Os autores encontraram relação entre o teor de polifenóis e a adstringência e a intensidade de aroma e sabor de cacau percebidos sensorialmente; bem como a quantidade de alcalóides e o amargor dos produtos avaliados. Conforme discutido anteriormente, tais correlações não foram verificadas neste estudo. De acordo com Burger (1992), as análises físico-químicas podem fornecer importantes informações sobre algumas características relevantes dos chocolates. Porém, estas análises não substituem a avaliação sensorial do chocolate, que ainda mostra-se como um importante instrumento da avaliação da qualidade do cacau.

4. CONCLUSÕES

- Os resultados físico, físico-químicos e sensoriais obtidos, mostraram que todos os cultivares podem ser utilizados industrialmente para fabricação de chocolates;
- Verificou-se que o teor de umidade e o tamanho máximo das partículas dos chocolates estavam de acordo com as faixas de valores recomendados pela literatura. Em relação ao pH e à acidez total titulável, as faixas variaram, respectivamente, entre 5,14 e 5,52 e entre 4,81 a 3,61, para o pH e a acidez total titulável dos chocolates Comum e TSH 1188. Em relação ao teor de nitrogênio total, o chocolate TSH 1188 apresentou maior valor (8,6%), e se diferenciou apenas de TSH 516, TSA 654, EET 397 e Comum. Deve-se destacar que as diferenças verificadas em relação às características físico-químicas dos chocolates (pH, acidez total titulável e teor de nitrogênio total), podem ter sido originadas não apenas por diferenças genéticas, como também nas etapas de fermentação, secagem e torração.
- Em relação às propriedades reológicas dos chocolates, a viscosidade plástica de Casson variou de 3,66 a 5,88 Pa.s e o limite de escoamento de Casson variou de 2,95 a 8,93 Pa. Considerando que os valores de tamanho máximo das partículas foram bem próximos entre os materiais estudados e que o teor de gordura foi padronizado durante o processo, as diferenças observadas nos parâmetros reológicos podem ter sido causadas pelas pequenas variações no teor de umidade, conforme demonstrou a análise de correlação, bem como influenciadas por características específicas de cada cultivar, na distribuição do tamanho das partículas dos chocolates ou pequenas variações na temperatura de análise;
- Em relação a tensão de ruptura, foram observadas associações entre os resultados das caracterizações realizadas na manteiga de cacau dos materiais estudados (Capítulo 3), a tensão de ruptura dos chocolates avaliada de forma instrumental e a resposta da avaliação sensorial para o atributo “força necessária para quebra do chocolate”,

principalmente para o chocolate TSAN 792, indicando que as características da manteiga de cacau tiveram grande influência nestes parâmetros para esta amostra;

- Verificou-se que a análise sensorial dos chocolates com equipe de provadores não treinados destacou, de forma consistente, as diferenças e semelhanças sensoriais relevantes entre os chocolates produzidos. As análises estatísticas univariada e multivariada possibilitaram destacar que, sensorialmente, os chocolates produzidos com materiais descendentes do grupo Trinitário (TSAN 792, TSH 516, TSH 565, TSH 774, TSH 1188) se diferenciaram dos materiais descendentes apenas do grupo *Forastero*, recebendo notas, nas avaliações e através da escala utilizada, mais próximas do ideal. Isso ilustra a preferência dos provadores e comprova a possibilidade de ganho de qualidade no melhoramento genético do cacau, com a inclusão de variedades Trinitário e *Criollo* nos programas de cruzamento, associando resistência a doenças com outras características de interesse como a qualidade do produto;

- Verificou-se que a aceitação global e a intenção de compra dos chocolates foram determinadas principalmente pelos atributos “adstringência”, “amargor”, “acidez” e “sabor de chocolate”.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABECIA-SORIA, L.A. **Estudo do valor nutritivo e da fração albumina dos extratos de proteína solúvel de amêndoas de cacau (*Theobroma cacao* L.)**. 127p. 1999. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1999.
- BECKETT, S. T. (1994). **Industrial Chocolate Manufacture and Use**, (2 ed.) London: Black Academic & Professional. 407p.
- BRITO, E.S.; NARAIN, N. Effect of pH and distillate volume on monitoring aroma quality of bittersweet chocolate. **Food Quality and Preference**. v. 14, p. 219–226, 2003.
- BRYSELBOUT, P.; FABRY, Y. (1995). **Guide technologique de la confiserie industrielle**. Tome 1. Paris: Sepaic. 250 p.
- BURGER, J. Sensory evaluation techniques for chocolate with types of cocoa butter products. **The Manufacturing Confectioner**, v. 72, n. 2, p. 56-60, 1992.
- CHEVALLEY, J. Chocolate flow properties. In: BECKETT, S.T. **Industrial Chocolate Manufacture and Use**, 2ed., p. 139-155. London: Black Academic & Professional, 1994.
- CLAPPERTON, J.F.; KEUNG, S.T.Y.; KEE, D.L.H.; LOCKWOOD, R. Genetic Variation of Cocoa Flavour. **Proceedings of 11th International Cocoa Research Conference**, Yamoussoukro, Côte D'Ivoire, p. 749-754, 1993.
- CLAPPERTON, J.F., YOW, S.T.K., CHAN, J., LIM, D.H.K., LOCKWOOD, G., ROMANCZYK, L.J. AND HAMMERSTONE, J.F. The contribution of genotype to cocoa (*Theobroma cacao* L.) flavour. **Tropical Agriculture (Trinidad)**, v. 71, p. 303-308, 1994.
- CROSS, E. Cocoa flavor development, **The Manufacturing Confectioner**, v. 79, n. 2, p. 70-77, 1999.
- DIMICK, P.S.; HOSKIN, J.M. Chemico-physical Aspects of Chocolate Processing – A Review. **Journal of Canadian Institute of Food Science and Technology**. v. 14, n. 4, p. 269-282.1981.
- DOWNES, F.P.; ITO, K. (ed.) 2001. **Compendium of methods for microbiological examination of foods**, 4ed. American Public Association, Washington, D.C.
- FUJII, F. 9º Anuário do Setor de Chocolates, Candies e Biscoitos. **Doce Revista**, n.159, p. 8-53, 2007.

- HANCOCK, B.L.; FOWLER, M.S. Cocoa bean production and transport. In: BECKETT, S.T. **Industrial Chocolate Manufacture and Use**, 2ed. London: Black Academic & Professional, 1994, p. 8-25.
- HARZER, G. Nutritional Aspects of Chocolate. **The Manufacturing Confectioner**, v. 79, n. 2, p. 60-63, 1999.
- HORWITZ, W ed. **AOAC Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists**, 18ed., 2005.
- HOSKIN, J.M.; DIMICK, P.S. Volatile fatty acid changes during the conching of chocolate. **Proceedings of the 33rd PMCA Production Conference**, p. 23-32. 1979
- INTERNATIONAL OFFICE OF COCOA, CHOCOLATE AND SUGAR CONFECTIONER (IOCCSC). Viscosité du chocolat: Determinacion de la limite d'e coulement et de viscosité plastique de casson. **Rev. Int. Choc. (RIC)** v. 28, p. 216–218, 1973.
- JINAP, S.; DIMICK, P.S.; HOLLENDER, R. Flavour evaluation of chocolate formulated from cocoa beans from different countries. **Food Control**. v. 74, n. 6, p. 105–110, 1995.
- KLINKE, A. **Autogratição, mármore e laços**. Valor on line, São Paulo, Abr. 2005. Disponível em <<http://www.valoronline.com.br/print.htm>> Acesso em 5 de julho de 2005.
- LEES, R.; JACKSON, B. B. **Sugar Confectionery and Chocolate Manufacture**. Great Britain: St. Edmundsbury Press Limited, 1992. 379 p.
- LEISSNER, R. *et al.* **Cocoa butter alternatives: handbook karlshamns oils & fats academy**. [s.l.]: [s.n.], 1993. 3v.
- LEY, D. Conching. In: BECKETT, S.T. **Industrial Chocolate Manufacture and Use**, 2ed. London: Black Academic & Professional, 1994. p. 117-138.
- LUCCAS, V. **Fracionamento térmico e obtenção de gorduras de cupuaçu alternativas a manteiga de cacau para uso na fabricação de chocolate**. 2001. 188p. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2001.
- LUNA, F.;CROUZILLAT, D.; CIROU, L.; BUCHELI, P. Chemical composition and flavor of Ecuadorian cocoa liquor. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 12, p. 3527-3532, 2002.

-
- MEILGAARD, M.; CIVILLE, G.V.; CARR, B.T. **Sensory Evaluation Techniques**. Florida, USA: CRC Press, Inc. 1988. 281 p.
- MOSKOWITZ, H.R. **Product testing and sensory evaluation of foods – Marketing and R&D approach**. Food & Nutrition Press Inc.: Connecticut, 1983. 605 p.
- PITT, J.I. & HOCKING, A.D. **Fungi and Spoilage**. London: Blackie Academic & Professional, 1997. 593p.
- SAS INSTITUTE INC. **SAS/STAT User's Guide**. Release. Cary, NC: SAS Institute Inc, 1028p., 1993.
- SCHANTZ, B.; ROHM, H. Influence of lecithin-PGPR blends on the rheological properties of chocolate. **Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie**, London, v.38, p.41-45, 2005.
- TALBOT, G. Chocolate Temper. In: BECKETT, S.T. **Industrial Chocolate Manufacture and Use**, 2ed. London: Black Academic & Professional, 1994. p. 156-166.
- 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.
- VOLTZ, M. & BECKETT, S.T. Sensory of chocolate. **The Manufacturing Confectioner**, v. 77, n.2, p. 49-53, 1997.

CAPÍTULO 5

AVALIAÇÃO DOS NÍVEIS ACEITÁVEIS DE SEMENTES DE CACAU DANIFICADAS COM A VASSOURA-DE-BRUXA VISANDO O APROVEITAMENTO INDUSTRIAL

1. INTRODUÇÃO

Desde o final da década de 80 o setor cacaueiro no Brasil, notadamente o Estado da Bahia, maior produtor nacional, vem sofrendo uma grave crise causada principalmente pela presença do fungo *Crinipellis perniciosa*, recentemente renomeado como *Moniliophthora perniciosa*, responsável pela doença denominada vassoura-de-bruxa.

A doença foi descrita pela primeira vez em 1895, após grandes danos em plantações costeiras do Suriname (WENT, 1904; STAHELL, 1915; citados por PEREIRA, 1996). Durante os trinta anos seguintes, a doença foi registrada em todas as regiões produtoras próximas à Bacia Amazônica, incluindo Amazônia brasileira, Colômbia, Peru e alguns dos mais importantes produtores do início do século: Equador (1º), Trinidad e Tobago (4º) e Venezuela (5º). As perdas foram enormes e, com a pressão da doença e emergência de outras áreas produtoras como Bahia e países Africanos, Equador, Trinidad e Venezuela perderam importância no mercado internacional (PIRES, 2003). Após quase um século, foi registrado um segundo ciclo de expansão do fungo, que atingiu o Panamá, em 1978, através da Colômbia, e a Bahia em 1989 (PEREIRA, 1996). No Brasil os danos foram semelhantes aos observados no primeiro ciclo de expansão, e a doença, em associação com baixos preços internacionais do cacau, câmbio desfavorável da moeda para o setor exportador e

um período de clima desfavorável à cultura, reduziu amplamente a produção da Bahia (PIRES, 2003) e afetou também a produção brasileira, já que esse Estado é o maior produtor nacional.

Segundo Gramacho *et al.* (1992), o fungo *Moniliophthora perniciosa* desenvolve seu ciclo de vida em dois estágios: o primeiro na forma parasítica, em tecidos novos e vivos do cacaueiro, causando inchamentos, superbrotações e anomalias nos frutos e almofadas florais (locais de lançamento de novas flores); e o segundo na forma saprofítica, em tecidos mortos devido ao parasitismo desenvolvido no primeiro estágio. De acordo com os mesmos autores, a colonização ocorre de forma rápida, iniciada em tecidos novos, em crescimento, de cujas células vivas o fungo obtém nutrientes, atuando de forma parasítica. Porém, quando o crescimento é detido, os nutrientes solúveis se tornam limitados, levando o fungo a invadir e matar tecidos, passando a obter os nutrientes a partir de enzimas degradativas dos tecidos mortos. Nessa fase, denominada saprofítica, verifica-se o aparecimento de basidiocarpos com a produção de esporos, que são os disseminadores da doença. De acordo com Solorzano (1977); Evans & Solorzano (1982); Rodrigues (1983); Lawrence *et al.* (1991) e Rocha & Wheeler (1985), citados por Oliveira & Luz (2005), os esporos são liberados preferencialmente durante a noite, com umidade relativa do ar entre 80 - 85% e temperatura entre 20 - 25 °C, uma vez que não suportam a exposição ao sol por período maior que 1 hora (GRAMACHO *et al.*, 1992).

A Figura 1 apresenta os principais sintomas verificados em cacaueiros contaminados pela vassoura-de-bruxa. Segundo Gramacho *et al.* (1992), o ataque nos ramos provoca o aumento de seu diâmetro (inchaço) e a proliferação de pequenos brotos próximos uns aos outros, nos quais são encontradas folhas grandes, curvadas e retorcidas. Nas almofadas florais infectadas, formam-se cachos de flores anormais, que originam frutos anormais que morrerão prematuramente. Os frutos infectados podem apresentar sintomas variados, dependendo do modo de infecção e de sua idade. Quando a infecção ocorre pela haste que suporta a flor (pedicelo), surgem frutos com forma característica de morango, que morrem prematuramente (Figura 1b). Porém, se a infecção ocorre

diretamente no fruto, em seu primeiro estágio de crescimento, este terá forma característica de cenoura (Figura 1b). Nos frutos jovens, desenvolvidos, o principal sintoma é o aparecimento de uma mancha negra, dura e irregular (Figura 1c), fazendo com que as sementes internamente ao fruto fiquem aderidas entre si (Figura 1d) (GRAMACHO *et al.*, 1992). De acordo com Oliveira e Luz (2005), os danos internos aos frutos são mais pronunciados que os da podridão-parda, com as sementes, na maioria das vezes, apresentando-se completamente danificadas.

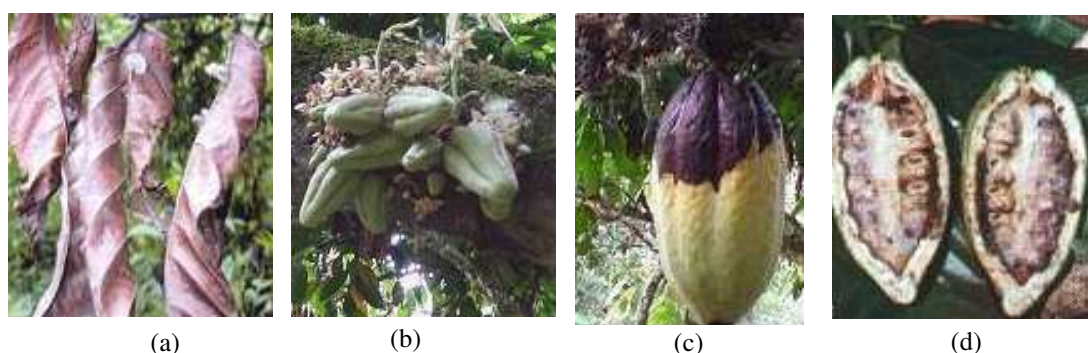


Figura 1. Sintomas verificados em cacaueiros contaminados pela vassoura-de-bruxa: (a) folhas retorcidas; (b) frutos com formato de “morango” ou “cenoura”; (c) frutos com mancha dura e escura; (d) sementes compactadas no interior do fruto

Fonte: PINTO & PIRES (1998)

Uma vez que o fungo tem apresentado alto poder de mutação, o setor cacaueiro na Bahia vem enfrentando enormes dificuldades para erradicar a doença. Desse modo, pesquisas sobre as bases genéticas de cultivares de cacau resistentes e sobre o fungo e de produtos químicos ou elementos biológicos que atuem contra a doença, vêm sendo realizadas de forma paralela visando a melhoria da situação atual da cacaucultura brasileira (PIRES, 2003; OLIVEIRA & LUZ, 2005; SCARPARI *et al.*, 2005).

Com relação à produção mundial de cacau, de acordo com Fujii (2007), verificou-se, na safra 2006/2007, uma queda de aproximadamente 9% em relação a safra 2005/2006. Nesse mesmo período, o Estado da Bahia, maior produtor nacional, apresentou uma queda de aproximadamente 28% em sua produção. Com isso, a demanda por amêndoas de cacau fermentadas e secas pelas indústrias processadoras de cacau, concentradas principalmente

nesse Estado, em conjunto com a situação de endividamento na qual se encontram os produtores de cacau, tem levado-os a utilizarem de 30 a 50% de sementes danificadas pelo fungo da vassoura-de-bruxa misturadas a sementes sadias na etapa de fermentação a fim de evitar maiores prejuízos econômicos. Porém, são escassos trabalhos científicos que tenham reportado modificações verificadas em sementes de cacau danificadas pelo fungo causador da vassoura-de-bruxa, bem como os efeitos de sua utilização na fermentação e nos produtos obtidos. Grande parte dos estudos avaliaram as alterações causadas pelo fungo em *Theobroma cacao* L., nos tecidos de plantas infectadas.

Chaves & Gianfagna (2007) em um recente estudo, verificaram que a infecção de folhas de cacau pelo fungo da vassoura-de-bruxa induz à síntese de monômeros e oligômeros de procianidinas na folhas infectadas e nas folhas adjacentes não infectadas dos ramos novos. As procianidinas do cacau possuem efeito tóxico aos fungos, principalmente na germinação do basidiósporo e no tubo de elongação do germe do fungo (ANDEBRHAN *et al.*, 1995 e BROWNLEE *et al.*, 1990 citados por CHAVES & GIANFAGNA, 2007). Leal *et al.* (2007) citado por Chaves & Gianfagna (2007) encontraram genes que estão associados com a resistência à doença, incluindo o gene de síntese de cafeína e outros relacionados com a biosíntese de procianidinas. Scarpari *et al.* (2005) avaliaram os teores de açúcares solúveis, aminoácidos, metilxantinas, etileno, compostos fenólicos, inclusive da classe dos flavonóides, glicerol e ácidos graxos em folhas de cacau durante a infecção e o desenvolvimento da vassoura-de-bruxa. De acordo com os autores, os teores de etileno e de proantocianidinas aumentaram com o desenvolvimento da doença e diminuíram após a morte dos tecidos infectados. Verificou-se ainda modificação dos ácidos graxos, com o aumento dos teores de ácido palmítico em detrimento de oléico. Aneja & Gianfagna (2001) verificaram que o teor de cafeína de plantas de cacau infectadas com o fungo mostrou-se 7 a 8 vezes maior em relação ao de plantas não infectadas, e que a infecção dos tecidos das plantas pelo fungo pode gerar mecanismos bioquímicos de defesa, evidenciados pelo aumento dos níveis de metilxantinas e de compostos fenólicos. Omokolo Ndoumou *et al.* (1996) avaliaram frutos e sementes de três clones de cacau durante sua infecção pelo fungo *Phytophthora megakarya* e verificaram maiores teores de compostos fenólicos,

especialmente da classe dos flavonóides (flavonols) e ácidos hidrocínâmicos. Os teores de aminoácidos também aumentaram com o decorrer da infecção. Tal patógeno só ocorre, atualmente, na África, sendo a forma morfológica denominada *Phytophthora palmivora*, uma das causadoras da doença conhecida no Brasil como podridão parda, encontrada em todos os países produtores de cacau do mundo (DANTAS NETO *et al.*, 2005; OLIVEIRA & LUZ, 2005).

Almeida (1987) estudou a sobrevivência de *Moniliophthora perniciosa* durante a fermentação de cacau, uma vez que já naquela época o autor cita o uso de sementes danificadas pelo fungo em misturas com sementes sadias durante a fermentação de cacau na região amazônica brasileira, onde a doença é endêmica. Foram utilizadas sementes com polpa extraídas de 200 frutos sadios e de 20 frutos infectados com a vassoura-de-bruxa, totalizando 22 Kg de sementes com polpa, além de pedaços de casca e placenta dos frutos infectados, dada a dificuldade de separar as sementes com polpa do fruto e da placenta neste estágio da doença. Também foram colocadas vinte vassouras em fase de produção de basidiocarpos. Segundo o autor, o fungo não esteve em estado viável durante toda a fermentação, dadas as condições de temperatura e pH do meio, além da competição com outros microrganismos. O fungo, nas vassouras colocadas, não foi eliminado durante o processo de fermentação, tendo produzido basidiocarpos quando estas vassouras foram colocadas em meio adequado.

Uma vez que verifica-se atualmente, na maior região produtora de cacau do Brasil, o uso, em diferentes proporções, de sementes danificadas pelo fungo da vassoura-de-bruxa em misturas com sementes sadias na etapa de fermentação e dada a escassez de trabalhos científicos nesse sentido, o objetivo deste estudo foi avaliar a influência da utilização de sementes danificadas pela vassoura-de-bruxa na obtenção e nas características microbiológica, física, química e físico-química de produtos derivados (massa ou *liquor*, manteiga e pó de cacau).

2. MATERIAL E MÉTODOS

Frutos de cacaueteiro do tipo Comum, danificados e não danificados pela vassoura-de-bruxa foram colhidos separadamente em Junho de 2007 em áreas do CEPEC/CEPLAC em Itabuna – BA. Os frutos danificados foram selecionados visualmente, pela presença de manchas escuras na casca, que caracterizam a doença na fase de infecção dos frutos durante o seu desenvolvimento/amadurecimento. A Figura 2 apresenta a característica dos frutos sadios e dos frutos com manchas escuras indicativas da infecção com a vassoura-de-bruxa.

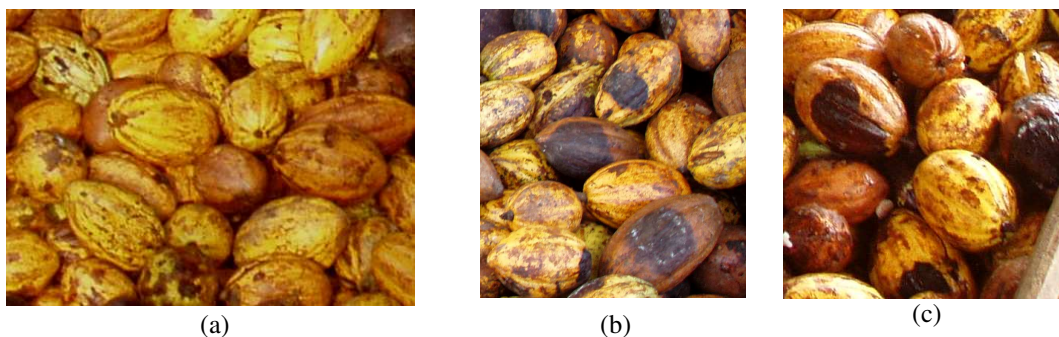


Figura 2. Frutos sadios (a) e frutos desenvolvidos infectados pela vassoura-de-bruxa (b e c)

2.1 Processamento

A Figura 3 apresenta o fluxograma do processamento do cacau desde a colheita dos frutos até a obtenção de *liquor*, manteiga e pó de cacau.

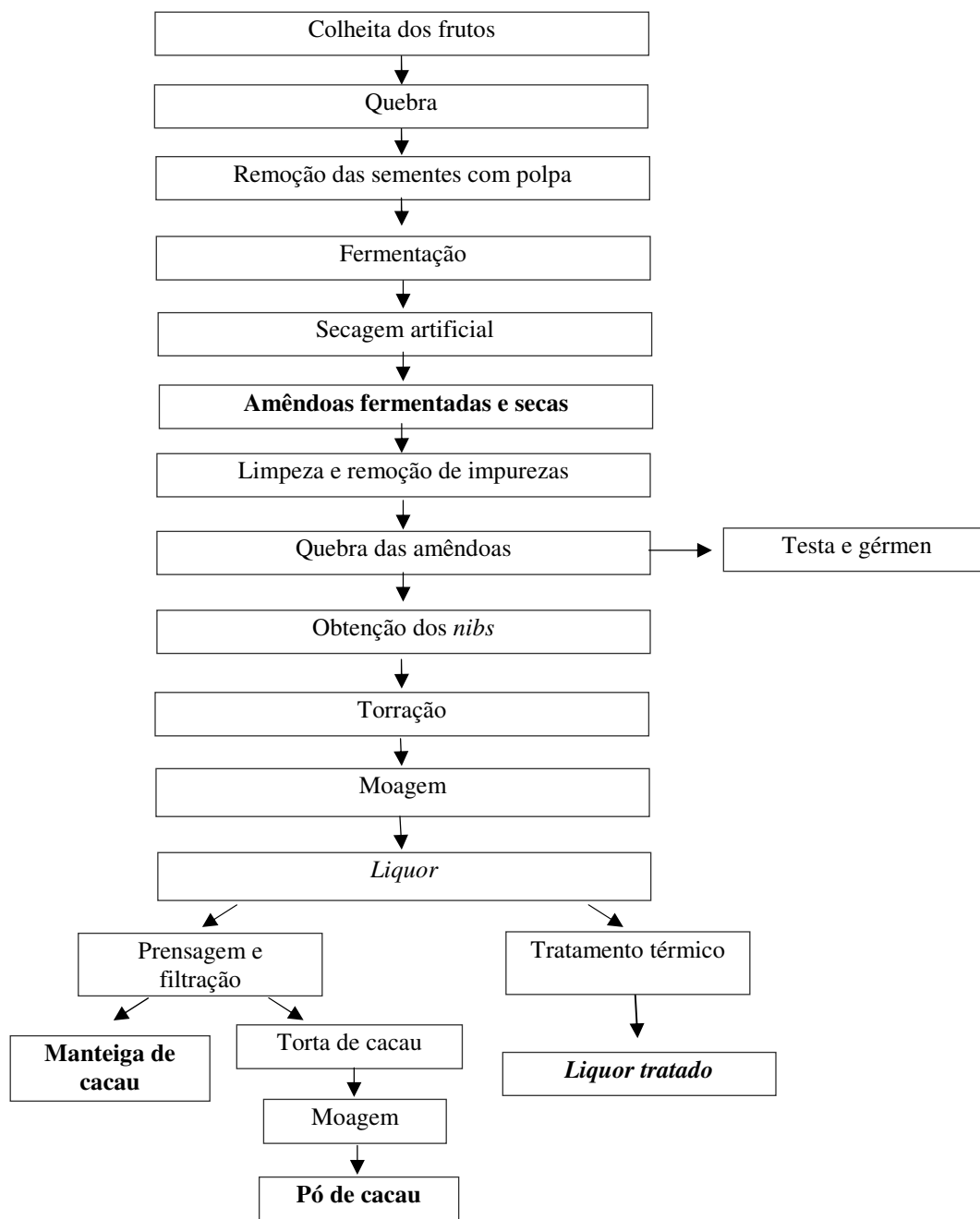


Figura 3. Fluxograma de processamento do cacau para obtenção de *liquor*, manteiga e pó de cacau.

A quebra dos frutos foi realizada após 24 h da colheita. As sementes com polpa foram removidas e colocadas em recipientes plásticos para homogeneização. Uma parte das sementes danificadas e não danificadas pela vassoura-de-bruxa foi congelada a -20°C , e

utilizada para análise dos teores de açúcares, ácidos orgânicos e da fração volátil e outra parte foi liofilizada em um liofilizador Boc Edwards modelo Super Modulayo RV12, para a determinação do teor de compostos fenólicos totais.

Foram preparados 4 lotes de sementes com polpa para a fermentação: o primeiro com 100% de sementes de frutos sadios; o segundo com 30% de sementes danificadas pela vassoura-de-bruxa; o terceiro com 50% de sementes danificadas pela vassoura-de-bruxa; e o quarto com 100% de sementes danificadas pela vassoura-de-bruxa. As fermentações foram realizadas em duplicata em caixas de isopor com capacidade para 5 L com orifícios no fundo para permitir o escoamento da polpa liquefeita, sendo a massa em cada caixa de 4,0 Kg. A partir de 48 h do início da fermentação e a cada 24 h foram feitos revolvimentos para oxigenação e homogeneização das sementes.

Ao início da fermentação, determinou-se o teor de sólidos solúveis da polpa (°Brix) envolta às sementes de cada material. Foram tomadas, diariamente, medidas de temperatura e pH da massa em fermentação na altura mediana das caixas, tanto no centro como nas extremidades. O término da fermentação foi determinado de acordo com a temperatura e o pH medidos durante a etapa.

A secagem das amêndoas foi realizada em estufa com circulação de ar a 35 °C durante 3 dias até umidade de 6,0 a 8,0% (BRASIL, 1988). As amêndoas fermentadas e secas foram quebradas em fragmentos em um moinho de facas RIETZ, os quais foram separados de acordo com a granulometria utilizando um conjunto de peneiras vibratórias REOTEST com abertura de 4,76 e 2,38 mm. Os *nibs* foram obtidos por diferença de densidade, após remoção da testa (casca que envolve os cotilédones) e do gérmen, com o auxílio de uma coluna de ar de fabricação própria.

Os *nibs* foram torrados em forno elétrico rotativo PROBAT, tipo TP2, fixando-se a temperatura em 140 °C na camisa, durante 38 minutos, de acordo com as condições otimizadas encontradas por Gilabert-Escrivá (1997). Em seguida, os *nibs* foram triturados

em liquidificador WALITA e refinados em moinho de cilindros, DRAISWERKE GMBH, composto por 3 cilindros horizontais de aço inoxidável encamisados e resfriados com água, até granulometria média de 25 μ m para a obtenção das massas de cacau. O tamanho máximo das partículas foi medido em micrômetro digital MITUTOYO com escala 0 – 25 mm, de acordo com Efraim (2004). Os *liquors* refinados foram tratados termicamente em miniconcha, FRIWESSA, modelo PPC, com capacidade para 1 kg, a 70 °C por 3 horas, sendo obtidas, ao final deste processo, massas refinadas com consistência pastosa.

Parte do *liquor* foi prensada para a obtenção de manteiga e torta de cacau em prensa hidráulica manual CARVER, modelo C, com capacidade máxima de 9 toneladas. O tempo total da prensagem foi de 30 min, sendo 5 min a 3 t, 15 min a 6 t e 10 min a 9 t. Após a separação da manteiga de cacau, a torta resultante foi moída em miniprocessador BLACK & DECKER, modelo HC31 para a obtenção do pó de cacau.

2.2 Caracterização dos produtos obtidos

2.2.1 Amêndoas fermentadas e secas

a. Determinações físicas: Foram avaliados: a massa de 100 amêndoas e o número de amêndoas em 100 g em balança semi-analítica GEHAKA, modelo BG 2000; a densidade aparente, através do deslocamento volumétrico de sementes do tipo colza em determinador de volume específico; a composição das frações das amêndoas (cotilédones, gérmenes e testa), através da separação manual com o auxílio de um canivete e pesagem de 100 amêndoas e prova de corte (*cut test*) que avaliou a qualidade em função do grau de fermentação através da coloração, (e) compartimentação dos cotilédones e da presença visual de fungos, insetos, e outros defeitos (BRASIL, 1988). Todas as determinações foram realizadas em triplicata em amêndoas fermentadas e secas coletadas ao acaso, por amostragem.

b. Microbiologia – Foram realizadas contagens de: *Salmonella*; *E. Coli*; bolores e leveduras; bolores termoresistentes; contagem total de mesófilos aeróbios e bactérias lácticas de acordo com Pitt & Hocking (1997) e Downes & Ito (2001).

2.2.2 Nibs não torrados

a. Determinações físico-químicas (realizadas em triplicata):

- teor de umidade, de acordo com o método 31.1.03 (HORWITZ, 2005), realizado em estufa com circulação de ar a 105 °C durante 12 h;
- pH e acidez total titulável, em pHmetro Tecnal modelo TE-2 de acordo, respectivamente, com os métodos 31.1.07 e 11.14.3, (HORWITZ, 2005);
- teor de proteínas (nitrogênio total), segundo o método Kjeldahl, 31.1.08 (HORWITZ, 2005).

b. Microbiologia: de acordo com o item 2.2.1 b.

2.2.3 Liquor

a. Determinações químicas e físico-químicas:

- teor de umidade: de acordo com o método 31.1.03 (HORWITZ, 2005), em equipamento Titroline Alpha marca Shott, modelo TZ1282;
- teores de lipídios totais e proteínas, pH e acidez titulável: de acordo com o item 2.2.2
- teor de metilxantinas (teobromina e cafeína): de acordo com Alves & Bragagnolo (2002);
- viscosidade plástica e limite de escoamento de Casson: de acordo com Gilabert-Escrivá (1997) adaptado de (IOCCSC, 1973), em reômetro programável digital marca BROOKFIELD, modelo RVDVIII+, dotado de adaptador para pequena quantidade de amostra (IOCCSC, 1973). Foi utilizado *spindle* #15, e temperatura de trabalho de 40°C, controlada por meio de banho termostatizado Brookfield, modelo TC 500. Os resultados foram expressos em Poise (P) para viscosidade plástica de Casson e em dyn/cm² para o limite de escoamento de Casson.

b. Microbiologia: foram realizadas as contagens apresentadas no item 2.2.1 b.

2.2.4 Pó de cacau

- #### *a. Determinações físico-químicas:* os teores de umidade, pH e acidez titulável, lipídios totais e proteínas foram determinados de acordo com o item 2.2.2 a;

b. *Determinação física da cor*: realizada com um colorímetro Minolta modelo Chroma Meter CR 300 e sistema de leitura CIELAB, normatizado pela *Commission Internationale d'Eclairage*, de acordo com o método de BISPO (1999), adaptado de WIAANT & LYNCH (1991) e TERINK & BRANBON (1982).

2.2.5 Manteiga de cacau

a. *Curva de sólidos*

A manteiga de cacau dos materiais foi caracterizada fisicamente por meio da determinação do teor de gordura sólida (Sólid Fat Content – SFC), de acordo com o método da AOCS (FIRESTONE, 1998) em um Espectrômetro de Ressonância Magnética Nuclear, Minispec Bruker pc120. A manteiga de cacau de cada material foi previamente submetida a um tratamento térmico sequencial que consistiu em: fusão da gordura a 100 °C; 15 min a 100 °C; 5 min a 60 °C; 90 ± 5 min a 0 °C; 40 ± 0,5 h a 26 °C; 90 ± 5 min a 0 °C. O teor de gordura sólida foi determinado nas temperaturas de 10; 20; 25; 30 e 35 °C.

b. *Composição em ácidos graxos*

A determinação foi realizada conforme o método oficial da AOCS (American Oil Chemist's Society) em cromatógrafo gasoso capilar (CGC AGILENT 6850 SERIES GC SYSTEM) com coluna capilar DB-23 AGILENT (50% cyanopropyl) – methylpolysiloxane de dimensões 60 m, Ø int: 0,25 mm, 0,25 µm filme. A operação foi realizada da seguinte forma: fluxo coluna = 1,00 mL/min; velocidade linear = 24 cm/s; temperatura do detector: 280 °C; temperatura do injetor: 250 °C; temperatura forno: 110 °C – 5 minutos, 110 – 215 °C (5°C/min), 215 °C – 24 minutos; gás de arraste: Hélio; volume injetado: 1,0 µL.

c. *Composição triacilglicerólica*

As determinações foram realizadas em cromatógrafo gasoso capilar – CGC, marca AGILENT 6850. Foi utilizada coluna capilar DB-17 HT - AGILENT CATALOG: 122-1811 (50% phenyl) – methylpolysiloxane, com as seguintes dimensões: 15 m de comprimento; 0,25 mm de diâmetro interno e filme de 0,15 µm. As condições de operação utilizadas foram: fluxo coluna = 1,00 mL/min; velocidade linear = 40 cm/s; temperatura do detector: 375 °C; temperatura do injetor: 360 °C; temperatura forno: 250 - 350°C (5

°C/min), 350°C / 20 min; gás de arraste: Hélio; volume injetado: 1,0 µL, *split* 1:50; concentração amostra: 10 mg/mL tetrahidrofurano.

2.3 Determinação do teor de compostos fenólicos totais

O teor de compostos fenólicos totais foi determinado nas sementes não fermentadas com e sem vassoura-de-bruxa (VB 100 e VB 0); *nibs* não torrados e *liquors* de acordo com o método de Efraim *et al.* (2006), adaptado de Amerine e Ough (sd), sendo que a absorbância foi mensurada em espectrofotômetro BECKMANN, modelo DU70 a 765 nm e a curva padrão foi feita com ácido tânico da marca Sigma.

2.4 Análise da fração volátil dos materiais estudados

A avaliação sensorial dos produtos obtidos a partir de misturas de sementes de cacau danificadas pela vassoura-de-bruxa seria de grande importância na avaliação dos níveis aceitáveis que poderiam ser utilizados na fermentação, para não causarem alterações indesejáveis no sabor característico. Porém, não há evidências científicas que comprovem que os danos causados pelo fungo da vassoura-de-bruxa nas sementes de cacau não sejam maléficos à saúde. Como forma alternativa de avaliação do possível impacto à qualidade sensorial, foi realizada a avaliação da fração volátil dos materiais estudados.

As determinações foram realizadas nas sementes não fermentadas, nos *nibs* não torrados e nos *liquors* utilizando a técnica de micro-extração em fase sólida (SPME). Para a extração dos compostos foram utilizados frascos de 5 mL e ímãs magnéticos, ambos em formato cônico. No frasco, foram pipetados 2 mL de solução saturada de NaCl (concentração de 35,3 g NaCl/100 mL água destilada) e pesados 400,0 mg da amostra. A amostra em solução saturada de NaCl foi mantida sob agitação a 1200 rpm, durante 15 min a 60 °C. Após 15 min de pré-equilíbrio, a fibra foi inserida no *headspace* criado no interior do frasco. Para otimizar a extração dos compostos de interesse, foram avaliados dois tipos de fibras: CARBOXEN e PDMS-DVB, sendo que a fibra CARBOXEN foi a que apresentou os melhores resultados, de acordo com testes preliminares. O tempo de extração (tempo de contato da fibra com o *headspace*) foi de 45 min. Após esse tempo, a fibra foi recolhida do frasco e colocada no injetor do cromatógrafo gasoso acoplado a um detector

de massas permanecendo durante 4 min em contato com o gás de arraste. As análises foram realizadas em um sistema GC-MS marca HP, modelo HP5890/5970, equipado com uma coluna capilar de sílica fundida HP5-MS (5%-fenil-metilsiloxano, 30 m de comprimento x 0,25 mm de diâmetro interno x 0,25 mm de espessura de filme) e hélio (1 mL/min) como gás de arraste. As condições utilizadas foram baseadas no trabalho de Pini *et al.* (2005). O injetor operou no modo *splitless* e a temperatura do detector foi de 240 °C. A energia de impacto de elétrons do detector foi de 70 eV. A programação do forno foi: 10 min a 45 °C, aquecimento a 10 °C/min até 295 °C e permanecendo por 5 min.

Os compostos foram identificados utilizando a biblioteca de espectros de massa do NIST (*US National Institute of Standards and Technology*) de 1998, de acordo com os índices de retenção obtidos para os compostos de interesse. As pirazinas foram quantificadas de forma relativa por meio da área dos picos.

2.5 Teores de açúcares e ácidos orgânicos

A extração dos compostos foi realizada com água deionizada filtrada em membrana de 0,22 µm (Sistema MilliQ – Millipore). Foram avaliadas sementes não fermentadas e amêndoas fermentadas e secas sadias e danificadas pela vassoura-de-bruxa. A proporção sementes ou amêndoas e água foi de 10,00 g / 100,0 mL. A extração foi realizada de acordo com Figueiredo *et al.* (2006), sendo que as sementes ou amêndoas fermentadas e secas foram trituradas em um moinho analítico IKA – Universal Mill, pesadas e misturadas com água. Em seguida foi realizada agitação durante 3 minutos em um agitador tipo vortex. Os extratos obtidos foram filtrados com membranas de 0,8; 0,45 e 0,22 µm. Os compostos de interesse foram monitorados por espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN de ¹H), em um equipamento Inova Varian 500 MHz. Para as determinações, o sinal da água foi eliminado por pré-saturação de 1,5 s. A quantificação foi feita com padrão interno (TPSA).

2.6 Análises Estatísticas

Os dados obtidos foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA) e ao teste de Tukey para determinação da diferença significativa entre as médias utilizando-se o software SAS (Statistical Analysis System) (SAS®,1993).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Evolução do processo de fermentação

Na Figura 4 são apresentadas as sementes de cacau com polpa com diferentes proporções de material danificado com a vassoura-de-bruxa após 24 h do início do processo fermentativo.

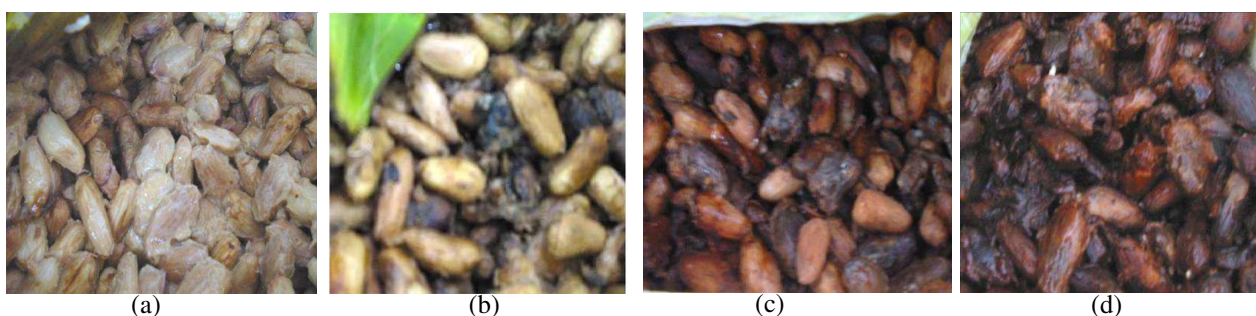


Figura 4. Sementes de cacau sadias, danificadas pela vassoura-de-bruxa e misturas de ambas no início da fermentação

Na Figura (a) 0%, (b) 30%, (c) 50% e (d) 100% de sementes danificadas pelo fungo

Verifica-se uma grande diferença na coloração externa das sementes, que visualmente estavam mais escuras conforme o aumento do teor de sementes com vassoura-de-bruxa. As sementes de cacau, no interior dos frutos, normalmente estão envolvidas pela polpa, que de uma forma geral possui cor branca a levemente rosada, (LAJUS, 1982). Durante as fermentações verificou-se menor volume da polpa drenada para os materiais com 30, 50 e 100% de sementes danificadas (pela vassoura-de-bruxa), correspondendo, em média a, respectivamente, 72,0; 40,1 e 10,2% do volume drenado na fermentação normal.

Um teor menor de polpa no início do processo de fermentação pode interferir na evolução desta etapa, prejudicando as reações físicas, químicas e enzimáticas que originarão compostos responsáveis pela cor, aroma e sabor, característicos e desejáveis. A composição da polpa também é relevante, sendo que os açúcares presentes são substrato de leveduras que se desenvolvem no início da fermentação (LOPEZ, 1979 citado por

SOARES, 2001). De acordo com Hardy (1960) citado por Thompson *et al.* (2001) e com Minifie (1989), a polpa de cacau é composta por, em média, 85% de água, 2,7% de pentosanas, 0,7% de sacarose, 10% dos monossacarídeos glicose e frutose, 0,6% de proteínas, 0,7% de ácidos e 0,8% de sais inorgânicos. De acordo com Rombouts (1953), citado por Thompson *et al.* (2001), a composição da polpa é influenciada pelo grau de maturação dos frutos, além da variedade do cacau, condições de clima, solo, período de colheita, entre outros.

As médias das leituras de temperatura e pH tomadas em intervalos de 24 h em triplicata encontram-se nas Figuras 5 e 6, respectivamente.

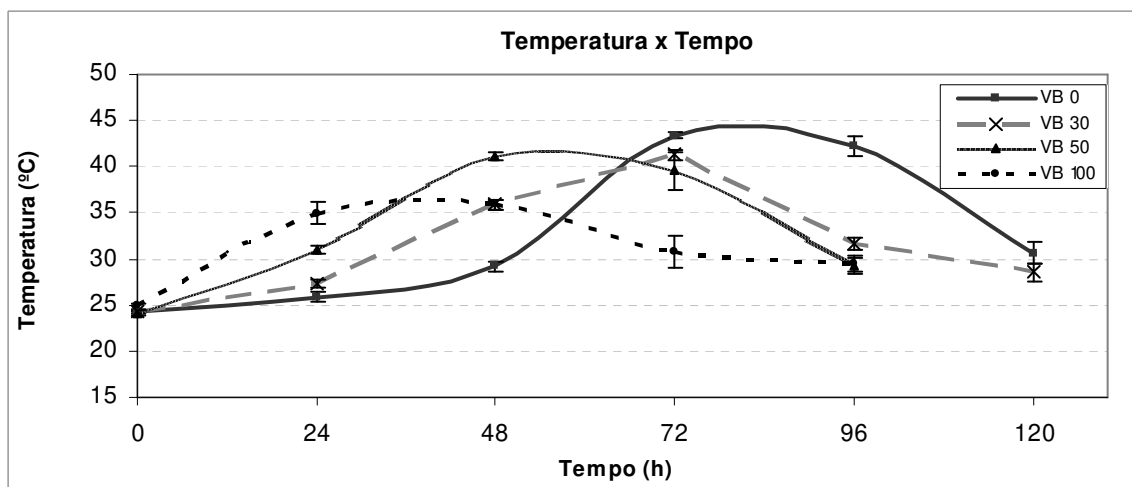


Figura 5. Controle da temperatura durante a fermentação de misturas de sementes de cacau danificadas pela vassoura-de-bruxa com sementes sadias

Na Figura, VB 0, VB 30, VB 50 e VB 100 correspondem, respectivamente, às amostras com 0, 30, 50 e 100% de sementes danificadas pelo fungo da vassoura-de-bruxa

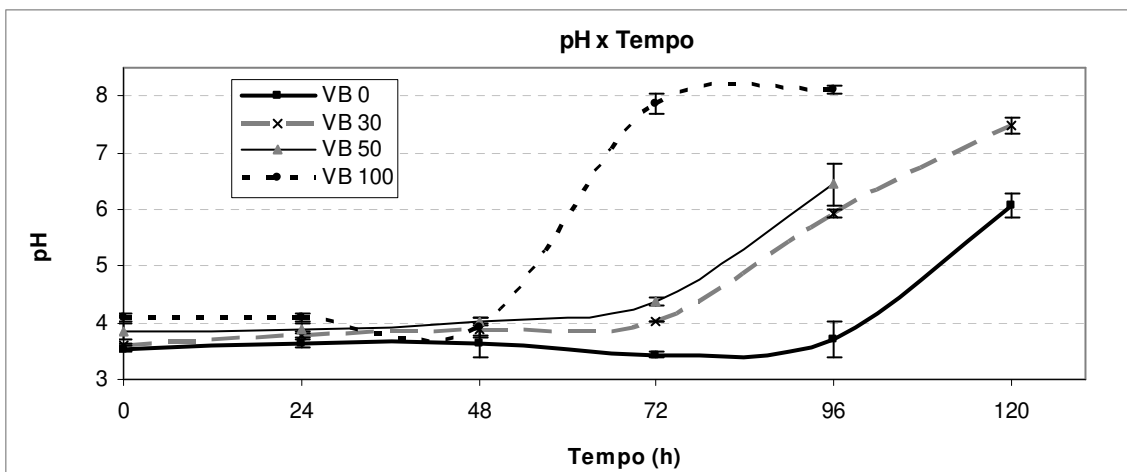


Figura 6. Controle do pH durante a fermentação de misturas de sementes de cacau danificadas pela vassoura-de-bruxa com sementes sadias

Na Figura, VB 0, VB 30, VB 50 e VB 100 correspondem, respectivamente, às amostras com 0, 30, 50 e 100% de sementes danificadas pelo fungo da vassoura-de-bruxa

De acordo com a Figura 6, no início da fermentação, as sementes sadias (VB 0) apresentaram o menor valor de pH (3,6 aproximadamente), seguido das outras amostras conforme o aumento da proporção de sementes danificadas, sendo o pH do material contendo 100% de sementes danificadas (VB 100) próximo de 4,1. Em sementes de cacau sadias, a elevada acidez verificada inicialmente é dada pela polpa e pela importante presença do ácido cítrico associadas ao baixo nível de oxigênio da fase inicial da fermentação (SCHWAN & WHEALS, 2004). Dado o baixo teor de polpa das sementes danificadas pela vassoura-de-bruxa, era esperado que quanto maior o teor dessas sementes danificadas, maior seria o pH da massa em fermentação. De acordo com a Figura 4, notou-se que, após 24 h do início da fermentação, a temperatura do material VB 100 mostrou-se 40% maior que a do material normal (VB 0) e do material com 30% de sementes danificadas (VB 30). Dessa forma, é provável que a fermentação dos materiais com 50 e 100% de sementes danificadas tenha ocorrido de forma distinta daquela dos materiais com 30 e 0% de sementes danificadas. Durante a fermentação, verificou-se similaridades na evolução da temperatura da massa em fermentação dos materiais VB 0 e VB 30, sendo que

a faixa máxima de temperatura (40 - 45 °C) foi atingida após 72 h. Esses dados estão de acordo com ZAMALLOA (1994), em estudos realizados com sementes sadias.

O término das fermentações foi determinado pelos dados de temperatura e pH, ou seja, pela queda brusca da temperatura e aumento do pH, buscando-se evitar o desenvolvimento de microrganismos maléficos à saúde humana. Desse modo, as amostras VB 50 e VB 100 atingiram sua temperatura máxima antes das 72 horas, e, em seguida, apresentaram uma diminuição drástica, sendo que a fermentação foi interrompida em 96 horas (4 dias), tempo inferior ao considerado ideal para sementes de cacau do tipo utilizado (*Forastero*), em geral de 5 a 7 dias (LAJUS, 1982). As amostras VB 0 e VB 30 tiveram a fermentação interrompida em 120 horas (5 dias).

Os resultados indicam que o comportamento distinto observado nas fermentações das amostras avaliadas esteja associado à presença de sementes danificadas pela vassoura-de-bruxa, pois essas podem ter sofrido alterações no interior do fruto causadas pelos danos provocados pelo fungo (SCARPARI *et al.*, 2005; PEREIRA, 1996), ao reduzido teor de polpa das sementes e à composição distinta em açúcares e ácidos orgânicos das sementes com polpa danificadas e não danificadas ao início da fermentação. Isso pode ser observado na Tabela 1, onde são apresentados os resultados das determinações de açúcares e ácidos orgânicos realizadas nas sementes com polpa não fermentadas e nas amêndoas fermentadas e secas, sadias (VB 0) e danificadas pela vassoura-de-bruxa (VB 100).

Tabela 1. Teores de ácidos orgânicos e açúcares das sementes e amêndoas de cacau sadias e danificadas pela vassoura-de-bruxa não fermentadas

	Teores em base seca (mg / g)			
	Sementes não fermentadas		Amêndoas fermentadas e secas	
	Sadiaz	Danificadas	Sadiaz	Danificadas
Sacarose	1,52	nd	nd	nd
Glicose	24,26	nd	nd	nd
Frutose	26,16	nd	nd	nd
Ác. Acético	nd	3,14	2,43	0,72
Ác. Lático	nd	nd	0,21	0,51
Ác. Succínico	nd	2,59	0,13	0,08

* nd – não detectado

As sementes não fermentadas danificadas pela vassoura-de-bruxa apresentaram elevado teor de ácido acético e não foram detectados os açúcares sacarose, glicose e frutose. Em fermentações convencionais de cacau, o ácido acético é produzido na fase aeróbica da fermentação, iniciada após o primeiro revolvimento pela oxidação do etanol (formado na fase anaeróbica da fermentação) por bactérias acéticas. Com isso, os resultados observados na Tabela 1 confirmam que algumas das reações que ocorrem normalmente durante a fermentação do cacau ocorreram, para o material danificado pela vassoura-de-bruxa, no interior dos frutos, enquanto esses estavam no cacaueiro, contribuindo para o perfil de fermentação verificado (Figuras 5 e 6) e para os resultados da Tabela 1. Ainda na Tabela 1 verifica-se uma concentração de 2,594 mg/g de ácido succínico nas sementes danificadas pela vassoura-de-bruxa, enquanto nas sementes sadias não foi detectado este ácido. Não foi detectado ácido acético nas sementes não fermentadas sadias, enquanto que nas amêndoas fermentadas e secas sadias, verificou-se um teor deste ácido de 2,43 mg/g, indicando, como esperado, que foi formado durante a fermentação das sementes de cacau. Nas amêndoas fermentadas e secas danificadas pela vassoura-de-bruxa, verificou-se a perda dos ácidos acético e succínico e a produção de ácido lático.

3.2 Caracterização das amêndoas fermentadas e secas

3.2.1 Avaliação microbiológica

Os resultados da avaliação microbiológica dos *nibs* não torrados são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2. Avaliação microbiológica dos *nibs* não torrados, provenientes de diferentes proporções de sementes danificadas com vassoura-de-bruxa

Determinações	Amostra			
	VB 0	VB 30	VB 50	VB 100
<i>Salmonella</i> (em 25 g)	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
<i>E.coli</i> (NMP/g)*	< 3	< 3	< 3	1,0 x 10
Contagem de bolores (UFC/g)**	< 10 ²	< 10 ²	< 10 ²	< 10 ²
Contagem de leveduras (UFC/g)**	< 10 ²	2,7 x 10 ³	1,5 x 10 ⁴	9 x 10 ²
Contagem de bactérias lácticas (UFC/g)**	6,5 x 10 ⁶	3,7 x 10 ⁶	4,6 x 10 ⁶	1,1 x 10 ⁷
Contagem total de aeróbios mesófilos (UFC/g)**	3,6 x 10 ⁶	5,6 x 10 ⁷	3,3 x 10 ⁷	2,6 x 10 ⁷
Contagem de bolores termorresistentes (nº esporos/25 g)***	Ausentes	Ausentes	Ausentes	Ausentes

Na Tabela, VB 0, VB 30, VB 50 e VB 100 representam respectivamente materiais com 0, 30, 50 e 100% de sementes danificadas pelo fungo da vassoura-de-bruxa.

* Número Mais Provável por grama, ** Unidades Formadoras de Colônias por grama, *** Número de esporos em 25 g.

Os resultados da Tabela 2 mostram, para todas as amostras, ausência de *Salmonella sp.* e bolores termorresistentes, sendo esse último um resultado importante para o processamento de cacau, visto que esses microorganismos termorresistentes dificilmente seriam eliminados até a obtenção dos produtos de cacau (*liquor*, manteiga, pó de cacau e chocolate).

A contagem de bolores foi igual para todas as amostras. Entretanto, houve diferenças quanto à contagem de leveduras, bactérias lácticas e totais de aeróbios mesófilos. De acordo com CASCANTE *et al.* (1993), o desenvolvimento de microorganismos que utilizam a polpa como substrato provoca a elevação da temperatura da massa na fermentação, assim como mudanças de pH do meio, controlando, de forma natural, a predominância de um ou outro tipo de microorganismo. Essa microflora se desenvolve na seguinte sequência: leveduras, bactérias produtoras de ácido láctico, bactérias produtoras de ácido acético, bactérias esporulantes e fungos (SCHWAN *et al.*, 1990). Cabe ressaltar que não existem normas que regulamentem a contagem microbiológica de amêndoas de cacau.

3.2.2 Caracterização física

Na Figura 7 é apresentada a aparência externa das amêndoas de cacau fermentadas e secas com diferentes proporções de material danificado pela vassoura-de-bruxa.



Figura 7. Amêndoas de cacau fermentadas e secas com diferentes proporções de sementes danificadas pela vassoura-de-bruxa: (a) VB 0, (b) VB 30, (c) VB 50 e (d) VB100

Na avaliação visual das amêndoas são observadas diferenças na coloração externa de cada amostra (Figura 7), sendo VB 0 (amostra isenta de amêndoas danificadas) aquela com coloração mais clara. Conforme o aumento do teor de material danificado (30, 50 e 100%) a coloração externa mostrou-se mais escura e verifica-se a presença de fungos na testa das amêndoas.

Na Tabela 3 são apresentados os resultados referentes à caracterização física das amêndoas fermentadas e secas.

Tabela 3. Características físicas das amêndoas fermentadas e secas provenientes de diferentes proporções de sementes danificadas com vassoura-de-bruxa

Determinações*	Amostra				MDS**
	VB 0	VB 30	VB 50	VB 100	
Massa de 100 amêndoas (g)	101,20 ± 0,88 ^a	97,10 ± 0,44 ^b	97,96 ± 2,11 ^b	92,36 ± 0,69 ^c	3,18
Nº amêndoas/100 g	100 ± 2 ^c	103 ± 1 ^{cb}	102 ± 2 ^b	108 ± 0 ^a	3
Densidade aparente (g/cm³)	0,641 ± 0,000 ^a	0,599 ± 0,010 ^b	0,577 ± 0,010 ^c	0,532 ± 0,006 ^d	0,020
Composição em frações					
Testa (%)	14,52 ± 1,20 ^a	15,77 ± 1,44 ^a	16,09 ± 0,86 ^a	15,39 ± 0,26 ^a	2,72
Gérmen (%)	0,98 ± 0,05 ^a	0,87 ± 0,03 ^b	0,80 ± 0,01 ^b	0,61 ± 0,03 ^c	0,08
Cotilédone (%)	84,5 ± 1,16 ^a	83,36 ± 1,4 ^a	83,12 ± 0,86 ^a	84,01 ± 0,27 ^a	2,65

VB 0, VB 30, VB 50 e VB 100 representam a porcentagem que a amostra contém de sementes danificadas pelo fungo da vassoura-de-bruxa.

*Média ± desvio padrão; **Mínima diferença significativa. Valores de uma mesma linha com mesma letra não diferem significativamente ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey

De acordo com a Tabela 3, a massa de 100 amêndoas foi menor conforme o aumento na proporção de amêndoas danificadas pela vassoura-de-bruxa, sendo que não houve diferença significativa entre as amostras com 30 e 50% de sementes danificadas. Conseqüentemente, verificou-se um maior número de amêndoas em 100 gramas para a amostra com 100% de sementes danificadas (108 amêndoas). Isso significa que o tamanho das amêndoas desse material foi menor em comparação àquele isento de sementes danificadas. Quanto à densidade aparente, todas as amostras apresentaram-se significativamente diferentes entre si, sendo que, quanto maior o teor de sementes danificadas, menor a densidade aparente, confirmando-se a redução de tamanho possivelmente ocasionada pela contaminação.

Em relação à composição das frações, as amostras não apresentaram diferenças significativas quanto ao teor de testa (casca) e cotilédone, porém no percentual de gérmen, somente as amostras VB 30 e VB 50 não se diferenciaram entre si. Verificou-se que o percentual de gérmen diminuiu com o aumento da proporção de sementes danificadas.

3.2.3 Prova de corte (cut test)

Na Tabela 4 encontram-se os resultados da prova de corte das amostras estudadas.

As amostras foram avaliadas de acordo com a coloração dos cotilédones, expressando-se os resultados em porcentagem de amêndoas marrons, violetas com partes marrons, violetas e brancas, de acordo com o grau de fermentação (bem, parcialmente e mal fermentadas) através da verificação da compartimentação dos cotilédones e de acordo com os defeitos (ardósias, mofadas, achatadas e danificadas por insetos).

Tabela 4. Prova de corte das amêndoas secas provenientes da fermentação de misturas de sementes de cacau danificadas pela vassoura-de-bruxa com sementes sadias

Determinações		VB 0*	VB 30*	VB 50*	VB 100*	D.M.S**
Coloração	Marrom	16 ± 4 ^c	18 ± 5 ^c	35 ± 3 ^b	54 ± 8 ^a	14
	Marrom / Violáceo	42 ± 3 ^a	33 ± 5 ^{ab}	27 ± 3 ^b	26 ± 5 ^b	11
	Violáceo	37 ± 7 ^a	41 ± 5 ^a	33 ± 2 ^a	8 ± 3 ^b	12
	Branca	4 ± 1 ^a	6 ± 4 ^a	4 ± 1 ^a	6 ± 2 ^a	6
Fermentação	Bem fermentada	42 ± 1 ^c	41 ± 3 ^c	62 ± 1 ^b	88 ± 4 ^a	6
	Parcialmente fermentada	42 ± 2 ^a	39 ± 6 ^{ab}	31 ± 1 ^b	11 ± 4 ^c	10
	Mal fermentada	14 ± 2 ^a	16 ± 2 ^a	6 ± 2 ^b	1 ± 1 ^c	5
Defeitos	Ardósia	0 ^a	0 ^a	0 ^a	2 ± 2 ^a	3
	Mofada	0 ^b	1 ± 1 ^b	3 ± 3 ^b	12 ± 2 ^a	5
	Achatada	1 ± 1 ^a	0 ^a	2 ± 1 ^a	4 ± 3 ^a	4
	Danificadas por insetos	0	0	0	0	-

VB 0, VB 30, VB 50 e VB 100 representam a porcentagem que a amostra contém de sementes danificadas pelo fungo da vassoura-de-bruxa.

* Média ± desvio padrão; **Diferença mínima significativa. Valores de uma mesma linha com mesma letra não diferem significativamente ao nível de 5% de significância pelo Teste de Tukey

Em sementes não fermentadas, o tecido dos cotilédones é constituído por dois tipos de células: o primeiro no qual são armazenados os compostos fenólicos (taninos, catequinas, antocianinas e proantocianidinas) e metilxantinas (teobrominas e cafeína) e outro, de reserva, com amido, lipídios, proteínas e enzimas (BRAUDEAU, 1970). Durante a fermentação, com a morte do embrião, principalmente devido às elevadas temperaturas e à intensa formação de ácidos (HOSKIN & DIMICK, 1994), as paredes celulares são rompidas levando ao contato das substâncias que antes se encontravam separadas nos diferentes tipos de células, provocando uma série de reações bioquímicas importantes para a formação dos precursores de sabor do cacau. Com isso, após a etapa de secagem, a compartimentação e a coloração marrom típica, geralmente indicam que houve uma boa fermentação. Por outro lado, deve-se ressaltar que a totalidade de amêndoas fermentadas de coloração marrom em um lote, nem sempre é um indicativo de boa qualidade ou de fermentação bem conduzida, uma vez que amêndoas que ultrapassaram o tempo de

fermentação podem apresentar cotilédones com coloração marrom e intensa compartimentação, porém, essa sobre-fermentação provoca a perda de precursores desejáveis de sabor e a formação de compostos químicos que poderão prejudicar o sabor dos produtos obtidos (HANCOCK & FOWLER, 1994).

Verifica-se na Tabela 4 que a quantidade de amêndoas com coloração marrom foi maior conforme o aumento da proporção de amêndoas danificadas pela vassoura-de-bruxa, sendo que, conforme discutido anteriormente, este não necessariamente é um indicativo de que o grau de fermentação foi melhor quanto maior o teor de sementes danificadas. Mas os resultados sugerem diferenças nas reações ocorridas durante a fermentação dos materiais com maiores proporções de sementes danificadas pelo fungo (VB 50 e VB 100), conforme observa-se também na Figura 3, uma vez que a temperatura da massa em fermentação de VB 50 e 100 já estava mais alta nas 24 h iniciais da fermentação. Esse pode ser um indicativo de que a ruptura das membranas e algumas reações bioquímicas que ocorrem normalmente na fermentação já tenham se iniciado antes da quebra dos frutos danificados pela vassoura-de-bruxa.

De acordo com os resultados da prova de corte das amostras VB 0 e 30, ambas foram classificadas de forma similar, não apresentando diferenças significativas para parâmetros avaliados. É interessante ressaltar que a prova de corte é uma técnica utilizada na comercialização das amêndoas de cacau pelas indústrias processadoras, juntamente com a medida da umidade e da massa de 100 amêndoas. Apenas pela avaliação da prova de corte, não seria possível diferenciar amostras de amêndoas totalmente sadias com amostras misturadas com 30% de amêndoas com vassoura-de-bruxa.

As amostras foram classificadas de acordo com a Resolução do CONCEX nº 160 de 28 de junho de 1988 observando os valores de umidade (Tabela 5) e da prova de corte (Tabela 4) (BRASIL 1988). As amostras VB 0 e VB 30 foram classificadas como Tipo I. Como a amostra VB 50 apresentou 3% de amêndoas mofadas, foi classificada como Tipo

II. Não foi possível classificar a amostra VB 100, pois a porcentagem de amêndoas mofadas foi superior a 4%.

3.3 Caracterização dos *nibs* não torrados

Os resultados da caracterização dos *nibs* não torrados encontram-se na Tabela 5.

Tabela 5. Caracterização dos *nibs* não torrados provenientes de misturas de sementes de cacau danificadas pela vassoura-de-bruxa com sementes sadias

Determinações*	VB 0	VB 30	VB 50	VB 100	MDS**
Umidade (%)	7,06 ± 0,11 ^b	6,87 ± 0,06 ^c	7,28 ± 0,04 ^a	7,29 ± 0,04 ^a	0,18
pH	4,92 ± 0,08 ^d	5,33 ± 0,05 ^c	5,53 ± 0,05 ^b	6,28 ± 0,06 ^a	0,15
Acidez total titulável (meq/100 g)	9,42 ± 0,4 ^a	6,56 ± 0,13 ^b	6,62 ± 0,47 ^b	2,10 ± 0,35 ^c	0,94
Teor de proteínas em base seca (%)	13,95 ± 0,22 ^a	13,76 ± 0,24 ^a	13,40 ± 0,14 ^b	13,16 ± 0,09 ^b	0,50
Teor de lipídios em base seca (%)	52,05 ± 0,23 ^a	51,57 ± 0,34 ^a	49,36 ± 0,61 ^b	48,52 ± 0,61 ^b	1,20

VB 0, VB 30, VB 50 e VB 100 representam a porcentagem que a amostra contém de sementes danificadas pelo fungo da vassoura-de-bruxa.

* Média ± desvio padrão; **Mínima Diferença Significativa. Valores de uma mesma linha com mesma letra não diferem significativamente ao nível de 5% de significância - Teste de Tukey

De acordo com a Tabela 5, os valores de umidade das amostras (compreendidos entre 6,87 e 7,28%) estavam abaixo do limite máximo estabelecido pela Resolução CONCEX n° 160, de 8,0% (BRASIL, 1988). Em relação ao pH, observou-se o aumento dos valores quanto maior a proporção de sementes danificadas, sendo que todas as amostras apresentaram diferenças entre si pelo Teste de Tukey a 5% de significância. As diferenças entre as amostras quanto aos valores de pH e acidez titulável estão relacionadas com os resultados obtidos para a massa em fermentação no final desta etapa (Figura 6), pois as amostras contendo sementes danificadas apresentaram um pH elevado, que está associado a uma acidez mais baixa.

De acordo com os resultados da Tabela 5, observou-se que os teores de proteínas e de lipídios totais foram maiores para a amostra VB 0, sendo que esses teores foram diminuindo com o aumento da porcentagem de amêndoas danificadas (diminuição de 5,7% do teor de proteínas e de 6,8% do teor de lipídios totais de VB 100 em relação a VB 0), o que indica uma provável influência do fungo da vassoura-de-bruxa nas transformações bioquímicas da semente de cacau. Misnawi e Teguh (2008), que avaliaram a possibilidade de uso de sementes de cacau com diferentes graus de infestação pela larva de *Conopomorpha cramerella*, verificaram menor teor de lipídios quanto maior o grau de infestação. Segundo os autores, isso pode sugerir que a fase de síntese dos lipídios durante o desenvolvimento dos frutos tenha sido incompleta. Essa pode ser uma possível explicação para a diminuição do teor de lipídios totais verificada conforme o aumento do teor de sementes de cacau com vassoura-de-bruxa utilizadas na fermentação, apesar de essa ser uma doença causada por um fungo e não por infestação da mencionada larva.

3.4 Caracterização dos *liquors*

3.4.1 Caracterização física e química

Os resultados da caracterização dos *liquors* são apresentados na Tabela 6.

Tabela 6. Caracterização dos *liquors* obtidos de misturas de sementes de cacau danificadas pela vassoura-de-bruxa com sementes sadias

Determinações*	VB 0	VB 30	VB 50	VB 100	DMS**
Umidade (%)	1,06 ± 0,07 ^a	0,81 ± 0,06 ^b	0,92 ± 0,07 ^{ab}	0,97 ± 0,05 ^{ab}	0,16
pH	4,89 ± 0,03 ^d	5,14 ± 0,04 ^c	5,34 ± 0,03 ^b	5,72 ± 0,05 ^a	0,11
Acidez total titulável (meq/100 g)	9,33 ± 0,44 ^a	8,35 ± 0,77 ^a	5,51 ± 0,24 ^b	2,33 ± 0,05 ^c	1,20
Viscosidade Plástica (Poise)	25,92 ± 0,99 ^c	25,37 ± 0,95 ^c	33,76 ± 0,22 ^b	41,6 ± 1,46 ^a	2,01
Limite de escoamento (dyn/cm ²)	0,58 ± 0,04 ^b	0,75 ± 0,05 ^a	0,67 ± 0,02 ^{ab}	0,66 ± 0,02 ^{ab}	0,09
Teor de proteínas em base seca (%)	14,13 ± 0,05 ^a	13,84 ± 0,11 ^b	13,30 ± 0,21 ^c	12,73 ± 0,18 ^c	0,37
Teor de lipídios em base seca (%)	58,25 ± 0,23 ^a	57,73 ± 0,06 ^a	56,25 ± 0,63 ^b	54,92 ± 0,21 ^b	0,94
Tam. máx partículas (µm)	22,0 ± 1,0 ^b	23,0 ± 2,2 ^{ab}	25,0 ± 0,8 ^a	21,0 ± 1,7 ^b	2,4
Metilxantinas					
Teobromina (mg/100g)	1,164 ± 0,006 ^b	1,216 ± 0,036 ^{ab}	1,215 ± 0,005 ^{ab}	1,283 ± 0,012 ^a	0,08
Cafeína (mg/100g)	0,193 ± 0,002 ^b	0,196 ± 0,002 ^b	0,196 ± 0,001 ^b	0,207 ± 0,000 ^a	0,01

VB 0, VB 30, VB 50 e VB 100 representam a porcentagem que a amostra contém de sementes danificadas pelo fungo da vassoura-de-bruxa.

* Média ± desvio padrão; **Diferença mínima significativa. Valores de uma mesma linha com mesma letra não diferem significativamente ao nível de 5% de significância – Teste de Tukey

Comparando-se os resultados das Tabelas 5 e 6, verificou-se que as amostras sofreram alterações, em alguns casos pequenas, no pH, na acidez titulável e no teor de proteínas (nitrogênio total) após as etapas de processamento dos *nibs* até o *liquor*. No entanto, devido aos processos de torração e tratamento térmico do *liquor*, a umidade das amostras diminuiu substancialmente, como esperado.

Os valores de viscosidade plástica apresentaram-se maiores quanto maior a proporção de sementes danificadas pela vassoura-de-bruxa, sendo que a amostra contendo apenas sementes danificadas (VB 100) apresentou um valor 60% maior em relação a amostra sem sementes danificadas (VB 0). As amostras VB 0 e VB 30 não apresentaram diferença significativa para viscosidade plástica, com valores de aproximadamente 25 P. No entanto, apresentaram diferença para o limite de escoamento. Comparando o limite de

escoamento com os resultados de Gilabert-Escrivá (1997), que obteve 0,52 dyn/cm², a amostra VB 0 é a que ficou mais próxima.

Os fatores que podem influenciar a viscosidade e o limite de escoamento são: a temperatura da análise, que deve ser mantida constante, o teor de gordura no *liquor*, o teor de umidade e o tamanho das partículas sólidas (GILABERT-ESCRIVÁ, 1997). A temperatura durante o processo foi sempre mantida a 40 °C e os resultados de umidade e tamanho máximo das partículas foram próximos. O teor de lipídios totais da amostra VB 100 mostrou-se 6,8% menor que o de VB 0, podendo ser a principal causa para o aumento da viscosidade dos *liquors*.

Pelos resultados de teobromina e cafeína apresentados na Tabela 6 foi possível notar que houve diferença significativa apenas entre as amostras VB 0 e VB 100, sendo que os valores de teobromina e cafeína deste último foram, respectivamente, 10,22 e 7,25% maiores em relação ao VB 0. De acordo com Aneja & Gianfagna (2001), a infecção dos tecidos das plantas pelo fungo causador da vassoura-de-bruxa pode gerar mecanismos bioquímicos de defesa, evidenciados pelo aumento dos níveis de metilxantinas e de compostos fenólicos.

3.4.2 Avaliação microbiológica

Os resultados da avaliação microbiológica realizada nos *liquors* dos diferentes ensaios são apresentados na Tabela 7.

Tabela 7. Avaliação microbiológica dos *liquors obtidos* de misturas de sementes de cacau danificadas pela vassoura-de-bruxa com sementes sadias

Determinações	Amostra			
	VB 0	VB 30	VB 50	VB 100
<i>Salmonella</i> (em 25 g)	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência
<i>E.coli</i> (NMP/g)*	< 3	< 3	< 3	< 3
Contagem de bolores (UFC/g)**	< 10 ²	< 10 ²	< 10 ²	< 10 ²
Contagem de leveduras (UFC/g)**	< 10 ²	< 10 ²	< 10 ²	< 10 ²
Contagem de bactérias lácticas (UFC/g)**	< 10	< 10	< 10	< 10
Contagem total aeróbios mesófilos (UFC/g)**	2,9 x 10 ²	3,3 x 10 ³	2,4 x 10 ³	1,0 x 10 ⁵
Contagem bolores termorresistentes (nº esporos/25 g)***	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência

VB 0, VB 30, VB 50 e VB 100 representam a porcentagem que a amostra contém de sementes danificadas pelo fungo da vassoura-de-bruxa.

* Número Mais Provável / grama, ** Unidades Formadoras de Colônias/ grama, *** Número de esporos / 25 g.

Observou-se, conforme a Tabela 7, que a carga microbiana de todas as amostras de *liquor* foi relativamente menor que a observada nas amêndoas fermentadas e secas (Tabela 2), conforme o esperado, pois as amêndoas sofreram tratamento térmico de até 150 °C no processo de torração, que é suficiente para a eliminação dos todos os microorganismos avaliados, com exceção de bolores termorresistentes. As contagens de *E. Coli* e *Salmonella* estavam abaixo dos limites estabelecidos pela Resolução RDC nº 12 de 02 de janeiro de 2001 (BRASIL, 2008).

3.5 Caracterização dos pós de cacau

Na Tabela 8 encontram-se os resultados das determinações físico-químicas dos pós de cacau.

Tabela 8. Caracterização físico-química dos pós de cacau obtidos de misturas de sementes de cacau danificadas pela vassoura-de-bruxa com sementes sadias

Determinações *	VB 0	VB 30	VB 50	VB 100	MDS **
Umidade (%)	2,72 ± 0,02 ^a	2,88 ± 0,03 ^{bc}	3,00 ± 0,09 ^b	3,54 ± 0,07 ^a	0,17
pH	5,08 ± 0,02 ^d	5,25 ± 0,03 ^c	5,48 ± 0,01 ^b	5,9 ± 0,04 ^a	0,07
Acidez total titulável (meq/100 g)	12,9 ± 0,3 ^a	11,2 ± 0,1 ^{ab}	9,7 ± 0,6 ^b	6,0 ± 0,1 ^c	2,5
Teor de proteínas em base seca (%)	26,24 ± 0,36 ^a	26,19 ± 0,20 ^a	24,49 ± 0,28 ^b	21,95 ± 0,22 ^c	0,43
Teor de lipídios em base seca (%)	21,4 ± 0,6 ^a	20,3 ± 1,0 ^{ab}	20,2 ± 0,9 ^{ab}	19,8 ± 0,7 ^b	2,8
L*	36,94 ± 0,24 ^a	35,5 ± 0,25 ^b	35,08 ± 0,34 ^c	33,81 ± 0,52 ^d	0,22
Cor a*	16,12 ± 0,05 ^a	15,64 ± 0,03 ^b	15,19 ± 0,05 ^c	15,12 ± 0,05 ^d	0,03
b*	17,55 ± 0,14 ^a	15,36 ± 0,14 ^b	12,91 ± 0,15 ^c	11,47 ± 0,15 ^d	0,10

VB 0, VB 30, VB 50 e VB 100 representam a porcentagem que a amostra contém de sementes danificadas pelo fungo da vassoura-de-bruxa.

* Média ± desvio padrão; ** Mínima Diferença Significativa. Valores de uma mesma linha com mesma letra não diferem significativamente ao nível de 5% de significância - Teste de Tukey

Pela Tabela 8, nota-se que o teor de umidade dos pós de cacau analisados esteve próximo a 3,0% e o pH esteve na faixa de 5,1 a 5,9. Pelas análises estatísticas, verificou-se diferença entre todas as médias para o pH das amostras avaliadas, que foi maior com o aumento da quantidade de sementes danificadas usadas na fermentação. O mesmo foi observado, de forma inversa, para a acidez total titulável, que diminuiu com o aumento de sementes danificadas. O pó de cacau natural, de acordo com Terink & Brandon (1981), citados por Bispo (1999), apresenta umidade próxima a 3,0% e pH de 5,75.

Em relação ao teor de lipídios totais observado nos pós de cacau, Minifie (1989), Meursing (1994) e Bispo (1999) relataram que o conteúdo de manteiga de cacau no pó depende do fim a que se destina, podendo ser este comercializado com os limites de 8 a 10% (baixo teor), 11 a 13% (médio teor) e 22 a 24% (alto teor), devendo apresentar uma

variação de no máximo 2%. De acordo com os teores de lipídios obtidos (Tabela 8), os pós de cacau foram considerados com teor alto. No Brasil, atualmente, a maioria das indústrias processadoras de cacau trabalha com teores de, em média, 12% de manteiga de cacau nos pós. Conforme a Tabela 8, o teor de nitrogênio total dos pós foi menor quanto maior o teor de sementes danificadas usadas na fermentação, sendo que VB 0 apresentou teor 16% maior que VB 100. Os valores observados para todos os materiais avaliadas estão dentro da faixa obtida por BISPO (1999), que variou de 20,7 a 23,8 e a citada por Minifie (1989), de 23 a 28%.

Quanto à avaliação da cor dos pós de cacau, no sistema de cores utilizado, CIELAB, normatizado pela "Comission Internationale d'Eclairage" (CIE), L^* indica a luminosidade (de forma decrescente, de claro a escuro) e os parâmetros a^* e b^* estão associados às coordenadas cromáticas (a^* , de forma decrescente, de vermelho a verde e b^* , de forma decrescente, de amarelo a azul) (BISPO, 1999; COHEN, 2005). Pelos resultados observados na Tabela 8, as amostras apresentaram-se significativamente diferentes entre si para todos os parâmetros (L^* , a^* e b^*), sendo que com o aumento do teor de sementes danificadas utilizadas na fermentação, mais escuros, menos vermelhos e amarelos estavam os pós de cacau. As diferenças verificadas na cor dos pós de cacau podem estar associadas ao pH dos mesmos, uma vez que Bispo (1999), que estudou processos de alcalinização em *nibs* de cacau e avaliou a qualidade dos pós resultantes, obteve valores, respectivamente de L^* , a^* e b^* , de 33,13; 15,04 e 15,32 para pó de cacau com pH 5,4 e valores de 31,6; 15,73 e 13,91 para pó de cacau com pH 6,2.

3.6 Caracterização da manteiga de cacau

3.6.1 Curva de sólidos

As curvas características de sólidos da manteiga de cacau das amostras estudadas encontram-se na Figura 8.

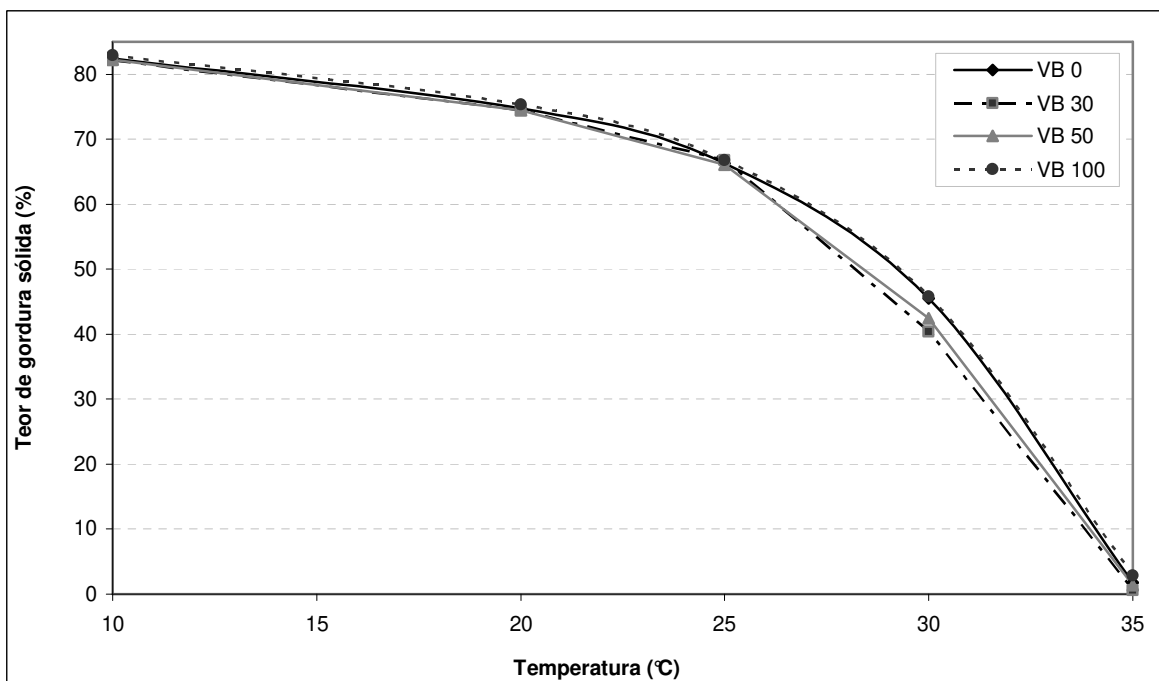


Figura 8. Curva de sólidos da manteiga de cacau extraída de *liquor* obtido de misturas de sementes de cacau saudáveis com sementes danificadas pela vassoura-de-bruxa

Nota-se na Figura 8 que o perfil para o teor de sólidos nas temperaturas avaliadas entre as amostras VB 0, 30, 50 e 100 foi similar.

3.6.2 Composição em ácidos graxos

Na Tabela 9 estão apresentados os resultados da composição em ácidos graxos da manteiga de cacau extraída das amostras VB 0, 30, 50 e 100.

Tabela 9. Composição em ácidos graxos da manteiga de cacau extraída de materiais danificados e não danificados pela vassoura-de-bruxa

Ácido Graxo		VB 0	VB 30	VB 50	VB 100
C14:0	Mirístico	0,07	0,07	0,08	0,07
C15:0	Pentadecanóico	0,02	0,02	0,02	0,02
C16:0	Palmítico	25,54	25,5	25,73	25,49
C16:1	Palmitoleico	0,25	0,25	0,26	0,25
C18:0	Esteárico	34,16	34,19	33,69	34,34
C18:1	Oléico	35,11	35,19	35,33	35,06
C18:2Trans	Linoelaídico	0,01	0,01	0,01	0,01
C18:2	Linoléico	3,17	3,10	3,25	3,05
C18:3Trans	Translinolênico	0,01	0,01	0,01	0,01
C18:3	Linolênico	0,20	0,20	0,22	0,20
C20:0	Araquídico	1,09	1,10	1,09	1,12
C20:1	Gadoléico	0,06	0,06	-	0,06
C22:0	Behênico	0,20	0,20	0,20	0,21
C22:1	Erúcico	0,01	0,01	0,01	0,01
C24:0	Lignocérico	0,09	0,09	0,09	0,10
C24:1	Nervônico	0,01	0,01	0,01	-
SATURADOS (%)		61,17	61,17	60,9	61,35
MONOINSATURADOS (%)		35,44	35,52	35,61	35,38
POLIINSTAURADOS (%)		3,39	3,32	3,49	3,27

Segundo Minifie (1989) e Luccas (2001), o ácido graxo saturado esteárico (C18:0), é encontrado em proporções que variam de 32 a 36% e o palmítico (C16:0), em proporções de 24 a 27%. Os ácidos graxos monoinsaturado, oléico (C18:1), é encontrado na proporção de 33 a 37%. De acordo com a Tabela 9, os valores encontrados para todos os materiais estudados estão dentro das faixas citadas por Minifie (1989) e Luccas (2001). Não foram verificadas diferenças na composição em ácidos graxos das amostras com e sem vassoura-de-bruxa.

Luccas (2001) comparou dois tipos de manteigas de cacau: uma de origem brasileira (Bahia) e outra composta por uma mistura de 30% de manteiga extraída de amêndoas de cacau brasileiras, 30% da África do Sul e 40% da Indonésia. De acordo com os resultados obtidos pelo autor, a manteiga de cacau composta por uma mistura de amêndoas de diferentes origens apresentou maior teor de sólidos em temperatura ambiente e maior teor de ácidos graxos saturados. Neste estudo, as curvas de sólidos obtidas e a composição em ácidos graxos estão mais próximas dos resultados reportados por Luccas (2001) para manteiga de cacau composta por mistura de amêndoas do Brasil, África do Sul e Indonésia em relação à da Bahia, resultado curioso uma vez que as manteigas de cacau avaliadas neste trabalho foram extraídas de amêndoas de cacau da Bahia. De acordo com Tucci *et al.* (2002), o período de desenvolvimento dos frutos no cacaueiro tem grande influência nas características físicas e químicas da manteiga de cacau. Os frutos utilizados neste estudo se desenvolveram no primeiro semestre, período em que as médias de temperatura ambiente são maiores em relação ao segundo semestre, para a região em que os frutos foram colhidos (Itabuna – BA). Comparando-se ainda os resultados da Figura 8 com aqueles obtidos no Capítulo 3 - Figura 5, para manteiga de cacau extraída de nove cultivares e do cacau Comum, também são verificadas diferenças, sendo que os frutos destes últimos materiais se desenvolveram no mesmo local, porém, predominantemente no segundo semestre.

Na Tabela 10 é apresentada a composição em triacilgliceróis da manteiga de cacau extraída de *liquor* obtido de sementes de cacaueiro sadia (VB 0) e de sementes danificadas pela vassoura-de-bruxa (VB 100).

Tabela 10. Composição em triacilgliceróis da manteiga de cacau extraída de liquor de sementes de cacau sadias (VB 0) e 100% danificadas pela vassoura-de-bruxa (VB 100)

Triacilglicerol	Teores (g/100 g)	
	VB 0	VB 100
POP	16,73 ± 0,09	17,34 ± 0,01
PLiP	2,54 ± 0,03	2,58 ± 0,04
POS	40,83 ± 0,15	41,14 ± 0,09
POO	4,69 ± 0,41	5,33 ± 0,22
POLi	0,83 ± 0,18	nd*
SOS	21,29 ± 0,18	20,34 ± 0,15
SOO	11,12 ± 0,11	11,37 ± 0,19
SOA	1,32 ± 0,03	1,24 ± 0,09
OOA	0,66 ± 0,01	0,65 ± 0,09

Na Tabela, os triacilgliceróis representados são formados pelos seguintes ácidos graxos: P = ácido palmítico (saturado); O = ácido oléico (monoinsaturado); S = ácido esteárico (saturado); Li = ácido linoléico (diinsaturado); A = ácido araquídico (saturado)

* nd – não detectado

Foram verificadas poucas diferenças entre a manteiga de cacau extraída de *liquor* contendo 100% de sementes sadias (VB 0) e *liquor* de 100% de sementes danificadas (VB 100). A soma dos principais triacilgliceróis encontrados na manteiga de cacau, POP, POS e SOS, responsáveis por permitir que esta gordura se cristalice em uma elevada ordem estrutural, responsável por suas características de fusão e cristalização (LUCCAS, 2001; LIPP & ANKLAM, 1998) foi, respectivamente, de 78,85 e 78,82% para VB 0 e VB 100.

Os resultados apresentados na Figura 8 e nas Tabelas 9 e 10 indicam que a manteiga de cacau não sofreu danos físicos ou químicos significativos, provocados pela vassoura-de-bruxa, que poderiam impactar tecnologicamente a fabricação de chocolate. Cabe destacar que, como toda gordura, a manteiga de cacau absorve com facilidade aromas, sendo que, caso a fração volátil de *liquors* processados a partir de sementes danificadas pela vassoura-de-bruxa se diferencie da de *liquors* processados a partir de sementes sadias, possivelmente haverá impactos negativos no aspecto sensorial.

3.7 Compostos fenólicos totais

Os resultados da análise de compostos fenólicos totais das sementes *in natura* liofilizadas, danificadas e não danificadas pela vassoura-de-bruxa, dos *nibs* não torrados e dos *liquors* estudados encontram-se na Tabela 11.

Tabela 11. Teor de compostos fenólicos totais de sementes de cacaueteiro sadias e danificadas pela vassoura-de-bruxa e de *nibs* não torrados e *liquors* obtidos de sua mistura em diferentes proporções

Amostras *	Teores (mg / 100g)				
	VB 0	VB 30	VB 50	VB 100	MDS**
Sementes não fermentadas	133,34 ± 1,60 ^b	-	-	174,77 ± 9,67 ^a	15,72
<i>Nibs</i> não torrados	103,34 ± 6,15 ^a	81,16 ± 0,74 ^b	80,80 ± 2,25 ^b	76,45 ± 2,28 ^b	9,12
<i>Liquor</i>	80,26 ± 0,55 ^a	71,46 ± 0,89 ^b	66,88 ± 1,27 ^c	60,34 ± 0,98 ^d	2,53

VB 0, VB 30, VB 50 e VB 100 representam a porcentagem de sementes danificadas pelo fungo da vassoura-de-bruxa. * Média ± desvio padrão; **Mínima Diferença Significativa. Valores de uma mesma linha com mesma letra não diferem significativamente ao nível de 5% de significância - Teste de Tukey

Verifica-se que as sementes não fermentadas danificadas pela vassoura-de-bruxa apresentaram um teor 31% maior de compostos fenólicos totais em comparação às sementes sadias. Esse resultado confirma os dados descritos por Scarpari *et al.* (2005) sobre o aumento no teor de compostos fenólicos devido à presença ou aos danos causados pelo fungo da vassoura-de-bruxa. No entanto, pelos resultados dos *nibs* não torrados e *liquor* apresentados na Tabela 11, houve uma diminuição do teor desses compostos com o aumento da quantidade de sementes danificadas. Isso indica que houve uma maior perda de compostos fenólicos durante a fermentação, quanto maior o teor de sementes danificadas pela vassoura-de-bruxa em relação ao material normal. Os *nibs* não torrados e os *liquors* provenientes de sementes não danificadas pela vassoura-de-bruxa (VB 0) sofreram uma perda de polifenóis de 22,5 e 39,8%, respectivamente, em relação às sementes não fermentadas. Para os materiais obtidos a partir das sementes danificadas pela vassoura-de-bruxa (VB 100), as perdas foram de 56,3 e 65,5%, respectivamente para os *nibs* não

torrados e *liquors* em relação às sementes não fermentadas. Dessa forma, foram observadas perdas consideravelmente maiores de compostos fenólicos totais nas etapas de fermentação, secagem e torração do material 100% danificado pela vassoura-de-bruxa (VB 100) em comparação com o material normal (VB 0).

Estudos vêm demonstrando que os compostos fenólicos presentes no cacau são benéficos à saúde, por sua capacidade antioxidante, pela redução do risco de ocorrência de doenças cardiovasculares, entre outros (SANBONGI *et al.*, 1998; WOLLGAST & ANKLAN, 2000; MAO *et al.*, 2000; REIN *et al.*, 2000; STEINBERG *et al.*, 2003; VINSON *et al.*, 2006). Porém, verifica-se durante as etapas de fermentação, secagem e torração elevadas perdas nos teores dos compostos fenólicos, sendo que na fermentação estas podem chegar a 70% para os compostos fenólicos totais e 90% para os flavan-3-ols, compostos da classe dos flavonóides (CROSS *et al.*, 1982; BRITO, 2000) originadas inicialmente com a morte do embrião, uma vez que os compostos fenólicos entram em contato com as enzimas polifenoloxidase e glicosidases (FORSYTH & QUESNEL, 1958) e posteriormente, complexam-se com proteínas, transformam-se em quinonas e sofrem condensação com grupos reativos de aminoácidos, peptídeos, proteínas e fibras (CROSS *et al.*, 1982; BRITO, 2000).

Dessa forma, sendo a extração de polifenóis um interessante destino para as sementes de cacau danificadas pela vassoura-de-bruxa, sugere-se que não seja realizada a etapa de fermentação para evitar a perda destes compostos. Estudos complementares são necessários para a avaliação dos tipos de compostos fenólicos encontrados nas sementes danificadas em comparação com sementes sadias.

3.8 Análise de compostos voláteis

Durante a fermentação, ocorrem importantes reações bioquímicas que levam à formação dos precursores de sabor, em particular, aminoácidos livres e açúcares redutores (BAREL *et al.*, 1985; PETTIPHER, 1986 citados por PEZOA-GARCÍA, 1989). O processo de torração também é fundamental na obtenção das características de qualidade do

chocolate, pois, segundo Pezoa-García (1989), durante esta etapa de aquecimento, ocorrem modificações importantes como a diminuição dos ácidos voláteis indesejáveis (como o acético), a inativação das enzimas que podem degradar a manteiga de cacau, a perda de água e o desenvolvimento da cor e do sabor típicos do chocolate. O desenvolvimento do sabor durante a etapa de torração ocorre principalmente pela Reação de Maillard (reação de escurecimento não enzimático) devido à presença de aminoácidos livres e açúcares redutores formados na fermentação. Essa reação leva à produção de ésteres, hidrocarbonetos, ácidos, cetonas, aldeídos, furanos e alquilpirazinas, sendo que estas últimas são importantes para o sabor do cacau e representam 25% do total dos componentes identificados da fração aromática do cacau torrado (BAREL *et al.*, 1985).

Os resultados da análise da fração volátil, respectivamente das sementes não fermentadas sadias e danificadas, das amêndoas fermentadas e secas e dos *liquors* estudados encontram-se nas Tabelas 12, 13 e 14.

Tabela 12. Compostos identificados na fração volátil de **sementes não fermentadas** sadias e de danificadas pela vassoura-de-bruxa

Tempo de retenção (min)	Composto	Intensidade da área do pico	
		VB 0	VB 100
1,56	dimetil sulfeto	-	$2,12 \times 10^7$
1,91	acetato de etila	$8,68 \times 10^7$	$1,38 \times 10^8$
2,11	3-metil butanal	-	$1,47 \times 10^7$

Tabela 13. Compostos identificados na fração volátil de **amêndoas de cacau fermentadas e secas** obtidas de misturas de sementes sadias e danificadas pela vassoura-de-bruxa em diferentes proporções

Tempo de retenção (min)	Composto volátil	Intensidade da área do pico			
		VB 0	VB 30	VB 50	VB 100
1,56	etanoato de metila	-	$3,49 \times 10^7$	$2,22 \times 10^7$	-
1,91	acetato de etila	-	$8,14 \times 10^7$	$5,76 \times 10^7$	$1,11 \times 10^7$
2,01	ácido acético	$8,35 \times 10^7$	$4,92 \times 10^7$	$3,91 \times 10^7$	$5,99 \times 10^6$
2,18	3-metil butanal	-	$4,24 \times 10^7$	$4,85 \times 10^7$	$3,79 \times 10^7$
2,26	2-metil butanal	-	$6,11 \times 10^7$	$6,94 \times 10^7$	-
2,61	3-metil 2 butanol	-	$2,49 \times 10^7$	$5,23 \times 10^7$	-
4,22	2,3 butanodiol	$3,19 \times 10^6$	$9,30 \times 10^6$	$7,89 \times 10^6$	-
6,37	3-metil 2-butanol	$2,32 \times 10^6$	-	-	-
	acetato				
7,73	3-metil 1-butanol	$8,06 \times 10^6$	-	-	-
	acetato				
12,47	benzaldeído	$4,03 \times 10^6$	$3,92 \times 10^6$	-	$1,28 \times 10^7$
13,72	ácido 4-hidroxi	$3,15 \times 10^6$	-	-	-
	benzeno sulfônico				
15,32	benzenoacetaldeído	$8,62 \times 10^6$	$2,39 \times 10^7$	$2,97 \times 10^7$	-
16,43	2,3,5,6-	$1,51 \times 10^6$	$5,34 \times 10^6$	-	-
	tetrametilpirazina				
16,82	nonanal	$2,50 \times 10^6$	-	-	-

Tabela 14. Compostos identificados na fração volátil dos *liquors* obtidos de misturas de sementes sadias e danificadas pela vassoura-de-bruxa em diferentes proporções

Tempo de retenção (min)	Composto volátil	Intensidade da área do pico			
		VB 0	VB 30	VB 50	VB 100
1,55	acetato de metila	-	-	$1,45 \times 10^7$	$1,15 \times 10^7$
1,64	2-metil propanal	$1,91 \times 10^7$	-	$3,55 \times 10^7$	$3,55 \times 10^7$
1,75	2,3-butanodiona	$4,46 \times 10^6$	-		-
1,79	2-butanona	$5,17 \times 10^6$	-		-
2,16	3-metil butanal	$1,30 \times 10^8$	$1,79 \times 10^8$	$1,41 \times 10^8$	$1,00 \times 10^8$
2,33	2-metilbutanal	-	-	$1,24 \times 10^8$	$8,32 \times 10^7$
3,25	dimetil dissulfeto	$8,47 \times 10^7$	$1,17 \times 10^7$	$1,25 \times 10^7$	-
5,25	metil pirazina	$1,20 \times 10^7$	$1,12 \times 10^7$	$1,72 \times 10^7$	$1,39 \times 10^7$
9,81	2,5-dimetilpirazina	$6,19 \times 10^6$	-	-	
12,46	benzaldeído	$1,68 \times 10^7$	-	$8,93 \times 10^6$	$7,33 \times 10^6$
14,07	2-etil-5-metilpirazina	$6,98 \times 10^6$	-		-
14,15	2,3,5-trimetilpirazina	$3,20 \times 10^7$	$3,60 \times 10^7$	$1,58 \times 10^7$	$4,94 \times 10^6$
15,37	benzenoacetaldeído	$8,00 \times 10^7$	$6,91 \times 10^7$	$5,25 \times 10^7$	$2,89 \times 10^7$
16,25	3-etil 2,5 dimetil pirazina	$1,53 \times 10^7$	-	$7,22 \times 10^6$	-
16,44	2,3,5,6-tetrametilpirazina	$1,38 \times 10^7$	$4,76 \times 10^6$	-	-
17,05	álcool fenil-etílico	$4,36 \times 10^6$		-	-

Os métodos e os equipamentos utilizados para a avaliação da fração volátil das sementes não fermentadas, amêndoas e *liquors* de cacau permitiram a identificação e quantificação relativa apenas dos compostos apresentados nas Tabelas 12, 13 e 14, apesar de um grande número de outros compostos ter sido reportado em outros estudos (LOPEZ, 1974; SILWAR, 1988; PEZOA-GARCÍA, 1989).

De acordo com a Tabela 12, verificou-se nas sementes não fermentadas danificadas pela vassoura-de-bruxa (VB 100) a presença de dois compostos geralmente encontrados durante a fermentação de sementes de cacau, dimetilsulfeto e 3-metil butanal, de acordo com Pezoa-García (1989). Os mesmos compostos não foram encontrados nas sementes sadias. Cabe ressaltar que a presença de um composto químico da classe dos aldeídos pode também indicar, além de outros resultados observados neste trabalho, que ocorreu algum tipo de fermentação das sementes danificadas pela vassoura-de-bruxa dentro dos frutos antes da colheita.

De acordo com Pezoa-García (1989), as pirazinas de baixa massa molecular (2-metil; 2,5-dimetil e 2,6-dimetil pirazinas) presentes no cacau torrado são produzidas principalmente no decorrer da torração, sendo que de 40 a 60% da 2,3-dimetil, 2,3,5-trimetil e 2,3,5,6-tetrametilpirazina são produzidas em média, até 20 minutos do processo de torração, ressaltando-se, no entanto, que estas já estão presentes nas amêndoas fermentadas. De acordo com a Tabela 13, a 2,3,5,6-tetrametilpirazina foi a única pirazina identificada nas amêndoas fermentadas e secas, apenas em VB 0 e VB 30. Pezoa-García relatou que a concentração dos compostos pirazínicos citados aumenta com o tempo de torração, com exceção da 2,3,5,6-tetrametilpirazina, cuja diminuição coincide com o início da sobre-torrção de amêndoas ou *nibs* de cacau provenientes da fermentação de sementes sadias, provavelmente por volatilização, devido ao aumento da temperatura no final da torração. Bauermeister (1981) relatou que a relação entre os teores de 2,3,5,6-tetrametilpirazina e de 2,5-dimetilpirazina é um bom indicador do grau de torração de cacau.

Cerca de 532 compostos já foram identificados na fração volátil de massa de cacau (SILWAR, 1988). De acordo com Urbanski (1992), o sabor típico do chocolate tem sido associado mais de perto com o fenilacetaldeído, isovaleraldeído, isopentanal e várias pirazinas, entre as quais as alquilpirazinas, que são associadas ao sabor de nozes torradas; as metoxipirazinas, a notas de terra vegetal, e as pirazinas bicíclicas, que contribuem com notas de sabor queimado, torrado ou grelhado (BISPO, 1999). Outra classe de compostos que contribuem para a formação do sabor do chocolate são os pirroles, sendo os mais

conhecidos o 2-formil-pirrole e o 2-acetil-pirrole, que conferem, respectivamente, notas de sabor de milho doce e caramelo; além de outros pirroles que contribuem com notas de verde a picante. Os derivados do furano também têm sua participação na formação do perfil de sabor do chocolate, entre eles as piranonas que são associadas a notas de caramelo de doces, frutais, de nozes e de sabor queimado. Compostos heterocíclicos sulfurados, como tiofenóis, tiazoles e tiazolinas, conferem notas verdes, de hortaliças, de nozes e de carne. Em particular, o trimetiltiazol é relatado como tendo notas de cacau e nozes, e os tiofenóis são considerados como responsáveis por conferir notas que variam de pungente a semelhante a madeira (BISPO, 1999).

De acordo com a Tabela 14, todos os compostos encontrados nos diferentes liquors estudados normalmente fazem parte da fração volátil deste produto de cacau (PEZOA-GARCÍA, 1989), porém, foram observadas diferenças substanciais em relação aos teores, bem como ausência das alquilpirazinas: metil, 2,5 dimetil, 2-etil-5-metil, 3-etil 2,5 dimetil, 2,3,5 tri e 2,3,5,6 tetrametilpirazina. Foi possível observar que quanto maior o teor de material danificado pela vassoura-de-bruxa, menores os teores da 2,3,5,6 tetrametilpirazina, sendo que no liquor com 50 e 100% de sementes danificadas (VB 50 e VB 100), este composto não foi identificado. Nas amêndoas fermentadas e secas (Tabela 13), entre as alquilpirazinas, apenas a 2,3,5,6 tetrametilpirazina foi identificada e somente nas amêndoas sadias e com 30% de vassoura-de-bruxa (VB 0 e VB 30). Um aprofundamento deste estudo deve ser realizado, avaliando-se, nas amêndoas fermentadas e secas danificadas, os teores dos compostos precursores das pirazinas, como os aminoácidos e açúcares redutores livres. Uma análise quantitativa com a utilização de padrões internos e curva de calibração deve ser realizada para uma conclusão mais significativa sobre as diferenças dos materiais estudados. Pelos resultados obtidos neste estudo verificou-se que importantes compostos presentes na fração volátil e que são responsáveis pelo sabor desejável de produtos de cacau, como por exemplo a 2,3,5,6 tetrametilpirazina, 2,3,5 trimetilpirazina, 2,5-metilpirazina, 2-etil-5-metilpirazina e 3-etil-2,5-dimetilpirazina não estão presentes ou se formaram em quantidades reduzidas durante a fermentação e os tratamentos térmicos,

principalmente nos materiais com 50 e 100% de sementes danificadas pela vassoura-de-bruxa.

A formação de pirazinas durante a torração pode variar conforme diversos aspectos, como as características genéticas dos materiais, origem geográfica, processos de fermentação e secagem, entre outros, que podem levar à variações nos teores de açúcares redutores, aminoácidos livres e outros que são precursores das reações de formação de compostos de sabor (ROHAN & STEWART, 1967 e REINECCIUS *et al.* 1972a citados por REINECCIUS *et al.*, 1972b).

4. CONCLUSÕES

- Os resultados dos perfis de temperatura e pH da massa de sementes e polpa dos materiais com 0, 30, 50 e 100% de sementes danificadas pela vassoura-de bruxa durante a fermentação, além da avaliação dos teores de açúcares e ácidos orgânicos nas sementes e nas amêndoas secas e a análise da fração volátil das sementes demonstraram que algumas das reações que normalmente ocorrem durante a fermentação, como a ruptura das membranas celulares, podem ter se iniciado no interior dos frutos danificados pela vassoura-de-bruxa, antes da quebra destes, o que pode ter contribuído para as diferenças observadas entre os produtos obtidos apenas de sementes sadias e aqueles que continham sementes danificadas pela vassoura-de-bruxa em diferentes proporções;
- Foram observadas diferenças entre as amêndoas fermentadas e secas quanto à massa de 100 amêndoas e à densidade aparente, cujos valores mostraram-se menores com o aumento do teor de sementes danificadas pela vassoura-de-bruxa. Em relação à prova de corte, verificou-se maior quantidade de amêndoas com coloração marrom com o aumento da proporção de amêndoas danificadas pela vassoura-de-bruxa, não sendo esse necessariamente um indicativo de que o grau de fermentação foi melhor, quanto maior o teor de sementes danificadas pela vassoura-de-bruxa utilizadas na fermentação;
- Verificou-se o aumento do pH e a diminuição da acidez total titulável e dos teores de proteínas e lipídios totais nos *nibs* não torrados, *liquors* e pós de cacau com o aumento da porcentagem de sementes com vassoura-de-bruxa usadas na fermentação;
- O teor de compostos fenólicos totais das sementes não fermentadas danificadas pela vassoura-de-bruxa mostrou-se mais alto em relação às sementes sadias, porém, foram verificadas perdas maiores durante a sua fermentação, sendo que quanto maior a proporção de sementes danificadas nas amêndoas e *liquors* obtidos, menores os teores

de compostos fenólicos totais. Dessa forma, sendo a extração de polifenóis um interessante destino para as sementes de cacau danificadas pela vassoura-de-bruxa, sugere-se que não seja realizada a etapa de fermentação para evitar a perda desses compostos.

- Em relação às propriedades reológicas dos *liquors* obtidos, observou-se um aumento de 60,2% na viscosidade plástica entre o *liquor* VB 0 (proveniente de material 100% sadio) e o *liquor* VB 100 (proveniente de 100% de sementes danificadas pela vassoura-de-bruxa). A diferença observada foi significativa, principalmente considerando-se que o teor de lípidios totais das duas amostras de *liquor* foi próximo;

- A manteiga de cacau de todas as amostras avaliadas apresentou propriedades físicas e químicas similares, independente do teor de sementes danificadas pela vassoura-de-bruxa utilizadas na fermentação. Porém, torna-se importante avaliar os compostos responsáveis pelo sabor dessas manteigas de cacau, visando não impactar negativamente seu uso pela indústria de alimentos com reflexos na qualidade dos produtos obtidos;

- Apesar de não ter sido possível realizar a análise sensorial dos chocolates obtidos, verificou-se que o teor relativo de importantes compostos voláteis responsáveis pelo sabor característico de produtos de cacau, como algumas alquilpirazinas, foi distinto, sendo que quanto maior o teor de material danificado pela vassoura-de-bruxa, menor o teor destes compostos. Esse resultado indica que o uso de material danificado pela vassoura-de-bruxa nas porcentagens estudadas pode prejudicar a qualidade de produtos obtidos, como *liquor*, manteiga e pó de cacau e chocolates quanto ao sabor, atributo de grande importância aos derivados do cacau.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, L.C. Sobrevivência do *Crinipellis pernicioso* durante a fermentação de cacau **Proceedings of 10th International Cocoa Research Conference**, Santo Domingo, República Dominicana, p. 359-362, 1987.
- 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, p. 237-243, 2002.
- AMERINE, M. A. & OUGH, S. S. **Methods for Analyses of Musts and Wines**. 2ed. New York. Jy Wiley E. Sons, Inc. s.d, 337p.
- ANEJA, M.; GIANFAGNA, T. Induction and accumulation of caffeine in young actively growing leaves of cocoa (*Theobroma cacao* L.) by wounding or infection with *Crinipellis pernicioso*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, n. 59, p.13-16, 2001.
- BAREL, M., LEON, D., VINCENT, J.C. Influence du temps de fermentation du cacao sur la production des pyrazines du chocolat. **Café, Cacao, Thé** , v. 29, n.4, p. 277-286, 1985.
- BAUERMEISTER, P. Cocoa liquor roasting. **The Manufacturing Confectioner**, v. 61, n. 10, p. 43-45, 1981.
- BECKETT, S.T. **Industrial chocolate manufacture and use**. 2.ed. London: Chapman and Hall, 1994. 408p.
- BISPO, E.S. **Processo de alcalinização dos nibs de cacau (*Theobroma cacao* L.) e avaliação da qualidade do pó**. 1999. 198p. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1999.
- BRASIL. Resolução CONCEX nº 160, de 28 de junho de 1988. Especificações da padronização do cacau em amêndoas (*Theobroma cacao* L.) visando a sua classificação e fiscalização na exportação. **Diário Oficial da União, Brasília**, 29 set. 1988. Seção I, 8p.
- BRAUDEAU, J. **El cacao: técnicas agrícolas y producciones tropicales**. Barcelona. Ed. Blume, 1970. 297p.

- BRASIL, Resolução RDC ANVISA/MS nº 12 de 02 de janeiro de 2001. Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Disponível em < <http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=144>>. Acesso em 30 de junho de 2008.
- 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.
- CASCANTE, M., ENRIQUEZ, G. A., GARCIA, V. Flora microbiana durante el proceso de fermentacion del caçao. **Proceedings of 11th International Cocoa Research Conference**, Yamoussoukro, Côte D'Ivoire, p. 911-922, 1993.
- CHAVES, F.C.; GIANFAGNA, T.J. Cacao leaf procyanidins increase locally and systemically in response to infection by *Moniliophthora perniciosa* basidiospores. **Physiological and Molecular Plant Pathology**. v. 70, p. 174-179. 2007.
- COHEN, K. O., JACKIX, M. N. H. Estudo do *liquor* de cupuaçu. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Jan/Mar, v. 25, n 1, p. 182-190, Campinas 2005.
- CROSS, E; VILLENEUVE, F.; VINCENT J. C. Recherche d'un índice de fermentation du cacao. **Café, Cacao Thé**, Paris, v.16, n. 2, p.109-113, 1982.
- 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.
- DOWNES, F.P.; ITO, K. (ed.) 2001. Compendium of methods for microbiological examination of foods, **4ed. American Public Association, Washington, D.C.**
- EFRAIM, P. **Estudo para minimizar as perdas de flavonóides durante a fermentação de cacau para produção de chocolate.** 2004. 114p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2004.
- EFRAIM, P.; TUCCI, M.L.; GARCÍA, N.H.P ; HADDAD, R.; EBERLIN, M. Teores de compostos fenólicos de sementes de cacaueiro de diferentes genótipos. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 9, n.4, p. 229-236, 2006.

-
- FIGUEIREDO, I.M. ; PEREIRA, N.R. ; EFRAIM, P. ; GARCÍA, N.H.P; RODRIGUES, N.R. ; MARSAIOLI JÚNIOR, A. ; MARSAIOLI, A.J. ¹H NMR, a Rapid Method to Monitor Organic Acids during Cupuassu (*Theobroma grandiflorum* Spreng) Processing. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 54, n. 12, p. 4102-4106, 2006.
- FIRESTONE, D. (Ed.). **Official methods and recommended practices of the AOCS**. 5.ed. Illinois: American Oil Chemists Society, 1998. 2v.
- Food And Agriculture Organization of the United Nations - FAO. Disponível em <<http://apps.fao.org/page/collections?subset=agriculture>> Acesso em 15 de junho de 2006.
- FORSYTH, W.G.C; QUESNEL, V.C. Cacau glycosidase and colour changes during fermentation. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 8, p. 505-509, 1958.
- FUJIL, F. 9º Anuário do Setor de Chocolates, Candies e Biscoitos. **Doce Revista**. n. 159; p. 8-53, 2007.
- GILABERT-ESCRIVÁ, M. V. **Comparação das propriedades reológicas da massa de cacau torrada convencionalmente e por microondas**. 88p. 1997. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos). Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1997.
- GRAMACHO, I.C.P; MAGNO, A.E.S.; MANDARINO, E.P.; MATOS, A. **Cultivo e Beneficiamento do Cacau na Bahia**, (1 ed.) Ilhéus: CEPLAC, 2002. 124p.
- HANCOCK, B.L.; FOWLER, M.S. Cocoa Bean production and transport. In: BECKETT, S.T. **Industrial Chocolate Manufacture and Use**, 2ed., p.8-25. London: Black Academic & Professional, 1994.
- HORWITZ, W ed. **AOAC Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists**, 18ed., 2005.
- HOSKIN, J.C.; DIMICK, P.S. Chemistry of flavour development in chocolate. In: BECKETT, S.T. **Industrial Chocolate Manufacture and Use**, 2ed., p. 102-116. London: Black Academic & Professional, 1994.
- INTERNATIONAL OFFICE OF COCOA, CHOCOLATE AND SUGAR CONFECTIONER (IOCCSC). Viscosité du chocolat: Determinacion de la limite d'e coulement et de viscosité plastique de casson. **Rev. Int. Choc. (RIC)** v. 28; p. 216-218, 1973.

- LAJUS, B. **Estudo de alguns aspectos da tecnologia do cacau**. 1982. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1982.
- LIPP, M.; ANKLAM, E. Review of cocoa butter alternatives fats for use in chocolate – part A: compositional data. **Food Chemistry**, v. 62, n. 1, p. 73-97, 1998.
- LOPEZ, A.S. **The contribution of volatile compounds to the flavour of chocolate and their development during processing**. 1974. 186p. Thesis (PhD) – Faculty of Agriculture. The University of West Indies. St. Augustine, 1974.
- LUCCAS, V. **Fracionamento térmico e obtenção de gorduras de cupuaçu alternativas a manteiga de cacau para uso na fabricação de chocolate**. 2001. 188p. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2001.
- MAO, T.K.; POWELL, J.W.; KEEN, C.L.; SHIMITZ, H.H; HAMMERSTONE, J.F.; GERSHWIN, M.E. The effect of cocoa procyanidins on the transcription and secretion of interleukin 1 β in peripheral blood mononuclear cells. **Life Sciences**, v. 66, n. 15, p.1377-1386, 2000.
- McKIM, WA. **Drugs and Behavior: An Introduction to Behavioral Pharmacology**, Prentice Hall, New York. 1997.
- MEURSING, E.H. Cocoa mass, cocoa butter, cocoa powder. In: BECKETT, S.T. (Ed.). **Industrial chocolate manufacture and use**. 2.ed. London: Chapman & Hall, 1994. cap. 6, p. 70-82.
- MINIFIE, B.W. **Chocolate, cocoa, and confectionery**. **Science and Technology**, 3^a ed., Chapman & Hall, New York, London, 1989.
- MISNAWI, M.; TEGUH, W. Potencial uses of cocoa beans infested by *Conopomorpha cramerella* for polyphenol extraction. **ASEAN Food Journal**, v. 15, n. 1, p. 27-34, 2008.
- OLIVEIRA, M. L.; LUZ, E.D.M.N. **Identificação e manejo das principais doenças do cacaueiro no Brasil**. Ilhéus, CEPLAC/ CEPEC/SEFIT, 2005. 132p.
- OMOKOLO NDOUMOU, D.; TSALA NDZOMO, G.; DJOCGOUE, P. F. Changes in Carbohydrate, Amino Acid and Phenol Contents in Cocoa Pods from Three Clones after Infection with *Phytophthora megakarya* Bra. and Grif. **Annals of Botany**, v. 77, p. 153 - 158, 1996.

-
- PEREIRA, J. L. Renewed advance of Witches' broom disease of cocoa: 100 years later. In ***Proceedings of the 12th International Cocoa Research Conference***. Salvador, Brasil, Cocoa Producers' Alliance, p. 287-292. 1996.
- PEZOA-GARCÍA, N.H. **Contribution a l'étude d'un capteur por controlar em continu procede de torréfaction**. 170p. 1989. These (Docteur) – Université de Technologie de Compiègne, Compiègne, 1989.
- PINI, G. F., de BRITO, E. D., GARCÍA, N. H. P., VALENTE, A. L. P., AUGUSTO, F. A headspace solid phase microextraction (HS-SPME) method for chromatographic determination of alkylpyrazines in cocoa samples. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 15, n.2, p. 267-271, 2004.
- PINTO, L.R.M.; PIRES, J.L. Seleção de plantas de cacau resistentes à vassoura-de-bruxa. Ilhéus. 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.
- PITT, J.I.; HOCKING, A.D. **Fungi and Spoilage**. London: Blackie Academic & Professional, 593p. 1997
- REIN, D.; LOTITO, S; HOLT, R.R.; KEEN, C.L; SCHMITZ, H.H; FRAGA, C.G. Epicatechin in human plasma: *In vivo* determination and effect of chocolate consumption on plasma oxidation status. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v.130, p.2109–2114, 2000.
- REINECCIUS, G. A., KEENEY, P. G., WEISSBERGER, W. Factors affecting the concentration of pyrazines in cocoa beans. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.20, n.2, p. 202-206, 1972.
- SANBONGI, C.; OSAKABE, N.; NATSUME, M.; TAKIZAWA, T.; GOMI, S., & OSAWA, T. Antioxidative polyphenols isolated from *Theobroma cacao*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 46, n. 2, p. 454-457, 1998.
- SAS INSTITUTE INC. **SAS/STAT User's Guide**. Release. Cary, NC: SAS Institute Inc, 1028p., 1993.
- SCARPARI, L.M.; MEINHARDT, L.W.; MAZZAFERA, P.; POMELLA, A.W.V.; SCHIAVINATO, M.A.; CASCARDO, J.C.M.; PEREIRA, G.A.G. Biochemical changes during the development of witches' broom: the most important disease of cocoa in Brazil caused by *Crinipellis Perniciosa*. **Journal of Experimental Botany**, v. 56, n. 413, p. 865-877, 2005.

- SCHWAN, R.F; LOPEZ, A.; SILVA, D.O. & VANETTI, M.C.D. Influência da frequência e intervalos de revolvimentos sobre a fermentação do cacau e qualidade do chocolate. In: Centro de Pesquisas do cacau. (Itabuna, Bahia, Brasil). **Informe Técnico**. p.22-31, 1990.
- SCHWAN, R. F.; WHEALS, A. E. The microbiology of cocoa fermentation and its role in chocolate quality. **Critical reviews in food science and nutrition**. v. 44, n. 4, p. 205-221, 2004.
- SILWAR, R. Gas chromatographic–mass spectrometric investigation of cocoa aroma. Quantitative determination of steam-volatile aroma constituents. **Café, Cacao, Thé**, v. 32; n.3; p. 243–249, 1988.
- SOARES, M.S. **Estudo do melhoramento do sabor de cacau (*Theobroma cacao* L.) através de ação enzimática durante a fermentação**. 107p. 2001. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2001.
- STEINBERG, F.M.; BEARDEN, M.M.; KEEN, C.L. Cocoa and chocolate flavonoids: Implications for cardiovascular health. **Journal of the American Dietetic Association**, n.2, v.103, p.215-223, 2003.
- TERINK, J. L. & BRANDON, M. J. **Alkalized cocoa powders and foodstuffs containing such powders**. Cacaofabrik de Zaam B.U; Int CI3 A23G 1/00;A23G1/02 NL. 8102377. 14 maio 1981. Patent 4.435.436. 6 março, 1982.
- 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.
- TUCCI, M.L.S; FIGUEIRA, A.; BOVI, M.L.A.; TURATTI, J.M.; GUTIERREZ, L.E.; SAES, L.A. Avaliação de genótipos para produção de manteiga de cacau no Vale do Ribeira, São Paulo, Brasil. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 5, n. 2, p. 1-9, 2002.
- URBANSKI, J.J. Chocolate flavor: origins and descriptions, the effects of process and bean source. **Manufacturing Confectioner**, v. 72, n. 11, p. 69-82, 1992.
- VINSON, J.; PROCH, J.; BOSE, P.; MUCHLER, S.; TAFERA, P.; SHUTA, D.; SAMMAN, N.; AGBOR, G. Chocolate is a powerful ex vivo and in vivo antioxidant, an antiatherosclerotic agent in an animal model and a significant contributor to antioxidants in the European and American diets. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n.21, p. 8071-8076, 2006.

WIAN, J. M; LYNCH, R. W. Method for producing deep red and black cocoa. **Kraft General Foods, Inc; Glenview, Ill;** Int Cl ³ A23L 1/272; A23L 2/38 Dec. 18, 1989. Patent 5.009.917. 23 abril, 1991.

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

CONCLUSÕES FINAIS

- Dois assuntos que envolvem a qualidade de produtos de cacau para a fabricação de chocolates e outros derivados foram estudados. O primeiro consistiu na caracterização de clones de cacaueiro resistentes à vassoura-de-bruxa, desde a fermentação até a obtenção do principal produto de cacau: o chocolate, que têm sido utilizados comercialmente pelos produtores da região sul da Bahia por sua resistência à vassoura-de-bruxa. O segundo avaliou a influência da utilização de frutos de cacau danificados pela vassoura-de-bruxa nas características dos produtos de cacau obtidos. Ambos os assuntos tornam-se comuns ao se concluir sua influência na qualidade dos produtos derivados e destinados ao consumo alimentício;
- Foram verificadas diferenças significativas entre os genótipos avaliados e desses em relação ao cacau Comum, para diversas variáveis estudadas. Algumas avaliações, como a análise sensorial dos chocolates e a análise da dureza da manteiga de cacau indicaram claramente que houve incremento de qualidade desses materiais obtidos por melhoramento genético em relação ao cacau Comum. O contexto atual do mercado de produtos de cacau, principalmente de chocolates, é favorável à melhoria e à preocupação com a qualidade, já que há uma tendência de procura de chocolates *premium*, com sabores particulares e característicos. Por outro lado, a procura por alimentos que tragam benefícios à saúde também é crescente. Com isso, os resultados deste estudo podem contribuir para a escolha de materiais com maiores teores de polifenóis ou com o aproveitamento de frutos de cacaueiro danificados pela vassoura-de-bruxa para a obtenção de polifenóis ao invés de descartá-los ou utilizar suas sementes na fermentação, misturadas às sementes de frutos sadios.

SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Alguns dos clones avaliados neste estudo, considerados resistentes ao fungo causador da vassoura-de-bruxa, estão perdendo a resistência em algumas fazendas cacaueiras da região sul da Bahia, devido a grande capacidade de adaptação do fungo. Isso implica na necessidade de continuidade deste estudo, através da avaliação recorrente de outros materiais que estão sendo selecionados no Programa Brasileiro de Melhoramento Genético de cacau com relação às características físicas, químicas, sensoriais e tecnológicas de relevância destacadas neste trabalho.
- Os frutos de cacaueiro utilizados neste estudo para a caracterização de cultivares foram obtidos por polinização aberta, sendo que os possíveis efeitos de xenia (efeito do doador do pólen), não foram avaliados. Com isso, sugere-se a realização de estudos que investiguem os possíveis efeitos de xenia nas características físicas, químicas, físico-químicas, microbiológicas e sensoriais dos produtos obtidos;
- Estudos com repetições das fermentações, tanto dos cultivares resistentes à vassoura-de-bruxa quanto de sementes danificadas pelo fungo nas safras principal e secundária devem ser realizados visando identificar possíveis influências aos parâmetros e produtos obtidos causadas por variações estacionais;
- A partir dos resultados deste estudo para os nove cultivares e o cacau Comum, sugere-se realizar otimizações, principalmente das etapas de fermentação, secagem e torração para cada material, visando a obtenção do máximo potencial de sabor dos produtos obtidos. Sugere-se que a análise dos compostos voláteis nas mesmas

etapas seja realizada visando diferenciar os materiais e avaliar correlações com a análise sensorial;

- Em relação ao aproveitamento de frutos de cacaueiro danificados pela vassoura-de-bruxa, sugere-se o estudo de métodos de quantificação dos danos causados pelo fungo e a realização de análises de correlação entre as caracterizações realizadas e o grau de danos ou infecção causados pela vassoura-de-bruxa. Estudos complementares são necessários para a avaliação dos teores e tipos de compostos fenólicos encontrados nas sementes danificadas com diferentes graus de danos em comparação com sementes sadias.