



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ**  
**INSTITUTO DE TECNOLOGIA**  
**PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

**CLEIDIANE GONÇALVES E GONÇALVES**

**Avaliação do impacto da fermentação, secagem e torração sobre o perfil dos compostos fenólicos e da capacidade antioxidante de sementes de cacau (*Theobroma cacao* var. Forasteiro) produzidos no Estado do Pará**

**Belém - PA**

**2016**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ**  
**INSTITUTO DE TECNOLOGIA**  
**PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

**CLEIDIANE GONÇALVES E GONÇALVES**

**Avaliação do impacto da fermentação, secagem e torração sobre o perfil dos compostos fenólicos e da capacidade antioxidante de sementes de cacau (*Theobroma cacao* var. Forasteiro) produzidos no Estado do Pará**

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

**ORIENTADOR: Prof. Dr. Jesus Nazareno Silva de Souza**

**Belém - PA**

**2016**

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

Sistema de Bibliotecas da UFPA

Gonçalves, Cleidiane Gonçalves e, 1989-

Avaliação do impacto da fermentação, secagem e torração sobre o perfil dos compostos fenólicos e da capacidade antioxidante de sementes de cacau (*Theobroma Cacao* var. Forasteiro) produzidos no Estado do Pará / Cleidiane Gonçalves e Gonçalves. - 2016.

Orientador: Jesus Nazareno Silva de Souza.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Pará, Instituto de Tecnologia, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Belém - PA, 2016.

1. Fermentação. 2. Fenóis. 3. Antioxidantes. 4. Cacau - Secagem. I. Título.

CDD 22. ed. 664.024

**CLEIDIANE GONÇALVES E GONÇALVES**

**Avaliação do impacto da fermentação, secagem e torração sobre o perfil dos compostos fenólicos e da capacidade antioxidante de sementes de cacau (*Theobroma cacao* var. Forasteiro) produzidos no Estado do Pará**

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

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

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

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

**BANCA EXAMINADORA**

---

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

---

**Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Consuelo Lucia Souza de Lima**  
(PPGCTA/ITEC/UFPA - Membro Interno)

---

**Prof. Dr. Hervé Louis Ghislain Rogez**  
(PPGBIOTEC/ICB/UFPA - Membro externo)

---

**Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Christelle Anne Nicole Paule Herman**  
(PPGBIOTEC/ICB/UFPA - Membro externo)

*Dedico este trabalho aos meus pais, Maria do Socorro e Raimundo Martins, que sempre me proporcionaram além de amor e carinho, os conhecimentos da integridade, da perseverança e de procurar sempre em Deus a força maior para o meu desenvolvimento como ser humano.*

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

*Augusto Cury*

*“Todos os nossos sonhos podem tornar-se  
realidade se tivermos a coragem de perseguir-  
los, a diferença entre o possível e o impossível  
está na determinação de cada um de nós”*

*(Walt Disney)*

## **AGRADECIMENTOS**

*À Deus pelo dom da vida, por sempre iluminar minha vida direcionando meus caminhos e pelas coisas boas e não boas que ajudaram a me fortalecer diante das dificuldades.*

*Aos meus pais, Raimundo Martins e Maria do Socorro, pelo amor incondicional, por acreditarem em mim e sempre me apoiarem na busca dos meus objetivos fazendo o possível para que eu conseguisse realizá-los.*

*Aos meus irmãos, por me ajudarem e estarem presentes na minha vida torcendo por mim, pelo apoio incondicional.*

*Ao meu namorado Denílson pela amizade, companheirismo, pelos momentos de felicidade e de aprendizado, por estar sempre ao meu lado segurando minha mão, me apoiando, e pelo intenso amor.*

*Ao professor Jesus por ter dado essa oportunidade, pela confiança e por ter me orientado nesse trabalho através do compartilhamento de seus conhecimentos.*

*Ao professor Hervé por ter me acolhido junto a sua equipe desde a graduação e pela grande contribuição na construção desse trabalho.*

*As pessoas que também me ajudaram nessa etapa, em especial ao Wesley, Rosiane, Mayumi, Christelle, Cláudio e Aécio. Agradeço também aos demais integrantes da equipe CVACBA que de forma direta ou indireta participaram dessa construção.*

*Aos produtores e agricultores de cacau dos municípios de Medicilândia, Placas e Tomé-Açu, e em especial a família Konagano que me acolheu com muito carinho em sua residência auxiliando na primeira etapa deste trabalho.*

*Ao CNPQ, FAPESP e Fundo Amazônia pelo apoio financeiro.*

## RESUMO

No Estado do Pará a cacauicultura está em expansão e é explorada basicamente por pequenos produtores, entretanto existem poucos estudos científicos sobre a qualidade do cacau (*Theobroma cacao* L.) amazônico, principalmente relacionados aos compostos fenólicos. Em função destes compostos, produtos derivados desta semente atuam benéficamente à saúde. Porém, parte desses compostos se perdem durante as etapas de processamento, principalmente durante a fermentação, secagem e torração. A origem do cacau também pode influenciar na concentração desses compostos. Nesse estudo foi avaliada a concentração de compostos fenólicos e capacidade antioxidante de amêndoas de cacau que foram submetidas a diferentes condições de processamento provenientes dos municípios de Tomé-Açu, Medicilândia e Placas entre os principais produtores de cacau do Estado do Pará. Foi verificado que as amêndoas fermentadas a partir de 4 dias, nos leitos de 40 e 60 cm, apresentavam-se com coloração marrom e bem compartimentadas, indicando uma boa fermentação. O processo de secagem garantiu boa estabilidade para o armazenamento, com exceção das amêndoas secas em Placas que apresentaram umidade acima do permitido pela legislação. Não houve diferença significativa em relação a concentração dos compostos fenólicos e capacidade antioxidante entre as diferentes condições de quebra do fruto, alturas de leito e dias de fermentação, e secagens em lona e barçaça. O aumento da temperatura teve maior influência na concentração dos compostos fenólicos devido o aumento da (+)-catequina e diminuição dos demais compostos fenólicos. As amêndoas obtidas nos municípios de Tomé-Açu e Placas apresentaram maior concentração dos compostos fenólicos e capacidade antioxidante, pelos métodos FC e DPPH, no 4º dia de fermentação e o município de Medicilândia no 7º dia de fermentação. Houve um aumento na concentração dos compostos (+)-catequina, (-)-epicatequina e Procianidina B2 após a secagem das amêndoas nos diferentes municípios. Os compostos fenólicos e capacidade antioxidante apresentaram correlação entre si para  $p < 0,005$ , com exceção do composto (+)-dihidrocaemferol que correlacionou apenas com os compostos fenólicos e não teve correlação com o método ORAC para  $p < 0,05$ . Logo, para uma boa qualidade de amêndoa foi observado que em 4 dias apresentou melhores condições de fermentação, determinada pelo teste de corte, maior concentração de compostos fenólicos e capacidade antioxidante nos municípios estudados, e o processo de torração apresentou melhores condição em temperaturas mais baixas devido ao possível processo de epimerização da (+)-catequina e a degradação dos demais compostos fenólicos a temperaturas mais elevadas.

## ABSTRACT

In the state of Pará the cocoa production is expanding and is exploited mainly by small farmers, however there are few scientific studies about quality of the cocoa (*Theobroma cacao* L.) amazonian, mainly related to phenolic compounds. Due to these compounds, derivatives products of this seed improve the health. However, some of these compounds are deteriorated during the processing steps, especially during fermentation, drying and roasting. The cocoa origin may also influence the concentration of these compounds. In this study was evaluated the concentration of phenolic compounds and antioxidant capacity of cocoa almond that were submitted to different processing conditions. The almonds are from of Tomé-Açu, Medicilândia and Placas, these municipalities are among the main producers of cocoa at state of Pará. It was observed that fermented almond from 4 days, in beds of 40 and 60 cm, presented brown coloration and well compartmentalized, indicating good fermentation. The drying process ensured good stability for storage, with the exception of dried almonds on Placas that presented humidity above of the permitted by law. There was no significant difference in the concentration of phenolic compounds and antioxidant capacity between different conditions of the break fruit, bed height and days of fermentation and drying on canvas and barge. The temperature increase had greatest influence on the concentration of phenolic compounds due to the increase of (+)-catechin and reduction of other phenolic compounds. Almonds obtained in the municipalities of Tomé-Açu and Placas showed higher concentration of phenolic compounds and antioxidant capacity by FC and DPPH methods, on the 4<sup>th</sup> day of fermentation and the municipality of Medicilândia on the 7<sup>th</sup> day of fermentation. There was an increase in the concentration of the compounds (+) - catechin, (-)-epicatechin and Procyanidin B2 after drying of the almonds in different municipalities. The phenolic compounds and antioxidant capacity showed correlation for  $p < 0.005$ , with exception of the compound (+)-dihydrokaempferol that correlated only with phenolics compounds and had no correlation with the ORAC method for  $p < 0.05$ . Therefore, for good quality of the almond was observed that in four days showed better fermentation conditions, determined by the cutting test, the highest concentration of phenolic compounds and antioxidant capacity in the municipalities studied, and the roasting process showed better condition at lower temperatures due to a possible epimerization process of (+)-catechin and degradation of other phenolic compounds at higher temperatures.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura de um flavonoide.....	21
Figura 2. Etapas do processamento do cacau. ....	28
Figura 3. Condições de tempo e temperatura utilizados no processo de torração, o ponto em destaque foi realizado em triplicata. ....	30
Figura 4. Determinação da coloração e grau de compartimentação, através do teste de corte, após a secagem das amêndoas de cacau submetidas a diferentes dias de fermentação e alturas de leito de a) 60 cm e b) 40 cm.....	35
Figura 5. Determinação da coloração e grau de compartimentação, através do teste de corte, das amêndoas de cacau submetidas a diferentes dias de fermentação secas em a) barça e b) lona. ....	38
Figura 6. Influência do tempo e temperatura na concentração dos compostos fenólicos: a) (+)-catequina; b) (-)-epicatequina.....	43
Figura 7. Gráfico de Pareto referente a influência dos tempos e temperaturas de torração na concentração de a) (+)-catequina, b) (-)-epicatequina, c) quercetina-3-glicosídeo e d) procianidina B2 .....	44
Figura 8. Determinação da coloração e grau de compartimentação, através do teste de corte, das amêndoas de cacau quebradas logo após a colheita (0h) e quebradas 48h após a colheita. ....	45
Figura 9. Determinação da coloração e grau de compartimentação, através do teste de corte, das amêndoas de cacau obtidas nos municípios de Tomé-Açu, Medicilândia e Placas.....	48

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Produção de amêndoas de cacau no Brasil, safra 2014. ....	17
Tabela 2. Produção de amêndoas de cacau no estado do Pará, safra 2014. ....	17
Tabela 3. Compostos fenólicos identificados nas sementes e amêndoas de cacau. ....	22
Tabela 4. Condições de fermentação e secagem das amêndoas de cacau realizadas nos municípios de Tomé-Açu, Medicilândia e Placas. ....	29
Tabela 5. Avaliação da concentração dos compostos fenólicos (mg/gNS) e capacidade antioxidante, FC (mgEC/gNS), DPPH e ORAC ( $\mu\text{molET/gNS}$ ), das amêndoas de cacau submetidas a diferentes dias de fermentação em leitos de altura de 60 cm e 40 cm. ....	37
Tabela 6. Avaliação da concentração dos compostos fenólicos (mg/gNS) e capacidade antioxidante, FC (mgEC/gNS), DPPH e ORAC ( $\mu\text{molET/gNS}$ ), das amêndoas de cacau após a secagem em barcaça e lona. ....	39
Tabela 7. Avaliação da concentração dos compostos fenólicos (mg/gNS) das amêndoas de cacau submetidas a diferentes tempos e temperatura de torração. ....	41
Tabela 8. Avaliação da concentração dos compostos fenólicos (mg/gNS) e capacidade antioxidante, FC (mgEC/gNS), DPPH e ORAC ( $\mu\text{molET/gNS}$ ), das amêndoas de cacau após diferentes condições de repouso do fruto antes de sua quebra. ....	46
Tabela 9. Avaliação da concentração dos compostos fenólicos (mg/gNS) e capacidade antioxidante, FC (mgEC/gNS), DPPH e ORAC ( $\mu\text{molET/gNS}$ ), das amêndoas obtidas nos municípios de Tomé-Açu, Medicilândia e Placas. ....	49
Tabela 10. Correlação entre os compostos fenólicos e capacidade antioxidante determinada pelo método FC, DPPH e ORAC. ....	50

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>13</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>15</b>
2.1	OBJETIVO GERAL .....	15
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	15
<b>3</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>16</b>
3.1	O CACAU .....	16
3.2	PRÉ-PROCESSAMENTO DO CACAU .....	18
3.2.1	Fermentação .....	18
3.2.2	Secagem .....	19
3.2.3	Torração .....	19
3.3	COMPOSTOS FENÓLICOS PRESENTES NO CACAU .....	20
3.3.1	Flavonoides .....	21
3.3.2	Proantocianidinas .....	23
3.3.3	Ácidos fenólicos .....	23
3.4	INFLUÊNCIA DO PRÉ-PROCESSAMENTO NA CONCENTRAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS .....	24
3.4.1	Fermentação .....	24
3.4.2	Secagem .....	25
3.4.3	Torração .....	25
3.5	QUANTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS .....	26
<b>4</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>28</b>
4.1	COLHEITA E PRÉ-PROCESSAMENTO DO CACAU .....	28
4.1.1	Colheita e quebra dos frutos .....	28
4.1.2	Processos de fermentação e secagem das sementes .....	29
4.1.3	Torração .....	30
4.2	CARACTERIZAÇÃO DAS AMÊNDOAS .....	31
4.2.1	Teste de corte das amêndoas secas .....	31
4.2.2	Determinação da umidade .....	31
4.3	PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS (NIBS) .....	31
4.4	OBTENÇÃO DO EXTRATO BRUTO PARA DETERMINAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS E DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE .....	31
4.5	DETERMINAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE .....	32

4.5.1	Método de Folin-Ciocalteu (FC) .....	32
4.5.2	Método 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH).....	32
4.5.3	Método Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC).....	32
4.6	IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS POR HPLC/DAD .....	33
4.6.1	Extração em fase sólida .....	33
4.6.2	Sistema cromatográfico (HPLC/DAD) .....	33
4.7	ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	34
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>35</b>
5.1	EVOLUÇÃO DA FERMENTAÇÃO E SECAGEM EM FUNÇÃO DO TEMPO E DA ALTURA DO LEITO DE FERMENTAÇÃO .....	35
5.2	COMPARAÇÃO ENTRE A SECAGEM EM LONA E BARCAÇA NA QUALIDADE DAS AMÊNDOAS DE CACAU .....	38
5.3	VARIAÇÃO DO TEMPO E TEMPERATURA DE TORRAÇÃO.....	40
5.4	INFLUÊNCIA DOS DIFERENTES TEMPOS DE ARMAZENAMENTO DOS FRUTOS ANTES DA QUEBRA NA QUALIDADE DAS AMÊNDOAS .....	45
5.5	INFLUÊNCIA DE DIFERENTES POLOS PRODUTORES DE CACAU DO ESTADO DO PARÁ NA QUALIDADE DA AMÊNDOA.....	47
5.6	CORRELAÇÃO ENTRE CAPACIDADE ANTIOXIDANTE E COMPOSTOS FENÓLICOS .....	50
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>52</b>
<b>7</b>	<b>REFERENCIAS .....</b>	<b>53</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A semente de cacau é a principal matéria-prima para a produção de chocolate. O cacauieiro (*Theobroma cacao L.*) é cultivado em plantações nas regiões tropicais em todo o mundo (AFOAKWA et. al., 2008).

Durante muitos anos, a produção e comercialização de cacau fazem parte da economia de alguns estados brasileiros, em especial a Bahia. A drástica redução da produção nacional de cacau, ainda se recuperando das perdas impostas pela disseminação generalizada da vassoura-de-bruxa na tradicional região cacauieira da Bahia, abriu uma janela de oportunidade para a expansão da cacauicultura no estado do Pará. A cacauicultura paraense é explorada basicamente por pequenos produtores, predominantemente, em solos de média a alta fertilidade. Entre os municípios tem-se o destaque para Tomé-Açu, Medicilândia e Placas (CEPLAC, 2011a).

As sementes de cacau contêm concentrações elevadas de vários compostos fenólicos, entre 6 a 10% da amêndoa fermentada e seca (RUSCONI e CONTI, 2010; CROZIER et al., 2011). O grande interesse em compostos fenólicos está relacionado aos benefícios que estes trazem, pois, o consumo regular de alimentos ricos em compostos fenólicos previne doenças degenerativas como câncer, aterosclerose e diabetes. Além disso, os compostos fenólicos apresentam uma ampla faixa de atividades biológicas, incluindo atividades antioxidante, antimicrobiana e neuro-proteção (JAGANATH e CROZIER, 2010).

Além dos flavanóis, tais como, catequina, epicatequina e seus dímeros procianidina, B1 e B2, que são os principais compostos presentes no cacau, outros compostos fenólicos já foram identificados em sementes ou produtos de cacau, como procianidina A2, A3, B5, C1 e D, ácidos fenólicos e quercetina, luteolina, apigenina, caempferol, naringenina, cianidinas, e seus glicosídeos (SÁNCHEZ-RABANEDA et al., 2003; COOPER et al., 2007; KOTHE, ZIMMERMANN e GALENSA, 2013; IOANNONE et al., 2015; ESATBEYOGLU, WRAY e WINTERHALTER, 2015).

Para obter as características sensoriais desejadas, com a diminuição do sabor desagradável e adstringente das sementes de cacau *in natura*, é necessário fazer a fermentação, secagem e torração destas sementes (BECKETT, 2009). Entretanto as diferentes etapas de transformação, até obtenção do chocolate e outros produtos, influenciam no teor de compostos fenólicos dos produtos finais (RAMIREZ-SANCHEZ et al., 2010).

Na etapa de fermentação há a formação de compostos como o etanol, ácido lático e ácido acético, que levam a morte do embrião (é a partir desse momento que as sementes

passam a ser chamadas de amêndoas). Mudanças na estrutura da semente fazem com que as enzimas entrem em contato com seus substratos dando início a oxidação dos compostos fenólicos.

A etapa de secagem é aplicada para reduzir a umidade das amêndoas. Durante a secagem, também ocorre a diminuição do teor de compostos fenólicos, atribuída, entre outros, a enzima polifenoloxidase que, nessa etapa, encontra condições ideais para sua atividade (BRITO, 2000).

A torração completa as reações químicas responsáveis pelo desenvolvimento de aroma de chocolate, iniciados durante a fermentação, e é uma etapa crítica para assegurar a qualidade do cacau (VOIGT, 2013). Além disso, a torração também afeta a capacidade dos compostos fenólicos de interagir com as proteínas, causando uma diminuição na adstringência (MISNAWI, JAMILAH e NAZAMID, 2005).

Existem poucas pesquisas em relação ao perfil e concentração dos compostos fenólicos, capacidade antioxidante e qualidade das amêndoas de cacau provenientes dos municípios pertencentes a região Amazônica. Além disso, os municípios de Tomé-Açu, Medicilândia e Placas não apresentam padrão de pré-processamento das amêndoas de cacau e com isso há a desvalorização do seu produto junto ao mercado nacional e internacional.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a influência de diferentes condições de fermentação, secagem e torração das amêndoas de cacau amazônico (*Theobroma cacao* L var. Forasteiro) na concentração dos compostos fenólicos e na capacidade antioxidante.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Estudar o impacto dos diferentes processamentos das sementes de cacau sobre os compostos fenólicos e capacidade antioxidante em função das seguintes variáveis:

- Tempo entre a colheita e quebra dos frutos;
- Altura do leito e tempo de fermentação;
- Secagem em lona e barcaça;
- Tempo e temperatura de torração;
- Origem do cacau produzido no Estado do Pará (Tomé-Açu, Medicilândia e Placas).

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 O CACAU

*Theobroma cacao* L. é uma espécie nativa das florestas tropicais da América Central e do Sul. O cacauero começa a produzir aos 4 anos, atingindo plena produtividade aos 12 anos e produz, em média, até 35 anos. A época de colheita é variável nas zonas cacaueras. No Brasil a safra vai de maio a setembro. O fruto é composto por casca, polpa e sementes. A relação peso/volume do fruto é 1:2, sendo que a casca representa 75% do total (OETTERER, 2006).

A composição das amêndoas é altamente variável, dependendo das condições de cultivo, genética, fermentação, secagem, torração, manuseio durante o transporte e armazenamento (AFOAKWA et al., 2008). Os componentes de armazenamento nos cotilédones consistem em aproximadamente, 50% de gordura, 15% de compostos fenólicos, 12% de proteína e 7% de carboidratos (KADOW et al., 2013).

Os produtos derivados do cacau encontrados no mercado são produzidos a partir de três principais variedades: *Criollo* tradicional (fino ou de aroma), *Forasteiro* e seu híbrido natural *Trinitário* (mistura de *Criollo* com *Forasteiro*) (HII et al., 2009a).

Globalmente, os principais países produtores de cacau são Costa do Marfim, Gana, Indonésia, Nigéria, Camarões, Brasil e Equador (TEYE et al., 2013).

O Brasil é o sétimo maior produtor de cacau do mundo (ICCO, 2015), sendo que a produção de cacau brasileira está distribuída nas regiões: nordeste, Bahia (100%); sudeste, Espírito Santo (97%) e Minas Gerais (3%); Centro-Oeste, Mato Grosso (100%); e Norte, Pará (93%) Rondônia (5%) e Amazonas (2%) (IBGE, 2014).

A região sudeste da Bahia é a maior região produtora de amêndoas de cacau no Brasil, Tabela 1, no entanto apresenta baixo rendimento médio em relação ao Estado do Pará. O Pará está se destacando na produção de cacau nos últimos anos, já é o segundo maior produtor de amêndoas do Brasil e o primeiro em produtividade (861 kg/ha), Tabela 1. Por isso a cacauicultura é uma grande alternativa para o desenvolvimento sustentável da Amazônia, considerando seu baixo custo produtivo, suas características preservacionistas, a utilização de sistemas agroflorestais e grande contingente de agricultores de base familiar (IBGE, 2014).

**Tabela 1.** Produção de amêndoas de cacau no Brasil, safra 2014.

Estado	Área colhida (hectares)	Quantidade produzida (toneladas)	Rendimento médio (quilogramas por hectare)	Valor da produção (mil reais)
Bahia	547220	161096	294	873545
Espírito Santo	22044	4300	195	26537
Minas Gerais	218	120	550	750
Mato Grosso	888	582	655	2321
Pará	116532	100293	861	650899
Rondônia	13984	5231	374	26581
Amazonas	3031	2169	716	8894

Fonte: IBGE 2014

Na Tabela 2 tem-se destaque para o município de Medicilândia como maior produtor entre os municípios do Estado do Pará. Placas é o terceiro maior produtor enquanto que Tomé-Açu apresenta baixa produção em relação aos outros municípios estudados.

Esses municípios apresentam alta produtividade, entretanto existe o problema do valor pago aos produtores destas regiões o qual é inferior aos valores pagos em outras regiões do país gerando perdas significativas para o produtor (AMIN e SEABRA, 2009). Este fato está relacionado, principalmente, ao beneficiamento inadequado das amêndoas, produzindo uma amêndoa de qualidade inferior (MENDES e REIS, 2006) e a falta de organização e de capital dos produtores de cacau que comercializam, muitas vezes, a produção de forma individual e antecipada aos poucos agentes existentes na região (AMIN e SEABRA, 2009).

**Tabela 2.** Produção de amêndoas de cacau no estado do Pará, safra 2014.

Município	Área colhida (hectares)	Quantidade produzida (toneladas)	Rendimento médio (quilogramas por hectare)	Valor da produção (mil reais)
Medicilândia	36713	41890	1141	291136
Placas	7400	6660	900	37030
Tomé-Açu	3100	2298	741	14340

Fonte: IBGE 2014

## 3.2 PRÉ-PROCESSAMENTO DO CACAU

### 3.2.1 Fermentação

A fermentação da polpa, que envolve as sementes, representa um passo fundamental na transformação do cacau para o desenvolvimento do sabor do chocolate devido ocorrer, nessa etapa, a produção de precursores de aroma (LIMA et al., 2011). O cacau é geralmente fermentado utilizando caixas de madeira, durante 2-8 dias, dependendo da variedade e das condições do cacau, além de caixas de madeira, a fermentação também pode ser realizada em bandejas e montes (HII, LAW e CLOKE, 2009).

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

Os micro-organismos que são transferidos para as sementes através das mãos de trabalhadores, ferramentas usadas para cortar o fruto e os recipientes utilizados para a realização do processo de fermentação irão contribuir para a degradação da polpa que envolve as sementes, e, com isso, produzir uma variedade de produtos metabólicos. Nos primeiros dias de fermentação ocorre a fermentação alcoólica, realizada por leveduras que convertem os açúcares, presentes na polpa, em etanol. Na fermentação acética as bactérias acéticas transformam o etanol em ácido acético. O calor e a concentração de ácido acético causam a morte do embrião da semente com consequente perda da permeabilidade seletiva das membranas. Além disso, também ocorre a fermentação láctica, conduzida principalmente por bactérias lácticas que produzem ácido láctico a partir de açúcares (NIELSEN et al., 2007).

Durante a fermentação das sementes acontecem várias reações químicas, como por exemplo, a diminuição do teor de proteínas bruto devido a digestão proteolítica e o aumento no teor de aminoácidos livres (KRAHMER et al., 2015).

Brito (2000) verificou que após 72 h de fermentação houve um aumento em todos os aminoácidos exceto tirosina e lisina. Nas amêndoas secas, foram detectados valores mais elevados de aminoácidos quando comparados com os das sementes não fermentadas, exceto para o ácido glutâmico e prolina. A torração promoveu a diminuição de todos os aminoácidos livres com exceção do ácido glutâmico. A redução foi menor no teor de lisina e o maior em histidina.

### 3.2.2 Secagem

Após a fermentação, uma etapa de secagem é aplicada para reduzir o teor de umidade e atividade de água das amêndoas de cacau para garantir maior estabilidade durante o armazenamento (DI MATTIA et al., 2013).

No final da fermentação, as sementes de cacau contêm 40-60% de umidade e devem ser secas para a estabilidade microbiana (NIELSEN, CRAFACK, JAKOBSEN, 2013). Após a secagem, as amêndoas de cacau devem ter teor de umidade máxima de 8% (BRASIL, 2008a).

A etapa de secagem deve ser iniciada imediatamente após a fermentação e deve ser adequadamente conduzida para evitar o desenvolvimento de fungos, que podem afetar o desenvolvimento do sabor característico de chocolate, além de causarem danos à saúde. Muitas das reações bioquímicas iniciadas na fermentação continuam durante a secagem, permitindo a redução do amargor, da adstringência e da acidez das amêndoas, além do escurecimento dos cotilédones, contribuindo com a formação dos precursores de sabor desejáveis do chocolate (BECKETT, 2009).

A secagem natural, realizada ao sol, é uma operação simples e bastante utilizada em fazendas cacaeiras. No Brasil, é normalmente realizada em plataformas de madeira, denominadas barcaças, onde as sementes são espalhadas e frequentemente revolvidas para propiciar uniformização e redução da umidade e para a remoção de compostos indesejáveis formados durante a fermentação, como por exemplo, o ácido acético. Em dias de chuva ou quando o espaço disponível nas barcaças não é suficiente para comportar o volume de produção, tem-se como alternativa a secagem artificial (EFRAIM et al., 2010).

Além disso, em pequenas propriedades de baixo potencial de produção, é comum o uso de lonas estendidas em superfícies de boa exposição ao sol e que permitem uma boa manipulação (CEPLAC, 2011b).

### 3.2.3 Torração

A torração é fundamental para o desenvolvimento do sabor e aparência das amêndoas de cacau durante o processamento industrial. A escolha das condições de torração depende da variedade e qualidade do cacau, das condições de cultivo e processamento após a colheita (KRYSIK e MOTYL-PATELSKA, 2006).

A escolha da combinação de tempo/temperatura é uma das variáveis do processo mais importante e pode ser frequentemente utilizada a fim de aumentar as propriedades

funcionais de alguns alimentos. As condições de torração das amêndoas de cacau podem variar de 15 a 45 minutos com temperaturas de 110 - 220°C (CALIGIANI, CIRLINI e PALLA, 2007; KRYSIAK, ADAMSKI e ŻYŻELEWICZ, 2013).

A torração caracteriza-se pelos seguintes fenômenos: desenvolvimento do aroma e cor típico de chocolate principalmente pela reação de Maillard; redução dos teores dos ácidos voláteis, principalmente ácido acético; inativação das enzimas capazes de degradar a manteiga de cacau; redução do teor de água das amêndoas, de 8% para 2% aproximadamente; mudança da textura dos cotilédones (mais quebradiça) (QUEIROZ, 1999).

Os precursores de sabor são desenvolvidos durante fermentação e secagem das amêndoas de cacau, o que inclui aminoácido livre, peptídeos e açúcares redutores, contribuindo para o desenvolvimento do aroma específico do cacau através da reação de Maillard durante a torração (MISNAWI e TEGUH, 2010).

No estudo de Redgwell, Trovato e Curti (2003) foi verificado que as concentrações de glicose e frutose diminuíram após a torração das amêndoas de cacau, mas os níveis de sacarose, rafinose, estaquiose e verbascose, não foram significativamente afetados. A torração promove uma interação entre polissacarídeos, proteínas, compostos fenólicos e produtos da reação de Maillard.

Além disso, durante o aquecimento de alimentos podem ser formados compostos como, por exemplo, o hidroximetilfurfural que possui possível efeito nocivo a saúde e foi verificado por Sacchetti et al. (2016), um aumento exponencial em sua concentração em relação ao aumento do tempo de torração das amêndoas de cacau, no entanto, o conteúdo final foi baixo (0,1-0,8 g/kg). Foi observado que processos que envolvem alta temperatura em curto período de tempo minimizam a formação do hidroximetilfurfural. A sua concentração não foi considerada dependente da temperatura.

### 3.3 COMPOSTOS FENÓLICOS PRESENTES NO CACAU

Os compostos fenólicos são produtos do metabolismo secundário de muitas plantas e desempenham um papel importante, por exemplo, na defesa contra microrganismo, proteção contra a radiação ultravioleta, atrativo de agentes polinizadores, entre outros. A presença de compostos fenólicos nas plantas é dependente de vários fatores, incluindo grau de maturação, variedade, reações de estresse (ARLORIO et al., 2008).

Estudos epidemiológicos mostraram que os produtos derivados do cacau podem reduzir o risco de doença cardiovascular. O efeito, relacionado à saúde, tem sido atribuído,

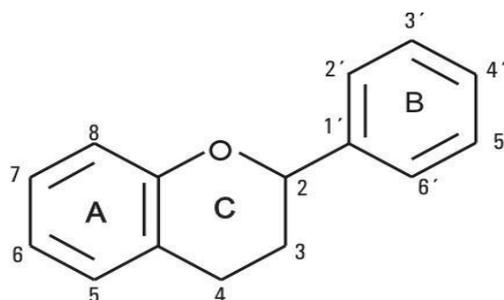
principalmente, aos seus compostos fenólicos e metilxantinas. Os flavanols, compostos fenólicos presente no cacau, foram relatados em muitos estudos como compostos bioativos com potenciais benefícios para a saúde no combate a várias doenças crônicas, incluindo a inflamação, doença cardiovascular e doenças neurodegenerativas (DONOVAN et al., 2012).

Em geral, os compostos fenólicos compreendem uma ampla variedade de moléculas que têm uma estrutura de polifenol (isto é, vários grupos hidroxilos em anéis aromáticos), mas também existem moléculas com apenas um anel de fenol, tais como os ácidos fenólicos. Os compostos fenólicos são divididos em várias classes de acordo com o número de anéis fenólicos que eles contêm e aos elementos estruturais que ligam estes anéis uns aos outros. Os principais grupos de compostos fenólicos são: flavonoides, ácidos fenólicos, taninos (hidrolisáveis e condensados), estilbenos e as lignanas (D'ARCHIVIO et al., 2007).

Os compostos fenólicos encontrados no cacau pertencem aos grupos dos flavonoides, ácidos fenólicos e taninos condensados ou procianidinas, Tabela 3.

### 3.3.1 Flavonoides

Os flavonoides, Figura 1, encontrados no cacau, pertencem aos grupos dos flavanóis, flavonóis, flavonas, flavanonas e antocianinas.



**Figura 1.** Estrutura de um flavonoide.

Os flavanóis existem tanto na forma de monômero (catequinas) e a forma de polímero (proantocianidinas). A catequina e epicatequina são os principais flavanóis em frutas (ARTS, VAN DE PUTTE e HOLLMAN, 2000). A (-)-epicatequina é quantitativamente o principal composto fenólico presente no cacau (cerca de 35% de teor de compostos fenólicos do cacau Forasteiro não fermentado) (SHAHIDI e NACZK, 2003).

**Tabela 3.** Compostos fenólicos identificados nas sementes e amêndoas de cacau.

	<b>Compostos Fenólicos</b>	<b>Referencia</b>
	(-)-Epicatequina; (+)-catequina	Counet e Collin (2003); Sánchez-Rabaneda et al. (2003); Stark, Bareuther e Hofmann (2005); Niemenak et al. (2006); Cooper et al. (2007); Andres-Lacueva et al. (2008); Belščak et al. (2009); Elwers et al. (2009); Aikpokpodion e Dongo (2010); Ortega et al. (2010); Jolić et al. (2011); Kothe, Zimmermann e Galensa (2013); Ioannone et al. (2015).
	Epigallocatequina	Belščak et al. (2009); Elwers et al. (2009); Jolić et al. (2011); Ioannone et al. (2015).
	Galocatequina	Belščak et al. (2009); Ioannone et al. (2015).
	Caempferol; caempferol-3-O-glucosideo; caempferol-3-Orutinoside; caempferol-7-O-neohesperidoside	Sánchez-Rabaneda et al. (2003); Taeye et al. (2014).
<b>Flavonoides</b>	Quercetina; quercetina3--arabinosido; quercetina-3-glucosideo; quercetina-3-galactosideo; isoquercetina; quercetina-3-rutinosideo.	Sánchez-Rabaneda et al. (2003); Stark, Bareuther e Hofmann (2005); Andres-Lacueva et al. (2008); Elwers et al. (2009).
	Naringenina; naringenina-7-O-glucosideo	Sánchez-Rabaneda et al. (2003); Stark, Bareuther e Hofmann (2005).
	Luteolina; luteolina-6-C-glucosideo; luteolina-8-C-glucosideo; luteolina-7-O-glucosideo	Sánchez-Rabaneda et al. (2003); Stark, Bareuther e Hofmann (2005).
	Apigenina; apigenina glicopiranosideo; apigenina-7-O-glucosideo; apigenina-6-C-glucosideo; apigenina-8-C-glucosideo	Sánchez-Rabaneda et al. (2003); Stark, Bareuther e Hofmann (2005).
	Cianidina 3-o-β-D-galactoside; cianidina 3-o-α-L-arabinoside	Niemenak et al. (2006); Elwers et al. (2009).
	Procianidina A2: (-)-epicatequina-2O-7,4β-8(-)-epicatequina	Taeye et al. (2014); Esatbeyoglu, Wray e Winterhalter (2015).
	Procianidina A3:(-)-Epicatequina-48(-)-epicatequina-4β(-)-epicatequina-4β(-)-epicatequina-48(-)-epicatequina	Esatbeyoglu, Wray e Winterhalter (2015).
	Procianidina B1: (-)-epicatequina-4β-8(+)-catequina	Jolić et al. (2011); Kothe, Zimmermann e Galensa (2013); Taeye et al. (2014).
<b>Taninos condensados ou Procianidinas</b>	Procianidina B2: (-)-epicatequina-4β-8(-)-epicatequina	Cooper et al. (2007) ; Belščak et al. (2009); Ortega et al. (2010); Jolić et al. (2011); Kothe, Zimmermann e Galensa (2013); Taeye et al. (2014)
	Procianidina B5:(-)-epicatequina-4β-6(-)-epicatequina	Cooper et al. (2007); Kothe, Zimmermann e Galensa (2013); Esatbeyoglu, Wray e Winterhalter (2015).
	Procianidina C1: (-)-epicatequina-4β-8(-)-epicatequina-4β-8(-)-epicatequina	Stark, Bareuther e Hofmann (2005); Cooper et al. (2007); Taeye et al. (2014); Esatbeyoglu, Wray e Winterhalter (2015).
	Procianidina D: (-)-epicatequina-4β-8(-)-epicatequina-4β-8(-)-epicatequina-4β-8(-)-epicatequina	Cooper et al. (2007).
	Procianidina P1-P10	Counet et al. (2004); Di Mattia et al. (2013); Ioannone et al. (2015).
<b>Ácidos Fenólicos</b>	Ác. ferrulico; Ác. protocatecuico; Ác. Siringico; Ác. vanílico; Ác. propionico; Ác. galico; Ác. cafeico; Ác. p-cumarico; Ác. clorogenico	Sanchez-Rabaneda et al. (2003); Belščak et al. (2009); Elwers et al. (2009).

Estudos sugerem que, durante a fabricação de chocolates, ocorram reações de epimerização da (-)-epicatequina, a qual se transforma em (-)-catequina, composto não encontrado naturalmente nas sementes de cacau. Cooper et al. (2007) encontraram teores mais altos de (-)-catequina em relação a (+)-catequina em 68 amostras comerciais de chocolate, o que poderia afetar a biodisponibilidade dos flavanóis dos produtos de cacau, uma vez que a (-)-catequina apresenta menor biodisponibilidade que a (+)-catequina.

Entre os flavonóis encontrados por Andres-Lacueva et al. (2008), a quercetina-3-arabinosídeo e isoquercetina foram os principais flavonóis nos produtos de cacau em pó, variando de 2,10 a 40,33 $\mu\text{g/g}$ , e 3,97 a 42,74 $\mu\text{g/g}$ , respectivamente, seguido de quercetina-3-glucuronídeo (0,13 a 9,88 $\mu\text{g/g}$ ) e quercetina aglicona (0,28 a 3,25 $\mu\text{g/g}$ ).

As flavanonas são caracterizadas pela presença de uma cadeia de três carbonos saturada e um átomo de oxigênio no carbono 4. Elas são geralmente glicosiladas por um dissacarídeo no carbono 7 (IGNAT, VOLF e POPA, 2011).

As antocianinas são pigmentos dissolvidos na seiva vacuolar dos tecidos epidérmicos de flores e frutas e conferem cor rosa, vermelho, azul ou roxo (MAZZA e MANIATI, 1993). Elas existem em diferentes formas químicas, tanto coloridos e sem cor, de acordo com o pH.

### **3.3.2 Proantocianidinas**

As procianidinas, uma classe específica de proantocianidinas, são compostas exclusivamente dos monômeros epicatequina e catequina. O peso molecular ou o tamanho de um oligômero de procianidina é expresso de acordo com seu grau de polimerização e são referidos como dímeros, trímeros, tetrâmeros, etc. (PORTER, 1988).

Procianidinas individuais que foram identificados no cacau incluem dímeros (B1, B2, B4 e B5), trímeros (C1), tetrâmeros (A1), até decâmeros (TOMÁS-BARBERÁN, BORGES e CORZIER, 2012).

### **3.3.3 Ácidos fenólicos**

Duas classes de ácidos fenólicos podem ser distinguidas em função da sua estrutura: derivados do ácido benzoico e derivados de ácido cinâmico. Eles consistem em um benzeno ligado a um grupo carboxílico (ácidos benzóicos) ou a um ácido propenóico (ácidos cinâmicos). Ambas as estruturas podem ser encontradas com diferentes níveis de hidroxilação (CLIFFORD, 2000).

Nos alimentos, os ácidos hidroxicinâmicos são mais comuns que os ácidos hidroxibenzoicos e consistem principalmente de p-coumárico, caféico, ferúlico e sinápico (MANACH et al., 2004). Os principais ácidos hidroxibenzoicos são gálico, elágico e protocatecuico (LAFAY e GIL-IZQUIERDO, 2008).

O estudo feito por Belščak et al. (2009) estabeleceu a presença de ácido gálico, caféico e ferúlico. O ácido gálico foi responsável por quase metade da concentração total de ácido fenólico de diferentes produtos de cacau, seguida por ácido caféico, enquanto ácido ferúlico foi determinado em quantidades menores.

### 3.4 INFLUÊNCIA DO PRÉ-PROCESSAMENTO NA CONCENTRAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS

#### 3.4.1 Fermentação

Durante a fermentação, com a morte do embrião, os compostos fenólicos entram em contato com as enzimas polifenoloxidase (responsáveis pela oxidação dos compostos fenólicos) e glicosidase (responsáveis pela hidrólise dos compostos fenólicos) presentes nas sementes (BECKETT, 2009).

A etapa de fermentação das amêndoas de cacau envolve algumas mudanças na concentração e proporção de compostos fenólicos. Ocorre uma forte redução do teor total de compostos fenólicos e a polimerização de alguns constituintes principalmente (-)-epicatequina com outra (-)-epicatequina ou com antocianidinas para formar taninos que possuem peso molecular elevado (SHAHIDI e NACZK, 2003).

Niemenak et al. (2006) mostraram em seu estudo que o teor de compostos fenólicos totais durante a fermentação não evoluiu de forma regular: em algumas amostras o teor de compostos fenólicos totais aumentou em cerca de 25% após 2 dias, em outras, houve uma diminuição de 14% e 25%, enquanto que em outros casos, não se alterou.

No trabalho realizado por Aikpokpodion e Dongo (2010), com fermentação de amêndoas de cacau, foi observado que a concentração inicial de catequina, 0,17mg/g, não mudou durante a fermentação, enquanto que a concentração de epicatequina, inicialmente de 12mg/g, diminuiu de forma linear. Depois de seis dias de fermentação, 60% da concentração inicial de epicatequina foi perdido.

Além da catequina e epicatequina, em amêndoas de cacau fermentadas, foram detectados procianidinas diméricas B2 e B5 isoladas em uma coluna de fase reversa por

Köhler (2006) usando cromatografia em contracorrente de alta velocidade. Além disso, procianidina trimérico C1, e o tetrâmero de (-)-epicatequina-4 $\beta$ →8-(-)-epicatequina-4 $\beta$ →8-(-)-epicatequina-4 $\beta$ →8-(-)-epicatequina foram identificadas (ESATBEYOGLU, 2011).

No estudo feito por Santos (2013), em diferentes dias de fermentação, foi observado que no 7º dia de fermentação as amêndoas já estavam bem fermentadas. Além disso, também foi verificado que ao realizar a fermentação em caixas de madeira com altura de leito de 20, 30, 40, 50 e 60 cm, durante 7 dias, seguida por secagem a sombra e ao sol, verificou maior quantidade de compostos fenólicos nas amostras fermentadas em leitos de 40 e 60 cm e menor degradação desses compostos na secagem ao sol.

### 3.4.2 Secagem

Durante a secagem, os monômeros das amostras secas ao sol mostraram uma diminuição mais acentuada se comparado com as amostras secas artificialmente, mas o conteúdo final de procianidina era menor nas amostras secas artificialmente do que os observados nos lote secos ao sol. Este resultado pode ser devido ao fato de que a secagem ao sol inicialmente favoreceu as reações de condensação, mas, em seguida, a perda de umidade reduziu a atividade enzimática e dificultou a difusão e migração de substratos e outros compostos, limitando, qualquer degradação de procianidina (DI MATTIA et al., 2013).

Kyi et al. (2005), secaram amêndoas de cacau em temperaturas que variaram de 40 a 60°C e umidade relativa de 50 a 80 %. Os resultados experimentais mostraram que quanto maior a temperatura e umidade relativa do ar de secagem, menor a quantidade de compostos fenólicos nas amêndoas de cacau, por causa da oxidação enzimática dos compostos fenólicos. O uso de temperaturas de secagem mais elevadas também pode causar a oxidação não enzimática de compostos fenólicos.

Efraim et al. (2010) demonstraram haver maior conservação de compostos fenólicos na secagem natural, possivelmente por ser realizada em temperaturas mais brandas que na secagem artificial.

### 3.4.3 Torração

As propriedades sensoriais de cacau torrados a 120°C durante 15, 25, 35 e 45 min e contendo diferentes concentrações de compostos fenólicos (58, 116, 143 e 170 g/kg) foram estudadas por Misnawi, Jamilah, Nazamid (2004). Os resultados do estudo mostraram que à

medida que aumentou a concentração de compostos fenólicos no cacau, houve diminuição no aroma e aumento da viscosidade e adstringência. Estes resultados indicaram que os compostos fenólicos do cacau causariam efeito negativo sobre as propriedades de sabor, entretanto os compostos fenólicos são benéficos, pois atuam como conservante e antioxidante.

Stark Bareuther e Hofmann (2005) demonstraram que a epicatequina, catequina, procianidina B2, B5 e C1, foram os principais compostos responsáveis por amargura e adstringência do cacau torrado. Nas amêndoas torradas nas temperaturas de 125, 135 e 145°C, em diferentes tempos, foi verificado a diminuição na concentração de procianidinas com o aumento da temperatura (IOANNONE et al., 2015).

Caligiani, Cirilini e Palla (2007) verificaram que após a torração das amêndoas de cacau a 150 e 220°C durante 20 min houve uma redução de 78% de (-)-epicatequina e um aumento de 63% de (+)-catequina. Segundo alguns autores, durante o processo de torração ocorrem modificações na estrutura dos compostos fenólicos, como a epimerização dos monômeros flavanol. No estudo feito por Payne et al. (2010), foi observado que após a torração foi gerado quantidades significativas de (-)-catequina, provavelmente devido a epimerização de (-)-epicatequina.

Kothe, Zimmermann e Galensa (2013), utilizando temperaturas de torração de 100 a 160°C, durante 30 minutos, verificaram que quanto maior a temperatura utilizada no processo de torração mais acelerado é a epimerização e o perfil de flavanol é influenciado. Nesse estudo observou-se que a temperatura deve ser mantida abaixo de 140°C, a fim de preservar a maioria da concentração inicial em flavanois.

### 3.5 QUANTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS

Os métodos espectrofotométricos fornecem informações qualitativas e quantitativas; na verdade, a espectroscopia é a principal técnica utilizada para a quantificação de diferentes classes de compostos fenólicos. Entretanto, a principal desvantagem dos ensaios espectrofotométricos é que eles só dão uma estimativa do conteúdo fenólico total, não se separa e nem dá medição quantitativa de compostos individuais (IGNAT, VOLF e POPA, 2011).

Uma das técnicas utilizada para analisar compostos fenólicos de extratos de cacau de multicomponentes ou uma fração específica é a cromatografia líquida de alta pressão em fase reversa (RP-HPLC), utilizando fase estacionária: C8 (SRDJENOVIC et al., 2008), C12 (PEREIRA-CARO et al., 2013) e C18 (QUIÑONES et al., 2011).

O método por HPLC é utilizado para análise de compostos fenólicos, devido à sua versatilidade, precisão e custo relativamente baixo. Na maioria das vezes é utilizado um sistema binário de solventes contendo água acidificada e um solvente orgânico polar (metanol ou acetonitrila). Muitas vezes é utilizado em combinação com fluorescência ou espectrometria de massa (NACZK e SHAHIDI, 2004).

De acordo com dados da literatura (LIU et al., 2006 e PAREJO et al., 2004), a adição da fase móvel ácida permite uma melhor separação de compostos fenólicos, pois reduz a ionização dos grupos hidroxil e carboxil. No estudo de Belščak (2009) ao usar metanol e ácido fórmico como sistema de solvente, foram determinados compostos flavanol, ácidos fenólicos e metilxantinas.

Existe certa dificuldade de isolar e analisar os compostos fenólicos individuais presentes no cacau devido a falta de padrões comerciais da maioria das procianidinas (ORTEGA et al., 2008).

Ortega et al. (2010), desenvolveram um método utilizando espectrometria de massa (MS) com Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência (UPLC-MS) para identificar e quantificar as procianidinas, monômeros, oligômeros e alcaloides, teobromina e cafeína, em amostras de cacau. Este método foi comparado com um método de HPLC-MS em termos de velocidade, sensibilidade, seletividade, eficiência, linearidade, reprodutibilidade, limites de detecção e limites de quantificação. Os resultados obtidos mostraram que a metodologia UPLC-MS permite determinar procianidinas até monômeros em níveis de baixa concentração em um tempo de análise curto, ou seja, menos do que 12,5 min.

As metodologias analíticas aplicadas para purificar e isolar compostos bioativos do cacau envolvem pré-tratamento trabalhoso (STARK e HOFMANN, 2005). Para eliminar esta interferência cromatográfica em produtos derivados de cacau, licores e chocolate escuros, Robbins et al., (2009) utilizaram cartucho de extração em fase sólida (solid phase extraction - SPE). A utilização do cartucho SPE não afetou a concentração de flavanol e procianidina presentes na amostra.

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 COLHEITA E PRÉ-PROCESSAMENTO DO CACAU

Os frutos de cacau utilizados neste trabalho foram da variedade *Forasteiro* provenientes dos municípios paraenses de Tomé-Açu, Medicilândia e Placas, colhidos na safra do ano de 2014 (agosto-setembro).

A Figura 2 apresenta as principais etapas do pré-processamento do cacau. Foram realizadas as etapas de fermentação e secagem (*in loco*) e torração (laboratório da Universidade Federal do Pará).



**Figura 2.** Etapas do processamento do cacau.

#### 4.1.1 Colheita e quebra dos frutos

Os frutos maduros foram colhidos manualmente com auxílio de um facão. Após a colheita, os frutos foram colocados em montes, no mesmo local da colheita, e armazenados nesses locais até a sua quebra. Os frutos foram quebrados 48h após a colheita nos municípios de Medicilândia e Placas, e em Tomé-Açu no mesmo dia e após 48h da colheita.

Para a obtenção das sementes, os frutos foram quebrados manualmente com o auxílio de um facão apropriado. As sementes foram colocadas em recipientes e transportadas até o local de fermentação.

#### 4.1.2 Processos de fermentação e secagem das sementes

As condições de fermentação e secagem realizadas nos municípios de Tomé-Açu, Medicilândia e Placas encontram-se na Tabela 4, sendo que no município de Tomé-Açu essas etapas foram repetidas em três períodos diferentes (triplicata real).

**Tabela 4.** Condições de fermentação e secagem das amêndoas de cacau realizadas nos municípios de Tomé-Açu, Medicilândia e Placas.

Município	Altura do leito de fermentação	Quebra dos frutos após a colheita		Tempo de fermentação (dia)				Secagem **	
		48h	0h	0	2	4	7	Barcaça	Lona
Tomé-Açu	60 cm*	✓		✓	✓	✓	✓	✓	✓
	60 cm*		✓				✓	✓	
	40 cm*	✓		✓	✓	✓	✓	✓	
Medicilândia	60 cm	✓		✓	✓	✓	✓	✓	
Placas	60 cm	✓		✓	✓	✓	✓		✓

\*processo realizado em triplicata.

\*\*As secagens realizadas no município de Tomé-Açu foram feitas para todos os dias de fermentação enquanto que para Medicilândia e Placas apenas para o 7º dia de fermentação.

As condições estudadas no processo de fermentação das sementes de cacau, no município de Tomé-açu, foram baseadas nas condições estudadas e parcialmente otimizadas por Santos (2013). A fermentação foi realizada em caixas de madeira com altura de leito de 40 cm e 60 cm utilizando sementes de cacau provenientes de frutos quebrados 48h após a colheita (amostras foram coletadas antes de iniciar a fermentação, dia 0, e nos dias 2, 4 e 7 de fermentação) e altura de leito de 60 cm com frutos colhidos e quebrados no mesmo dia (amostras foram coletadas somente no dia 7 de fermentação).

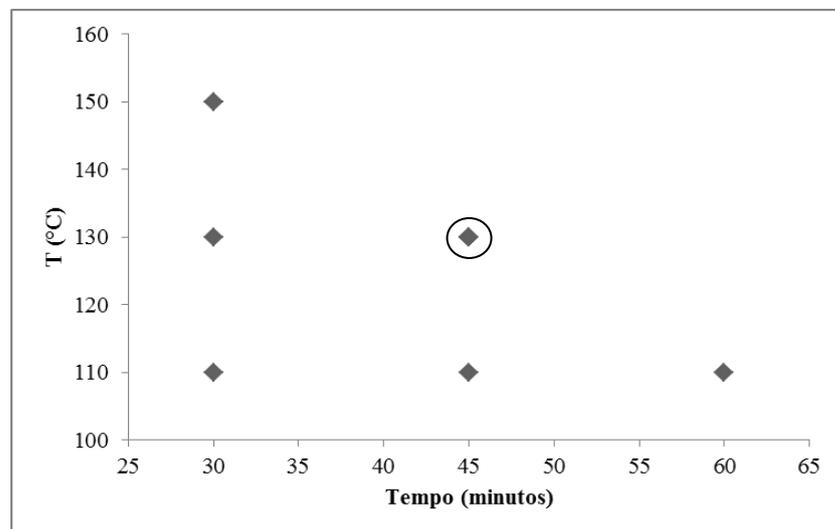
Nos municípios de Medicilândia e Placas a fermentação foi feita em caixas de madeira e cesto de cipó (plantas trepadeiras), respectivamente, com altura de leito de 60 cm. A fermentação foi realizada durante 7 dias com coleta das amostras antes da fermentação (dia 0) e nos dias 2, 4, e 7 de fermentação.

Para o processo de fermentação, realizado nos três municípios, as amêndoas foram cobertas com folhas de bananeira e feito o revolvimento da massa nos dias 2, 3, 4, 5, 6 e 7 após o início da fermentação. Após a coleta as amostras foram armazenadas em sacos plásticos e mantidas congeladas a -18°C.

Nos três municípios a secagem foi realizada ao sol. Nos municípios de Medicilândia e Placas a secagem foi feita em barça e lona, respectivamente. Enquanto que, no município de Tomé-Açu a secagem foi realizada em lona e barça. No final de cada dia de secagem as amêndoas eram cobertas e no dia seguinte era realizado o revolvimento das amêndoas antes de iniciar a secagem.

### 4.1.3 Torração

As amêndoas de cacau foram torradas de acordo com a planificação apresentada na Figura 3. O ponto de torração de 130°C e 45 minutos foi realizado em triplicata.



**Figura 3.** Condições de tempo e temperatura utilizados no processo de torração, o ponto em destaque foi realizado em triplicata.

Entre as diferentes condições estudadas foi utilizada apenas uma para verificar o efeito do tempo e temperatura de torração na concentração dos compostos fenólicos.

Aproximadamente 80g de amêndoas de cacau fermentadas em leito de 40 cm durante 7 dias e secas em barça, no município de Tomé-Açu, foram adicionadas em bandejas de alumínio e colocadas em estufa (marca Quimis), aquecida na temperatura desejada.

A temperatura da estufa diminuiu em aproximadamente 15 °C e era estabilizada após aproximadamente 4 minutos. Após o processo de torração, as amêndoas eram retiradas da estufa e mantidas em dessecador até atingir a temperatura ambiente, aproximadamente 25 °C.

## 4.2 CARACTERIZAÇÃO DAS AMÊNDOAS

### 4.2.1 Teste de corte das amêndoas secas

O teste de corte foi realizado de acordo com Brasil (2008b). Cem amêndoas foram cortadas de forma transversal para a avaliação da cor (marrom, intermediária, violeta) e a compartimentação dos cotilédones (sucos formados durante a fermentação).

### 4.2.2 Determinação da umidade

O teor de umidade foi determinado em estufa com circulação de ar a 105°C, por 24h, de acordo com o método 931.04 (AOAC, 1997).

## 4.3 PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS (NIBS)

Para a obtenção do nibs, as amêndoas de cacau, fermentadas, secas e torradas, passaram pelo processo de descascamento e retirada do gérmen. Em seguida os nibs eram trituradas em liquidificador e armazenadas a -18 °C.

## 4.4 OBTENÇÃO DO EXTRATO BRUTO PARA DETERMINAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS E DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE

A extração dos compostos fenólicos foi feita de acordo com a metodologia proposta por Counet e Collin (2003), com algumas modificações. Foi utilizado 10 g de nibs em 50 mL de solução extratora, acetona, água e ácido acético (70:29,5:0,5 v/v). A amostra, em solução, foi colocada sob agitação durante 1 hora, a 25°C. Em seguida foi filtrado em papel whatman e sobre o resíduo sólido foi feito novamente uma extração. Esse processo foi repetido por 3 vezes e foi misturado as soluções obtidas das três extrações.

## 4.5 DETERMINAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE

### 4.5.1 Método de Folin-Ciocalteu (FC)

Os compostos fenólicos totais foram determinados pelo método de Folin-Ciocalteu (SINGLETON e ROSSI, 1965), o qual é baseado na reatividade comum dos polifenóis quando colocados em contato com os ácidos fosfomolibdico e fosfotúngstico durante 30 minutos. A leitura das amostras foi realizada em espectrofotômetro UV/Visível a 735 nm. O resultado foi expresso em miligramas de equivalentes em Catequina por grama de nibs seco (mgEC/gNS).

### 4.5.2 Método 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

A capacidade antioxidante pelo método DPPH foi feito de acordo com a metodologia descrita por Fernández-Pachón et al. (2006).

A atividade de sequestro do radical de cada amostra é calculada de acordo com a porcentagem de inibição do radical DPPH. O valor DPPH foi calculado de acordo com a Equação 1 e expresso em  $\mu\text{mol}$  de equivalente trolox por grama de nibs seco ( $\mu\text{molET/gNS}$ ).

$$\text{DPPH}(\mu\text{molET}) = \frac{\% \text{Inibição}}{\text{coeficiente de regressão}} \times \text{diluição} \quad (1)$$

### 4.5.3 Método Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC)

O ORAC se baseia na reatividade do substrato oxidável, fluoresceína, com radicais peroxil produzidos pela decomposição térmica ( $37^{\circ}\text{C}$ ) do AAPH (2,2'-azinobis (-amidinopropano) dihidrocloro) em fase aquosa. A diminuição induzida na fluorescência do substrato pela decomposição do AAPH é medida na presença e na ausência da amostra antioxidante no decorrer do tempo (PRIOR et al., 2003). Os resultados serão expressos em  $\mu\text{mol}$  de equivalente trolox por grama de nibs seco ( $\mu\text{molET/gNS}$ ).

A determinação da capacidade antioxidante pelo método ORAC foi baseada no protocolo proposto por Huang et al. (2002).

## 4.6 IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS POR HPLC/DAD

### 4.6.1 Extração em fase sólida

Foi realizado um “clean up” no extrato bruto em cartucho SPE (Phenomenex, Strata C18-E, 55µm, 70A, 500 mg/3 mL). Para a ativação do cartucho, foi eluído 2 mL de metanol e 2 mL de água.

Um volume de 4 mL de extrato bruto foi concentrado, em um CENTRIVAP (LABCONCO-78100) a 40 °C, até a evaporação total dos solventes, em seguida foi adicionado 2 mL de água.

A amostra foi solubilizada em banho ultrassom, soni-tech ultrasonic cleaning/Branson-2510, e adicionada no cartucho SPE. Após a eluição da água foi adicionado 2 mL de metanol:água (6:4) para a recuperação dos analitos de interesse. O recuperado foi aferido com água para um volume de 4 mL. A amostra em, aproximadamente, 30% de metanol foi armazenada a -18 °C para posterior análise em HPLC.

### 4.6.2 Sistema cromatográfico (HPLC/DAD)

A identificação e quantificação dos compostos fenólicos foram feitos utilizando equipamento HPLC, Thermo Scientific série Ultimate 3000 (United States), equipado com bomba quartenária (LPG-3400RS), injetor manual, detector DAD (DAD-3000), software de dados (Chromleon 7.1 SR2) e célula de fluxo (Standard Analytical). A coluna utilizada foi a Kinetex 2,6µ C18 100 x 4,60 mm (Phenomenex).

Os reagentes utilizados foram de grau HPLC e a água ultrapura obtida pelo sistema MilliQ (Direct-Q<sup>®</sup>3). A fase móvel consistia de água (solvente A) e acetonitrila (solvente B) acidificados com 2,5% de ácido acético, filtrados em membrana tipo nylon 0,22 µm, Allcron.

Os padrões utilizados foram (+)-catequina, (-)-epicatequina, quercetina-3-glicosídeo, dihidrocaempferol e procianidina B2, todos grau HPLC, obtidos da Sigma-Aldrich.

O método foi baseado ao utilizado por Jolić et al. (2011). Após a extração e limpeza das amostras em coluna SPE, as amostras foram filtradas através de unidades filtrantes PVDE, 0,45µm. O gradiente de eluição foi: 0-18 min 5% B; 18-25 min 25% B; 25-27min 95% B; 27-27,5 min 95% B; 27,5-32 min 5% B. Foi utilizado um fluxo de 1mL/min. O volume de injeção da amostra foi 20 µL e a temperatura da coluna foi mantida a 35 °C.

A detecção foi realizada na faixa de 280 a 515 nm. Os cromatogramas foram analisados a 280 e 350 nm. A identificação dos compostos fenólicos foi feita através da comparação dos espectros, coeluição e tempo de retenção dos picos das amostras de cacau com os tempos de retenção e espectros de padrões de compostos fenólicos, os resultados foram expressos em miligramas por grama de nibs seco (mg/gNS).

As amostras foram quantificadas baseado na concentração da área do pico calculado em relação a curva de calibração. A curva de calibração foi feita diluindo as soluções padrão em metanol 30% em concentrações variando de 1 a 100 µg/mL.

#### 4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos foram submetidos ao teste de Tukey para determinação da diferença entre as médias, a nível de significância de 95%. Também foi verificada a correlação de Pearson entre a capacidade antioxidante e os compostos fenólicos, para  $p < 0,05$ . A metodologia de superfície de resposta foi utilizada para avaliar a influência das variáveis tempo e temperatura na concentração dos compostos fenólicos após a torração das amêndoas. Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o software STATISTIC 7.0.

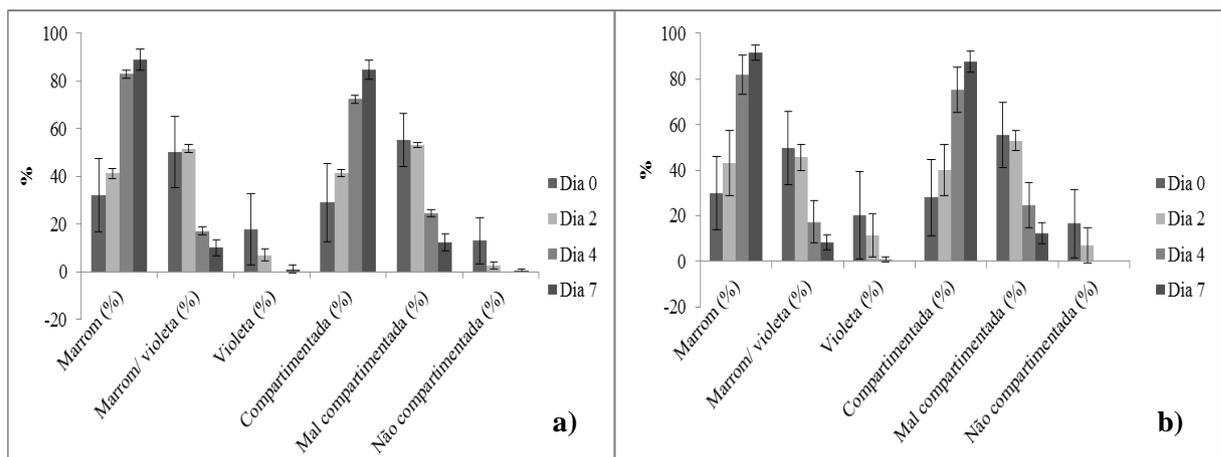
## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 EVOLUÇÃO DA FERMENTAÇÃO E SECAGEM EM FUNÇÃO DO TEMPO E DA ALTURA DO LEITO DE FERMENTAÇÃO

Para verificar a influência da altura do leito de fermentação na qualidade das amêndoas foram utilizados leitos de 40 e 60 cm de altura, obtidas no município de Tomé-Açu, e foi observado que após a secagem em barcaça as amêndoas apresentaram teor de umidade entre 5,59-6,37 e 5,71-8,03%, respectivamente, valores dentro do exigido pela legislação de 8% (BRASIL, 2008a).

Efraim (2010), utilizando secagem natural, ao sol, obteve amêndoas com teor de umidade de 6,10; 6,38; e 6,29%, para amêndoas não fermentadas, fermentadas durante 3 e 7 dias, respectivamente. No processo de secagem realizado por Krahmer et al. (2015) e Nazaruddin et al. (2006) o teor de umidade foi reduzido para aproximadamente 7%, para que as amêndoas sejam mais estáveis ao armazenamento.

Em relação ao teste de corte, Figura 4 (a e b), é possível observar que a partir de 4 dias de fermentação as amêndoas apresentaram características de boa fermentação, com mais de 60% das amêndoas com coloração marrom e foi observado boa compartimentação dos cotilédones, apresentou comportamento similar entre as alturas de leito.



**Figura 4.** Determinação da coloração e grau de compartimentação, através do teste de corte, após a secagem das amêndoas de cacau submetidas a diferentes dias de fermentação e alturas de leito de a) 60 cm e b) 40 cm.

Para um mesmo tempo de fermentação não houve diferença, em relação ao grau de fermentação das amêndoas de cacau, entre as diferentes alturas de leito de fermentação.

No estudo feito por Suazo, Davidov-Pardo e Arozarena (2014), com amêndoas fermentadas durante 7 dias e secas ao sol até atingir umidade de aproximadamente 6%, foi observado que 31,5% de sementes não fermentadas e 1,5% das amêndoas que passaram pelo processo de fermentação apresentaram coloração violeta.

Em relação a concentração dos compostos fenólicos, apresentadas na Tabela 5, não foi observado diferença significativa durante a fermentação e para as diferentes alturas de leito. Santos (2013) também observou que as alturas de leito de 40 e 60 cm não apresentaram diferença significativa na concentração de compostos fenólicos.

Krähmer et al. (2015), ao estudar amostras fermentadas em diferentes dias (0, 2, 4, 6, 8, 10 dias) verificaram um decréscimo de (-)-epicatequina durante a fermentação. Esse resultado é diferente ao encontrado em nossos estudos onde foi verificado que o tempo de fermentação não influenciou na concentração de (-)-epicatequina.

Carrillo, Londoño-Londoño e Gil (2014) observaram em amêndoas de cacau fermentadas e secas que a (-)-epicatequina apresentou concentração variando de  $1,405 \pm 0,080$  a  $3,787 \pm 0,070$  mg/g de amostra seca e as concentrações de (+)-catequina foram entre  $0,226 \pm 0,006$  a  $1,297 \pm 0,031$  mg/g de amostra seca.

Em relação a capacidade antioxidante é possível observar na Tabela 5 que não houve diferença significativa para os diferentes dias de fermentação e para as diferentes alturas de leito em relação aos diferentes métodos utilizados, FC, DPPH e ORAC.

Entretanto em alguns estudos foi observado diminuição da capacidade antioxidante durante a fermentação. No estudo de Aikpokpodion e Dongo (2010) foi verificado que após 1, 2, 3, 4, 5 e 6 dias de fermentação houve diminuição pelo método FC de 15,5, 12,9, 10,7, 8,2, 7,6 e 6,01%, respectivamente, e utilizando o método DPPH houve decréscimo de 96, 93, 91, 88, 84, e 79%, respectivamente. A capacidade antioxidante, determinada pelo método ORAC, de amêndoas de cacau fermentadas e secas encontrada por Jolić et al. (2011) foi de  $281,71 \pm 36,7$   $\mu\text{molET/g}$  de amostra.

O estudo feito por Othman et al. (2007), sugere que a alta capacidade antioxidante não poderia ser exclusivamente devido aos compostos fenólicos presentes nos extratos de cacau. Outros compostos solúveis em metanol como metilxantinas (teobromina e cafeína) podem influenciar na capacidade antioxidante dos extratos das amêndoas de cacau.

**Tabela 5.** Avaliação da concentração dos compostos fenólicos (mg/gNS) e capacidade antioxidante, FC (mgEC/gNS), DPPH e ORAC ( $\mu\text{molET/gNS}$ ), das amêndoas de cacau submetidas a diferentes dias de fermentação em leitos de altura de 60 cm e 40 cm.

Altura do leito (cm)	Fermentação (dias)	Pré-processamento	(+)-Catequina	(-)-Epicatequina	Procianidina B2	Quercetina-3-glicosídeo	(+)-Dihidrocaempferol	FC	DPPH	ORAC	
60	0	Fermentação	0,026±0,002 <sup>b</sup>	0,03±0,02 <sup>c</sup>	0,015±0,007 <sup>b</sup>	0,022±0,002 <sup>c</sup>	0,273±0,016 <sup>a</sup>	16,3±5,5 <sup>gh</sup>	194,1±28,8 <sup>d</sup>	151,4±37,9 <sup>e</sup>	
		Secagem	0,227±0,068 <sup>a</sup>	8,58±2,12 <sup>b</sup>	2,27±1,15 <sup>a</sup>	0,094±0,013 <sup>a</sup>	0,621±0,071 <sup>a</sup>	58,8±7,1 <sup>ab</sup>	460,1±147,4 <sup>ab</sup>	950,3±90,5 <sup>a</sup>	
	2	Fermentação	0,025±0,001 <sup>b</sup>	0,06±0,04 <sup>c</sup>	0,092±0,071 <sup>b</sup>	0,047±0,02 <sup>abc</sup>	0,416±0,168 <sup>a</sup>	29±4,8 <sup>defgh</sup>	184,5±33,6 <sup>d</sup>	314,4±90,8 <sup>cde</sup>	
		Secagem	0,180±0,047 <sup>ab</sup>	6,27±0,39 <sup>abc</sup>	1,84±0,43 <sup>ab</sup>	0,08±0,003 <sup>abc</sup>	0,603±0,001 <sup>a</sup>	53±6,6 <sup>abcd</sup>	327±90,1 <sup>abcd</sup>	782,5±165,1 <sup>ab</sup>	
	4	Fermentação	0,031±0,010 <sup>b</sup>	0,55±0,32 <sup>c</sup>	0,56±0,415 <sup>ab</sup>	0,055±0,01 <sup>abc</sup>	0,451±0,137 <sup>a</sup>	36±5,5 <sup>cdefgh</sup>	270±16,2 <sup>abcd</sup>	392,7±75,3 <sup>cde</sup>	
		Secagem	0,137±0,04 <sup>ab</sup>	4,64±2,47 <sup>abc</sup>	1,49±0,49 <sup>ab</sup>	0,07±0,034 <sup>abc</sup>	0,545±0,256 <sup>a</sup>	48±12,4 <sup>abcde</sup>	315,6±128 <sup>abcd</sup>	545,9±113 <sup>bcd</sup>	
	7	Fermentação	0,016±0,014 <sup>b</sup>	0,22±0,01 <sup>c</sup>	0,39±0,15 <sup>ab</sup>	0,04±0,005 <sup>abc</sup>	0,378±0,034 <sup>a</sup>	28,2±8 <sup>defgh</sup>	210,18±32,6 <sup>d</sup>	281,9±30,6 <sup>de</sup>	
		Secagem	0,090±0,013 <sup>ab</sup>	1,71±0,36 <sup>ac</sup>	0,85±0,211 <sup>ab</sup>	0,04±0,007 <sup>abc</sup>	0,360±0,054 <sup>a</sup>	33±8,8 <sup>cdefgh</sup>	232,4±75,9 <sup>d</sup>	374,6±25,4 <sup>cde</sup>	
	40	0	Fermentação	0,024±0,007 <sup>b</sup>	0,05±0,02 <sup>c</sup>	0,026±0,01 <sup>b</sup>	0,029±0,004 <sup>bc</sup>	0,313±0,019 <sup>a</sup>	10,6±1,6 <sup>h</sup>	157,7±25,4 <sup>d</sup>	322,6±246 <sup>cde</sup>
			Secagem	0,224±0,051 <sup>a</sup>	8,92±1,84 <sup>ab</sup>	2,19±0,95 <sup>ab</sup>	0,101±0,024 <sup>a</sup>	0,714±0,232 <sup>a</sup>	62,4±3,9 <sup>a</sup>	490,7±92,1 <sup>a</sup>	943,4±139,7 <sup>a</sup>
2		Fermentação	0,113±0,140 <sup>ab</sup>	3,33±5,24 <sup>abc</sup>	1,04±1,46 <sup>ab</sup>	0,090±0,027 <sup>ab</sup>	0,705±0,126 <sup>a</sup>	22,4±9,5 <sup>fgh</sup>	196,4±25,4 <sup>d</sup>	282,7±180,5 <sup>de</sup>	
		Secagem	0,098±0,108 <sup>ab</sup>	3,40±4,84 <sup>abc</sup>	0,93±1,20 <sup>ab</sup>	0,054±0,04 <sup>abc</sup>	0,440±0,258 <sup>a</sup>	56,4±7,3 <sup>abc</sup>	446,1±61,2 <sup>abc</sup>	776,4±126,1 <sup>ab</sup>	
4		Fermentação	0,028±0,008 <sup>b</sup>	0,55±0,43 <sup>c</sup>	0,49±0,053 <sup>ab</sup>	0,071±0,02 <sup>abc</sup>	0,587±0,162 <sup>a</sup>	35±6,8 <sup>cdefgh</sup>	274,4±26 <sup>abcd</sup>	394,8±94,8 <sup>cde</sup>	
		Secagem	0,106±0,039 <sup>ab</sup>	3,30±1,02 <sup>abc</sup>	1,16±0,49 <sup>ab</sup>	0,06±0,015 <sup>abc</sup>	0,445±0,117 <sup>a</sup>	47±7,2 <sup>abcde</sup>	295,3±49 <sup>abcd</sup>	640,9±44,8 <sup>abc</sup>	
7		Fermentação	0,028±0,011 <sup>b</sup>	0,19±0,17 <sup>c</sup>	0,38±0,28 <sup>ab</sup>	0,06±0,049 <sup>abc</sup>	0,585±0,439 <sup>a</sup>	23,7±9,2 <sup>efgh</sup>	218,3±43,7 <sup>cd</sup>	313,2±1,8 <sup>cde</sup>	
		Secagem	0,094±0,019 <sup>ab</sup>	2,55±0,52 <sup>abc</sup>	0,87±0,16 <sup>ab</sup>	0,052±0,01 <sup>abc</sup>	0,394±0,097 <sup>a</sup>	42±12 <sup>abcdef</sup>	260,5±24,4 <sup>bcd</sup>	519,2±35,1 <sup>bcd</sup>	

mg/gNS - miligramas por grama de nibs seco; mgEC/gNS - miligramas de Equivalentes em Catequina por grama de Nibs Seco;  $\mu\text{molET/gNS}$  -  $\mu\text{mol}$  de equivalente trolox por grama de nibs seco ( $\mu\text{molET/gNS}$ ).

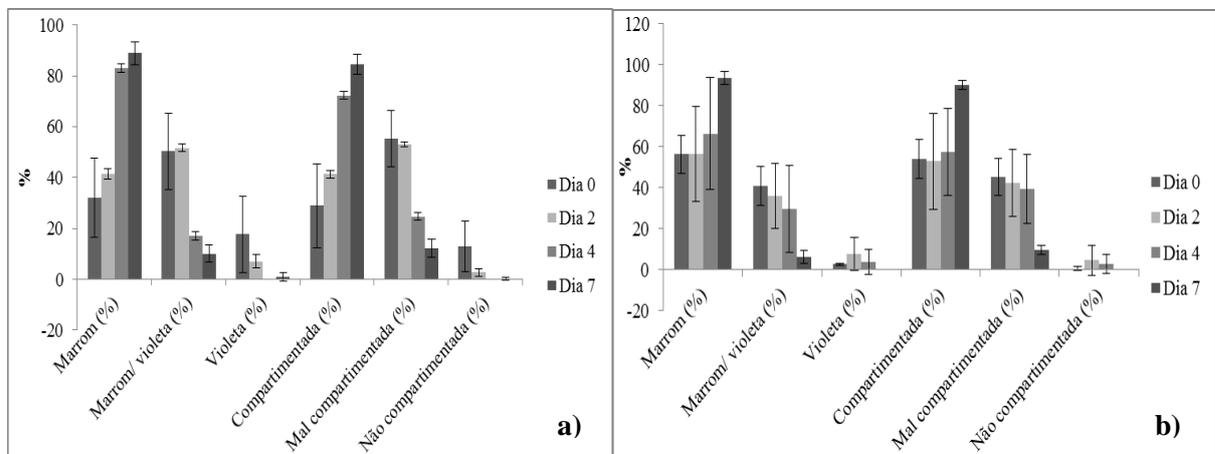
Valores de uma mesma coluna com a mesma letra não diferem significativamente entre si (Teste de Tukey a 5% de significância).

## 5.2 COMPARAÇÃO ENTRE A SECAGEM EM LONA E BARÇAÇA NA QUALIDADE DAS AMÊNDOAS DE CACAU

A secagem é responsável pela eliminação do excesso de água das amêndoas fermentadas a qual é reduzida para 6 a 8 % de umidade. Durante a secagem ocorre a continuidade das mudanças químicas das amêndoas iniciadas durante a fermentação: redução da acidez, menos adstringência e potencialização da liberação dos componentes responsáveis pelo sabor e aroma característico do chocolate (NIELSEN, CRAFACK e JAKOBSEN, 2013; CEPLAC, 2011a).

Em nosso estudo, as amêndoas fermentadas em leito de 60 cm apresentaram após a secagem em lona e barçaça umidade entre 7,03-8,72% e 5,71-8,04%, respectivamente.

Em relação ao teste de corte é possível observar na Figura 5, a e b, que para um mesmo dia de fermentação as amêndoas não apresentaram diferença sendo observado um aumento da coloração marrom e do grau de compartimentação a partir do quarto dia de fermentação tanto para a secagem em lona como para a secagem em barçaça.



**Figura 5.** Determinação da coloração e grau de compartimentação, através do teste de corte, das amêndoas de cacau submetidas a diferentes dias de fermentação secas em a) barçaça e b) lona.

Na Tabela 6, é possível observar que a concentração de procianidina B2, (-)-epicatequina, quercetina-3-glicosídeo e (+)-dihidrocaempferol não teve diferença significativa em relação aos diferentes tipos de secagem, lona e barçaça, nos diferentes dias de fermentação.

Somente a (+)-catequina apresentou maior concentração nas sementes não fermentadas secas na barçaça em relação as sementes não fermentadas seca na lona. Nas demais condições do processo não teve diferença significativa.

**Tabela 6.** Avaliação da concentração dos compostos fenólicos (mg/gNS) e capacidade antioxidante, FC (mgEC/gNS), DPPH e ORAC ( $\mu\text{molET/gNS}$ ), das amêndoas de cacau após a secagem em barçaça e lona.

Dias fermentação	Secagem	(+)-Catequina	(-)-Epicatequina	Procianidina B2	Quercetina-3-glicosídeo	(+)-Dihidrocaempferol	FC	DPPH	ORAC
0	Barçaça	0,227 $\pm$ 0,068 <sup>a</sup>	8,58 $\pm$ 2,12 <sup>a</sup>	2,27 $\pm$ 1,15 <sup>a</sup>	0,094 $\pm$ 0,013 <sup>a</sup>	0,621 $\pm$ 0,071 <sup>a</sup>	58,8 $\pm$ 7,1 <sup>a</sup>	460,1 $\pm$ 147,4 <sup>a</sup>	950,3 $\pm$ 90,5 <sup>a</sup>
	Lona	0,101 $\pm$ 0,03 <sup>b</sup>	3,66 $\pm$ 0,82 <sup>ab</sup>	1,07 $\pm$ 0,31 <sup>a</sup>	0,068 $\pm$ 0,023 <sup>a</sup>	0,469 $\pm$ 0,191 <sup>a</sup>	51,6 $\pm$ 13,2 <sup>ab</sup>	360,9 $\pm$ 156,6 <sup>a</sup>	599,3 $\pm$ 26,4 <sup>bc</sup>
2	Barçaça	0,180 $\pm$ 0,047 <sup>ab</sup>	6,27 $\pm$ 0,39 <sup>ab</sup>	1,84 $\pm$ 0,43 <sup>a</sup>	0,082 $\pm$ 0,003 <sup>a</sup>	0,603 $\pm$ 0,001 <sup>a</sup>	53,5 $\pm$ 6,6 <sup>ab</sup>	327,4 $\pm$ 90,1 <sup>a</sup>	782,5 $\pm$ 165,2 <sup>ab</sup>
	Lona	0,092 $\pm$ 0,025 <sup>b</sup>	3,84 $\pm$ 1,26 <sup>ab</sup>	0,86 $\pm$ 0,28 <sup>a</sup>	0,078 $\pm$ 0,011 <sup>a</sup>	0,605 $\pm$ 0,110 <sup>a</sup>	49,0 $\pm$ 6,1 <sup>ab</sup>	375,2 $\pm$ 123,7 <sup>a</sup>	673,1 $\pm$ 118,9 <sup>b</sup>
4	Barçaça	0,137 $\pm$ 0,044 <sup>ab</sup>	4,64 $\pm$ 2,47 <sup>ab</sup>	1,48 $\pm$ 0,49 <sup>a</sup>	0,075 $\pm$ 0,034 <sup>a</sup>	0,545 $\pm$ 0,256 <sup>a</sup>	48,3 $\pm$ 12,4 <sup>ab</sup>	315,6 $\pm$ 128,1 <sup>a</sup>	545,9 $\pm$ 112,8 <sup>abcd</sup>
	Lona	0,100 $\pm$ 0,017 <sup>b</sup>	4,22 $\pm$ 1,01 <sup>ab</sup>	1,36 $\pm$ 0,34 <sup>a</sup>	0,072 $\pm$ 0,018 <sup>a</sup>	0,551 $\pm$ 0,162 <sup>a</sup>	51,2 $\pm$ 5,6 <sup>ab</sup>	301,9 $\pm$ 77,2 <sup>a</sup>	621,7 $\pm$ 35,3 <sup>b</sup>
7	Barçaça	0,090 $\pm$ 0,013 <sup>b</sup>	1,71 $\pm$ 0,36 <sup>b</sup>	0,85 $\pm$ 0,21 <sup>a</sup>	0,043 $\pm$ 0,007 <sup>a</sup>	0,360 $\pm$ 0,054 <sup>a</sup>	33,2 $\pm$ 8,8 <sup>ab</sup>	232,3 $\pm$ 75,9 <sup>a</sup>	374,6 $\pm$ 25,4 <sup>cd</sup>
	Lona	0,098 $\pm$ 0,052 <sup>b</sup>	3,61 $\pm$ 2,99 <sup>ab</sup>	1,09 $\pm$ 0,52 <sup>a</sup>	0,066 $\pm$ 0,028 <sup>a</sup>	0,477 $\pm$ 0,114 <sup>a</sup>	30,9 $\pm$ 7,6 <sup>b</sup>	209,9 $\pm$ 36,1 <sup>a</sup>	349,7 $\pm$ 32,6 <sup>d</sup>

mg/gNS - miligramas por grama de nibs seco; mgEC/gNS - miligramas de Equivalentes em Catequina por grama de Nibs Seco;  $\mu\text{molET/gNS}$  -  $\mu\text{mol}$  de equivalente trolox por grama de nibs seco ( $\mu\text{molET/gNS}$ ).

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

No estudo de Hii et al. (2009b) com amêndoas secas ao sol, em estufa a 60, 70 e 80 °C e liofilizadas, verificaram que os valores obtidos variaram entre 3,06-8,08 mg/g e 0,00-0,35 mg/g para a concentração de (-)-epicatequina e (+)-catequina, respectivamente. A (+)-catequina estava presente em quantidades menores, uma vez que este composto é mais degradado pela enzima durante a reação de escurecimento. Não houve diferença significativa na concentração de (-)-epicatequina entre as diferentes condições de secagem estudadas, no entanto, as condições de secagem ao sol e em estufa a 80°C apresentaram diferença significativa, para a concentração de (+)-catequina, sendo que a secagem em estufa a 80°C apresentou maior concentração.

Na Tabela 6 também é observado que não houve diferença significativa na capacidade antioxidante determinadas pelo método FC e DPPH nas diferentes condições de secagem. No entanto a capacidade antioxidante determinada pelo método ORAC foi observado diferença significativa para as sementes não fermentadas sendo que a secagem realizada em barcaça apresentou maior valor ORAC.

Hii et al. (2009b), utilizando amêndoas fermentadas durante 5 dias, verificaram que depois do processo de secagem ao sol e em estufa a 60, 70 e 80°C (nos tempos de secagem de 75 h, 52 h, 34 h e 30 h, respectivamente) elas apresentaram através do método FC, 61,81±2,43, 77,20±13,30, 82,68±3,42 e 71,42±0,48 mg equivalentes de ácido gálico/g, respectivamente.

Carrillo, Londoño-Londoño e Gil (2014) ao estudarem amêndoas de cacau, secas ao sol, verificaram que a capacidade antioxidante, determinada pelo método ORAC, variou de 387,29±10,84 a 639,51±73,84 µmolET/g.

### 5.3 VARIAÇÃO DO TEMPO E TEMPERATURA DE TORRAÇÃO

A Tabela 7 apresenta os resultados da concentração dos compostos fenólicos das amêndoas fermentadas, durante 7 dias, em leito de 40 cm e secas em barcaça, obtidas no município de Tomé-Açu, após a variação do tempo e temperatura de torração das amêndoas.

O aumento do tempo e temperatura de torração das amêndoas ocasionou diminuição da umidade. Segundo Krysiak, Adamski e Zyzewicz (2013) e Sacchetti et al. (2016) a umidade para amêndoas torradas deve ser de aproximadamente 2% para facilitar os processos de moagem e extração de gordura das amêndoas. Logo, as amêndoas torradas nas temperaturas 130 e 150°C nos tempos de 45 e 30 minutos, respectivamente, apresentaram umidades relacionadas a um bom processo de torração.

**Tabela 7.** Avaliação da concentração dos compostos fenólicos (mg/gNS) das amêndoas de cacau submetidas a diferentes tempos e temperatura de torração.

Torrção		Umidade (%)	(+) - Catequina	(-) - Epicatequina	Procianidina B2	Quercetina-3-glicosideo	(+) - Dihidrocaempferol
T (°C)	Tempo (min.)						
-	0	6,62	0,077	2,066	0,693	0,045	0,324
110	30	5,30	0,199	1,955	0,918	0,048	0,412
110	45	4,46	0,230	1,870	0,887	0,050	0,400
110	60	3,99	0,235	1,327	0,637	0,042	0,357
130	30	3,13	0,195	1,349	0,715	0,042	0,309
130	45	2,34±0,3	0,283±0,01	1,391±0,01	0,622±0,2	0,042±0,001	0,305±0,005
150	30	2,20	0,488	1,341	0,494	0,041	0,253

mg/gNS - miligramas por grama de nibs seco

Para uma mesma temperatura, observa-se que o aumento do tempo de torração não variou a concentração dos compostos (+)-dihidrocaempferol e quercetina-3-glicosideo. A (-)-epicatequina e procianidina B2 apresentaram diminuição em sua concentração e houve aumento na concentração de (+)-catequina.

Com o aumento da temperatura, para o tempo de torração de 30 minutos, diminuiu a concentração de procianidina B2 e de (+)-dihidrocaempferol. No entanto a concentração de (-)-epicatequina e quercetina-3-glicosideo não variou, nessas mesmas condições. Nas temperaturas de 110 e 130°C não houve variação da concentração de (+)-catequina, entretanto na temperatura de 150 °C aumentou sua concentração.

No estudo feito por Ioannone et al. (2015), ao utilizar temperaturas 125, 135 e 145°C de torração nos tempos de 5 a 74 minutos, foi verificado que o aumento do tempo de torração ocasionou a diminuição da concentração de (+)-catequina e (-)-epicatequina.

Kothe, Zimmermann e Galensa (2013) verificaram em seu estudo que após o processo de torração das amêndoas de cacau a 100, 120, 140, 150, e 160 °C, durante 30 minutos, a concentração de (-)-epicatequina, (+)-catequina e procianidina B2 variaram entre 0,97-4,82, 0,07-0,26 e 0,43-2,03 mg/g, respectivamente. A concentração de (-)-epicatequina diminuiu enquanto que a concentração de (+)-catequina comportou de maneira oposta. As amêndoas não torradas apresentaram 4,82 mg/g de (-)-epicatequina e 0,26 mg/g de (+)-catequina. Na torração a 160 °C houve perda de 68% da concentração inicial de (-)-epicatequina enquanto que a concentração de (+)-catequina aumentou para 240%. Para procianidina B2 apenas 32% da concentração inicial permaneceu após a torração a 160 °C. De acordo os resultados desse estudo foram observados que a temperatura de torração deve ser mantida abaixo de 140 °C para obter produtos de cacau com baixo grau de epimerização.

Hurst et al. (2011) utilizando amêndoas de cacau torradas a 163 °C, variando o tempo de torração, observaram que o tempo de torração de 25 minutos não apresentou diminuição de (-)-epicatequina e (+)-catequina, enquanto houve aumento a concentração de (-)-catequina devido à reação epimerização.

Através dos gráficos de superfície de resposta foi observado que a concentração de (+)-catequina, Figura 6a, aumentou de acordo com o aumento da temperatura enquanto o aumento do tempo e temperatura de torração provocaram a diminuição da concentração de (-)-epicatequina, Figura 6b. Os compostos procianidina B2, quercetina-3-glicosídeo e (+)-dihidrocaempferol apresentaram comportamento semelhante ao da (-)-epicatequina.

Esses resultados indicam que o aumento do tempo e da temperaturas de torração influenciam de forma negativa na concentração dos compostos fenólicos, pois irão aumentar a concentração da (+)-catequina, podendo ser resultado do processo de epimerização, e a degradação dos demais compostos fenólicos.

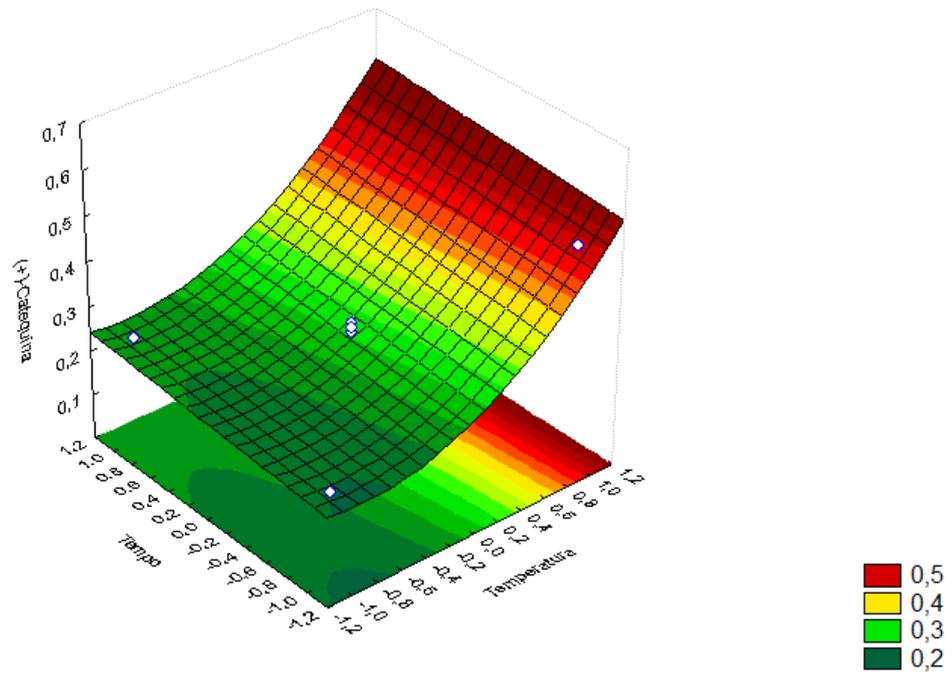
O gráfico de Pareto apresentado na Figura 7a indica que apenas a varável temperatura apresentou efeito significativo ( $p < 0,05$ ) na concentração da (+)-catequina. Esse efeito ocorreu de forma positiva indicando que o aumento da temperatura de torração aumentou a concentração de (+)-catequina.

Na Figura 7 é possível observar que o tempo e temperatura apresentam valores negativos devido exercerem efeito negativo nas concentrações dos compostos (-)-epicatequina, quercetina-3-glicosídeo, procianidina B2 e (+)-dihidrocaempferol, pois com o aumento do tempo e temperatura ocorre a diminuição na concentração desses compostos.

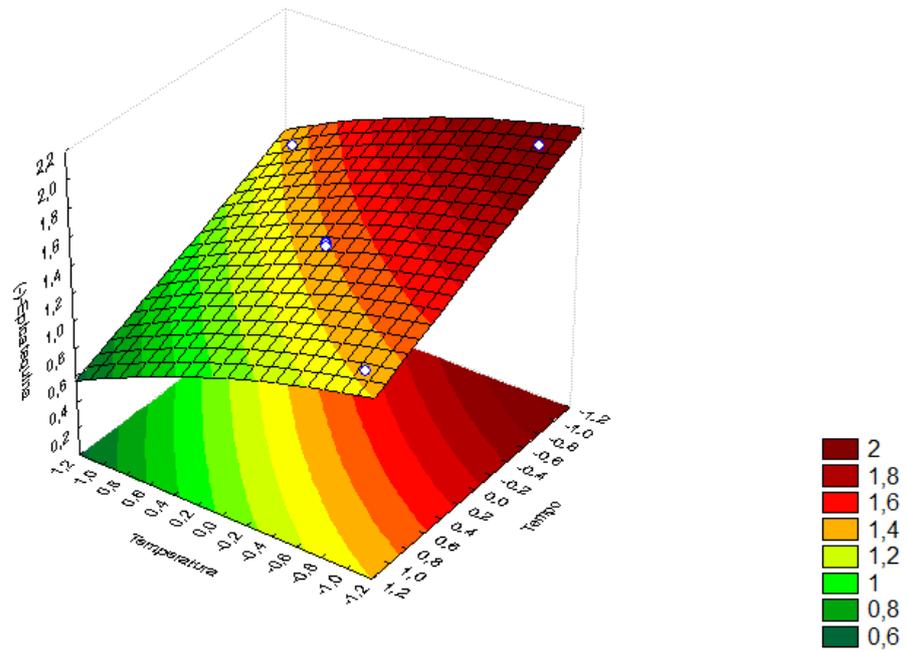
As variáveis tempo e temperatura linear e temperatura quadrática apresentaram efeito significativo ( $p < 0,05$ ) na concentração de (-)-epicatequina, Figura 7b. Enquanto que o tempo e a temperatura linear exercem efeito significativo ( $p < 0,05$ ) na concentração da procianidina B2, Figura 7d e (+)-dihidrocaempferol. Para a quercetina-3-glicosídeo apenas a temperatura linear apresentou efeito significativo ( $p < 0,05$ ), Figura 7c.

A partir dos resultados é possível observar que a temperatura de torração exerceu maior influencia na concentração dos compostos fenólicos.

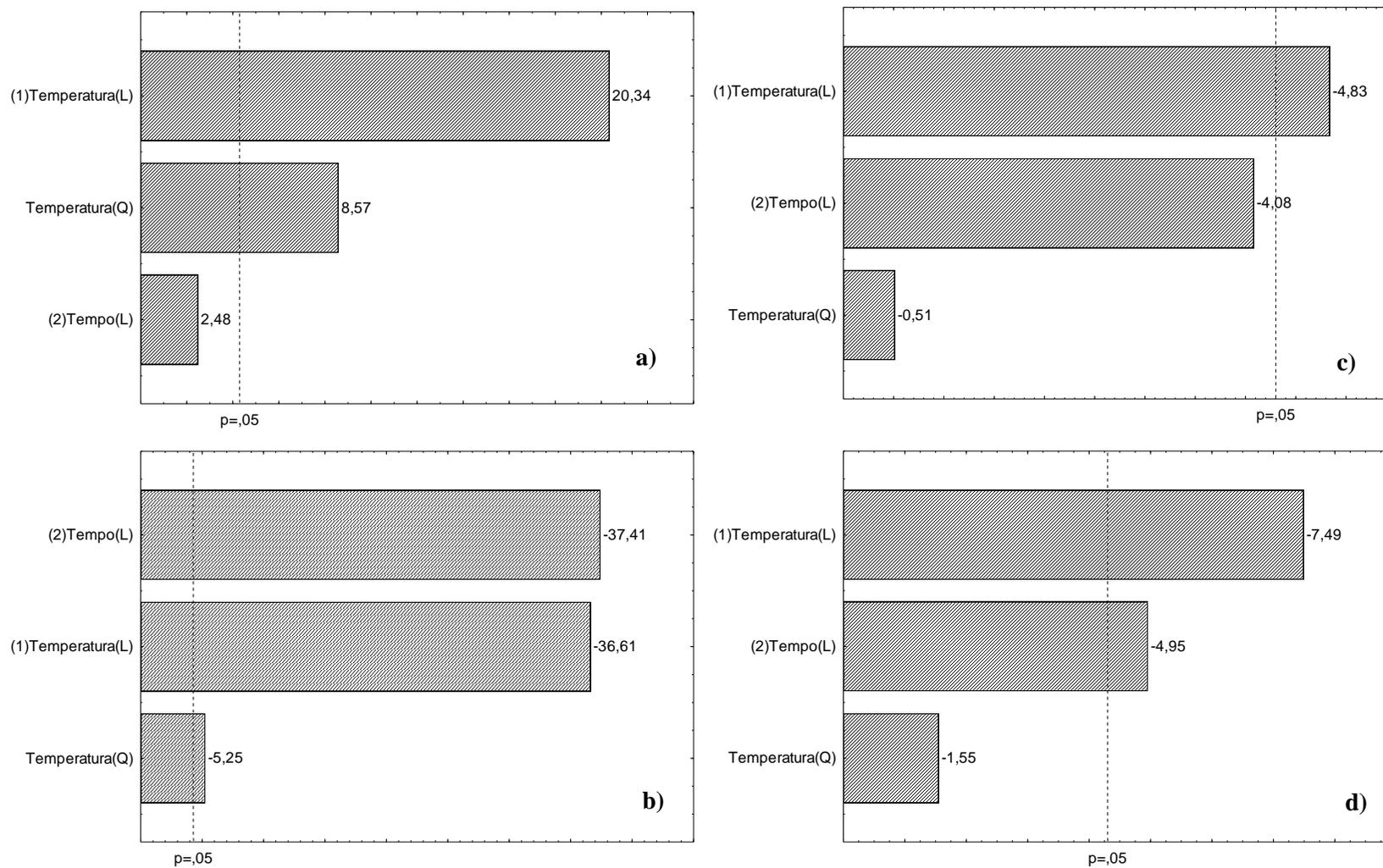
a) (+)-catequina



b) (-)-epicatequina



**Figura 6.** Influência do tempo e temperatura na concentração dos compostos fenólicos: a) (+)-catequina; b) (-)-epicatequina.

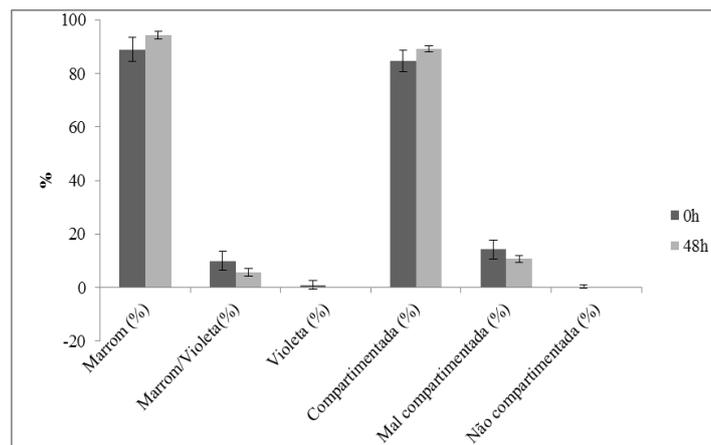


**Figura 7.** Gráfico de Pareto referente a influência dos tempos e temperaturas de torração na concentração de a) (+)-catequina, b) (-)-epicatequina, c) quercetina-3-glicosídeo e d) procianidina B2

#### 5.4 INFLUÊNCIA DOS DIFERENTES TEMPOS DE ARMAZENAMENTO DOS FRUTOS ANTES DA QUEBRA NA QUALIDADE DAS AMÊNDOAS

Para avaliar o impacto do tempo de armazenamento dos frutos antes da sua quebra foi fixada a fermentação com altura de leito de 60 cm durante 7 dias e secos sem barçaça, no município de Tomé Açu. Foi verificado que após a secagem das amêndoas obtidas de frutos quebrados 48h após a colheita e no mesmo dia da colheita apresentaram umidade de 6,65% e 6,91%, respectivamente.

Após a fermentação e secagem, foi observado em nosso estudo, através do teste de corte, que não houve diferença, em relação a coloração e compartimentação das amêndoas, Figura 8. As amêndoas obtidas de frutos armazenados 48h após a colheita e frutos quebrados logo após a colheita apresentaram coloração marrom de  $94,3 \pm 1,5$  e  $89 \pm 4,5\%$ , respectivamente, e boa compartimentação de  $89,3 \pm 1,2$  e  $84,7 \pm 4\%$ , respectivamente.



**Figura 8.** Determinação da coloração e grau de compartimentação, através do teste de corte, das amêndoas de cacau quebradas logo após a colheita (0h) e quebradas 48h após a colheita.

Segundo Hii, Law e Cloke (2009) e Emmanuel et al. (2012), as amêndoas de cacau com mais de 60% de cor totalmente marrom são consideradas como amêndoas de boa qualidade. No estudo feito por Emmanuel et al. (2012), com frutos de cacau armazenados por vários dias, antes de ser realizado a fermentação, foi verificado que com o aumento do tempo de estocagem dos frutos houve aumento da porcentagem das amêndoas que apresentaram coloração marrom, após 6 dias de fermentação, sendo que 58 e 80% das amêndoas apresentaram coloração marrom para os dias 0 e 14 de estocagem, respectivamente.

A Tabela 8 apresenta a concentração dos compostos fenólicos e capacidade antioxidante após diferentes condições de repouso do fruto antes de sua quebra.

**Tabela 8.** Avaliação da concentração dos compostos fenólicos (mg/gNS) e capacidade antioxidante, FC (mgEC/gNS), DPPH e ORAC ( $\mu\text{molET/gNS}$ ), das amêndoas de cacau após diferentes condições de repouso do fruto antes de sua quebra.

Tempo de repouso do fruto entre a colheita e a quebra (h)	Processo	(+)-Catequina	(-)-Epicatequina	Procianidina B2	Quercetina-3-glicosídeo	(+)-Dihidrocaempferol	FC	DPPH	ORAC
0h	Fermentação	0,02±0,003 <sup>b</sup>	0,21±0,04 <sup>c</sup>	1,07±0,44 <sup>b</sup>	0,047±0,007 <sup>a</sup>	0,419±0,07 <sup>a</sup>	27,19±6,3 <sup>a</sup>	200,5±13,5 <sup>a</sup>	265,3±53,9 <sup>b</sup>
	Secagem	0,108±0,03 <sup>a</sup>	2,69±0,53 <sup>a</sup>	0,35±0,07 <sup>a</sup>	0,056±0,008 <sup>a</sup>	0,457±0,05 <sup>a</sup>	34,63±10,5 <sup>a</sup>	238,4±19,2 <sup>a</sup>	525,7±113,3 <sup>a</sup>
48h	Fermentação	0,016±0,01 <sup>b</sup>	0,22±0,01 <sup>c</sup>	0,39±0,15 <sup>b</sup>	0,043±0,005 <sup>a</sup>	0,378±0,03 <sup>a</sup>	28,2±8,0 <sup>a</sup>	210,2±32,6 <sup>a</sup>	281,9±30,6 <sup>b</sup>
	Secagem	0,090±0,01 <sup>a</sup>	1,71±0,36 <sup>b</sup>	0,85±0,21 <sup>ab</sup>	0,043±0,007 <sup>a</sup>	0,360±0,05 <sup>a</sup>	33,2±8,8 <sup>a</sup>	232,3±75,9 <sup>a</sup>	374,6±25,4 <sup>ab</sup>

mg/gNS - miligramas por grama de nibs seco; mgEC/gNS - miligramas de Equivalentes em Catequina por grama de Nibs Seco;  $\mu\text{molET/gNS}$  -  $\mu\text{mol}$  de equivalente trolox por grama de nibs seco ( $\mu\text{molET/gNS}$ ).

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

Na Tabela 8 é possível observar que após a fermentação não foi verificada diferença significativa em relação aos compostos fenólicos e capacidade antioxidante entre as diferentes condições estudadas. No entanto na etapa de secagem ocorre uma diminuição na concentração da (-)-epicatequina das amêndoas provenientes dos frutos que foram armazenados durante 48h.

Nazaruddin et al. (2006) estudaram compostos fenólicos em amêndoas de cacau de frutos armazenados, a 23°C, durante 5, 10 e 15 dias antes do início da sua fermentação. O processo de armazenamento, antes da fermentação, não teve efeito significativo no conteúdo de (+)-catequina, enquanto que para a (-)-epicatequina foi observado uma diminuição significativa para todas as condições estudadas. Além disso, o pré-condicionamento influenciou na degradação dos compostos fenólicos durante a fermentação. Na amostra sem pré-condicionamento o conteúdo de (-)-epicatequina e (+)-catequina, antes da fermentação foi de aproximadamente 70 e 10,54 mg/g, respectivamente, e após 5 dias de fermentação foi de aproximadamente 15 e 4,31 mg/g, respectivamente. Enquanto que a amostra com pré-condicionamento de 5 dias o conteúdo de (-)-epicatequina e (+)-catequina foi de aproximadamente 50 e 9,6 mg/g, respectivamente, e após 5 dias de fermentação foi de aproximadamente, 5 mg/g e 1,76 mg/g, respectivamente, esse comportamento foi semelhante para as outras condições.

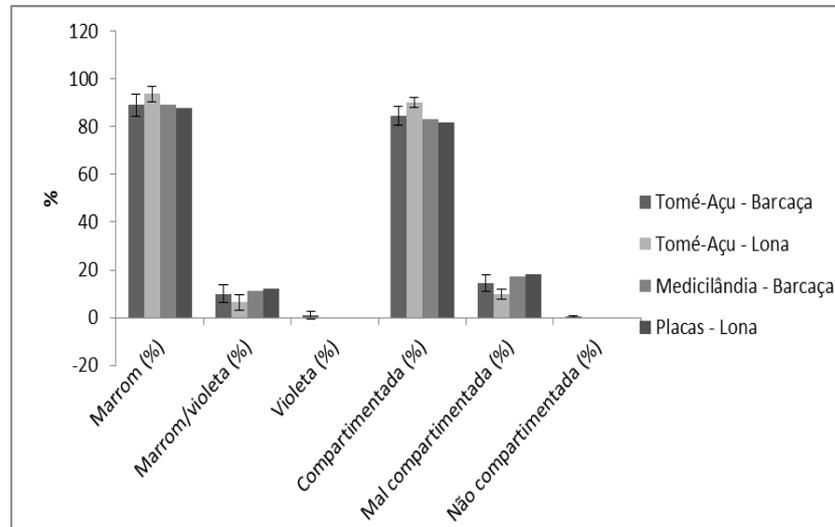
## 5.5 INFLUÊNCIA DE DIFERENTES POLOS PRODUTORES DE CACAU DO ESTADO DO PARÁ NA QUALIDADE DA AMÊNDOA

Após a secagem das amêndoas de cacau fermentadas durante 7 dias em leito de 60 cm foi observado que as amêndoas obtidas no município de Tomé-açu (barcaça e lona) e Medicilândia e Placas apresentaram umidade de 6,65, 7,87, 6,44 e 13,59%, respectivamente.

A variação da umidade das amêndoas deve-se as diferentes condições climáticas dos municípios que as amêndoas foram submetidas e aos diferentes dias de secagem. Com isso, as amêndoas obtidas no município de Placas precisariam de mais dias para que tivesse sido realizada uma boa secagem.

Na Figura 9, é possível observar que nos municípios estudados foram obtidas amêndoas de cacau de boa qualidade, com coloração marrom acima de 60% e amêndoas com boa compartimentação entre 82 e 90%. Logo, apesar das diferentes condições dos processos de fermentação, cesto (Placas) ou caixa de madeira (Medicilândia e Tome-Açu), e secagem, lona (Placas e Tomé-Açu) ou barcaça (Medicilândia e Tomé-Açu), é possível observar que 7

dias fermentação foi suficiente para garantir uma boa fermentação das amêndoas de cacau nos três municípios.



**Figura 9.** Determinação da coloração e grau de compartimentação, através do teste de corte, das amêndoas de cacau obtidas nos municípios de Tomé-Açu, Medicilândia e Placas.

Na Tabela 9, é possível observar que durante o processo de fermentação, as amêndoas obtidas nos municípios de Tomé-Açu e Placas apresentaram maior concentração dos compostos fenólicos, (+)-catequina, (-)-epicatequina, procianidina B2, quercetina-3-glicosídeo e (+)-dihidrocaempferol, no 4º dia de fermentação. Enquanto que as amêndoas obtidas no município de Medicilândia apresentaram variação na concentração dos compostos fenólicos durante a fermentação.

Após a secagem das amêndoas, fermentadas durante 7 dias, houve aumento na concentração dos compostos fenólicos para os três municípios. Com exceção dos compostos quercetina-3-glicosídeo e (+)-dihidrocaempferol que diminuíram após o processo de secagem das amêndoas obtidas nos municípios de Placas e Medicilândia.

A capacidade antioxidante das amêndoas, apresentada na Tabela 9 foi maior para todos os municípios no 4º dia de fermentação. Exceto para as amêndoas obtidas no município de Placas que apresentaram maior capacidade antioxidante no 2º dia de fermentação e as amêndoas obtidas no município de Medicilândia que apresentaram maior capacidade antioxidante as sementes não fermentadas, determinada pelo método ORAC.

**Tabela 9.** Avaliação da concentração dos compostos fenólicos (mg/gNS) e capacidade antioxidante, FC (mgEC/gNS), DPPH e ORAC ( $\mu\text{molET/gNS}$ ), das amêndoas obtidas nos municípios de Tomé-Açu, Medicilândia e Placas.

Município	Tempo de fermentação (dias)	Secagem	(+)- Catequina	(-)- Epicatequina	Procianidina B2	Quercetina-3-glicosídeo	(+)- Dihidrocaempferol	FC	DPPH	ORAC
Tomé-Açu	0	-	0,026±0,002	0,03±0,02	0,015±0,007	0,022±0,002	0,273±0,016	16,3±5,5	194,1±28,8	151,4±37,97
	2	-	0,025±0,001	0,06±0,04	0,092±0,071	0,047±0,019	0,416±0,168	29,1±4,8	184,5±33,6	314,4±90,79
	4	-	0,031±0,010	0,55±0,32	0,564±0,415	0,055±0,017	0,451±0,137	35,9±5,5	270,1±16,2	392,6±75,33
	7	-	0,016±0,014	0,22±0,01	0,391±0,152	0,043±0,005	0,378±0,034	28,2±8,0	210,2±32,6	281,9±30,62
	7	Barçaça	0,09±0,013	1,71±0,36	0,855±0,211	0,043±0,007	0,36±0,054	33,2±8,8	232,3±75,9	374,6±25,45
	7	Lona	0,098±0,052	3,61±2,99	1,091±0,523	0,066±0,028	0,477±0,114	30,9±7,6	209,9±36,1	349,7±32,61
Placas	0	-	0,025	0,056	0,071	0,043	0,587	7,72	259,8	274,98
	2	-	0,026	0,125	0,324	0,089	0,899	30,19	281,04	319,39
	4	-	0,026	0,269	0,447	0,083	0,887	48,02	282,28	291,02
	7	-	0,02	0,201	0,175	0,023	0,522	25,33	185,24	200,08
	7	Lona	0,081	1,337	0,883	0,067	0,637	53,46	129,28	331,76
Medicilândia	0	-	0,055	1,054	0,425	0,061	0,602	20,27	363,66	479,53
	2	-	0,032	0,259	0,332	0,091	0,797	29,29	352,42	379,62
	4	-	0,037	0,416	0,486	0,068	0,637	39,71	373,47	398,66
	7	-	0,065	0,969	0,883	0,071	0,683	39,96	380,9	459,51
	7	Barçaça	0,164	3,169	1,295	0,051	0,481	30,48	377,99	554,93

mg/gNS - miligramas por grama de nibs seco; mgEC/gNS - miligramas de Equivalentes em Catequina por grama de Nibs Seco;  $\mu\text{molET/gNS}$  -  $\mu\text{mol}$  de equivalente trolox por grama de nibs seco ( $\mu\text{molET/gNS}$ ).

Após a secagem, as amêndoas de cacau obtidas no município de Placas foram as que apresentaram menor valor DPPH e ORAC e as amêndoas obtidas no município de Medicilândia foram as que apresentaram maior valor. No entanto o município de Placas apresentou valor FC para as amêndoas secas.

As amêndoas fermentadas, durante 7 dias, e secas obtidas nos municípios de Tomé-Açu, em barçaça e lona, Medicilândia e Placas apresentaram valor FC de  $33,2 \pm 8,8$ ,  $30,9 \pm 7,6$ ,  $30,48$  e  $53,46$  (mgEC/gNS), respectivamente. No estudo feito por Carrillo, Londoño-Londoño e Gil (2014), com extratos de amêndoas fermentadas e secas, de diferentes fazendas da Colômbia, que realizavam práticas agrícolas semelhantes, esse valor variou de  $44,94 \pm 1,17$  a  $70,09 \pm 1,98$  mg equivalente de ácido gálico / g de amostra seca.

## 5.6 CORRELAÇÃO ENTRE CAPACIDADE ANTIOXIDANTE E COMPOSTOS FENÓLICOS

A Tabela 10 apresenta a correlação entre os compostos fenólicos e os diferentes métodos de determinação da capacidade antioxidante das amêndoas não fermentadas, fermentadas e secas, em diferentes condições, provenientes dos municípios de Tomé-Açu, Medicilândia e Placas.

**Tabela 10.** Correlação entre os compostos fenólicos e capacidade antioxidante determinada pelo método FC, DPPH e ORAC.

Variáveis	ORAC	DPPH	FC	(+)- Catequina	(-)- Epicatequina	Quercetina- 3-glicosideo	(+)- Dihidro.	Procianidina B2
ORAC	1,00							
DPPH	0,65	1,00						
FC	0,72	0,71	1,00					
(+)- Catequina	0,63	0,41	0,55	1,00				
(-)- Epicatequina	0,67	0,52	0,62	0,95	1,00			
Quercetina- 3-glicosideo	0,41	0,43	0,45	0,64	0,70	1,00		
(+)-Dihidro.	0,20*	0,30**	0,23**	0,40	0,45	0,90	1,00	
Procianidina B2	0,62	0,44	0,62	0,95	0,95	0,72	0,49	1,00

\*: não significativas para  $p < 0,05$ . N=72 amostras

\* e \*\*: não significativas para  $p < 0,005$ . N=72 amostras

Na Tabela 10 é possível observar que o composto (+)-dihidrocaemferol correlacionou apenas com os compostos fenólicos para  $p < 0,005$  e não teve correlação apenas para o método ORAC para  $p < 0,05$ . Os demais compostos se correlacionaram entre si e com a capacidade antioxidante para  $p < 0,05$  e  $0,005$ .

Os diferentes métodos para determinar a capacidade antioxidante também se correlacionaram entre si, para  $p < 0,05$  e  $0,005$ .

A correlação significa o quanto o comportamento de uma variável está relacionado a outra em um determinado processo. Logo como os compostos fenólicos e capacidade antioxidante apresentaram correlação significativa entre si então pode-se dizer que o comportamento da concentração dos compostos fenólicos e capacidade antioxidante apresentaram-se semelhante nos diferentes processos de fermentação e secagem e entre os diferentes municípios, ou seja, quando aumentava ou diminuía a concentração de um composto os outros também aumentavam ou diminuía assim como a capacidade antioxidante.

No estudo feito por Suazo, Davidov-Pardo e Arozarena (2014) foi observado que a correlação entre FC e DPPH, após os tratamentos de torração e fermentação apresentou  $r = 0,467$ ,  $p > 0,05$ . Segundo Suma et al. (2006), as alterações determinadas pelo método DPPH não tem a mesma tendência em comparação com as mudanças determinadas pelo método FC devido as concentrações de substâncias redutoras, tais como polifenóis, medidos pela técnica de FC nem sempre ter uma relação estreita com a atividade antioxidante determinados pelo método DPPH.

Carrillo, Londoño-Londoño e Gil (2014) encontram em seus estudos, com amêndoas fermentadas e secas, correlação entre ORAC e as variáveis FC e epicatequina  $r = 0,678$  e  $0,677$ , respectivamente.

No estudo de Jolić et al. (2011) com amêndoas fermentadas e secas foi verificado que o conteúdo de compostos fenólicos totais e de procianidinas foram correlacionadas com a capacidade antioxidante, determinada pelo método ORAC, ( $r = 0,9653$  e  $0,9510$ , respectivamente), sugerindo que os compostos fenólicos, incluindo procianidinas representam a principal fonte da capacidade antioxidante em amêndoas de cacau e seus produtos.

## 6 CONCLUSÃO

Foi observado que não houve diferença significativa na concentração dos compostos fenólicos e capacidade antioxidante entre: as amêndoas obtidas de frutos colhidos e quebrados no mesmo dia e quebrados 48h após a colheita; as diferentes alturas de leito de fermentação; tempo de fermentação; e secagem em lona e barçaça.

Em relação ao processo de torração foi observado que o aumento do tempo e da temperatura aumentou a concentração da (+)-catequina e diminuição dos demais compostos fenólicos estudados, sendo que a temperatura exerceu maior influencia.

Os municípios de Tomé-Açu, Medicilândia e Placas apresentaram maior capacidade antioxidante e concentração dos compostos de fenólicos no 4º dia de fermentação.

Logo, como os diferentes processamentos não influenciaram na concentração dos compostos fenólicos e capacidade antioxidante e também foi possível observar através do teste de corte que no 7º dia de fermentação as amêndoas estavam bem fermentadas, pode-se dizer que 7 dias de fermentação, secagem em lona ou barçaça e torradas em temperaturas baixas garantem amêndoas de boa qualidade e com características bioativas.

## 7 REFERENCIAS

- AFOAKWA, E. O.; PATERSON, A.; FOWLER, M.; RYAN, A.. Flavor Formation and Character in Cocoa and Chocolate: A Critical Review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**. v.48, p.840–857. 2008.
- AIKPOKPODION, P. E.; DONGO, L. N.. Effects of fermentation intensity on polyphenols and antioxidant capacity of cocoa beans. **International Journal of Sustainable Crop Production**. v.5, n.4, p.66-70. 2010.
- AMIN, M. M.; SEABRA, J. A.. **Análise de causalidade de preços no mercado nacional e internacional de cacau**. In: XLVII Congresso da sociedade brasileira de economia e sociologia Rural. 2009.
- ANDRES-LACUEVA, C.; MONAGAS, M.; KHAN, N.; IZQUIERDO-PULIDO, M.; URPI-SARDA, M.; PERMANYER, J.; LAMUELA-RAVENTÓS, R.. Flavanol and Flavonol Contents of Cocoa Powder Products: Influence of the Manufacturing Process. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.56, n.9, p.3111–3117. 2008.
- AOAC. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, 16ed. 1997.
- ARLORIO, M.; LOCATELLI, M.; TRAVAGLIA, F.; COISSON, J.-D.; DEL GROSSO, E.; MINASSI, A; APPENDINO, G.; MARTELLI, A.. Roasting impact on the contents of clovamide (N-caffeoyl-L-DOPA) and the antioxidant activity of cocoa beans (*Theobroma cacao* L.). **Food Chemistry**. v.106, p.967–975. 2008.
- ARTS, I. C.; VAN DE PUTTE, B.; HOLLMAN, P.C.. Catechin contents of foods commonly consumed in The Netherlands. 2. Tea, wine, fruit juices, and chocolate milk. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.48, p.1752–7. 2000.
- BECKETT, S. T. **Industrial chocolate manufacture and use**, 4 ed. Chichester: John Wiley Sons Ltda, 2009.
- BELŠČAK, A.; KOMES, D.; HORZZIČ, D.; GANIĆ, K.; KARLOVIĆ, D.. Comparative study of commercially available cocoa products in terms of their bioactive composition. **Food Research International**. v.42, p.707–716. 2009.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - Instrução Normativa n° 57, de 12 de nov. de 2008. Regulamento Técnico da Amêndoa de Cacau. **Diário Oficial da União**. 2008a.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - Instrução Normativa n° 38, de 23 de Junho de 2008. Regulamento Técnico da Amêndoa de Cacau. **Diário Oficial da União**. 2008b.
- 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**. Tese (Doutor em Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas. 2000.
- CALIGIANI, A.; CIRLINI, M.; PALLA, G.. GC–MS detection of chiral markers in cocoa beans of different quality and geographic origin. **Chirality**. v.19, p.329–334. 2007.

- CARRILLO, L. C.; LONDOÑO-LONDOÑO, J.; GIL, A.. Comparison of polyphenol, methylxanthines and antioxidant activity in *Theobroma cacao* beans from different cocoa-growing areas in Colombia. **Food Research International**. v.60, p.273–280. 2014.
- CEPLAC. Frutal Amazônia-Flor Pará. **Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira**. 2011a.
- CEPLAC. Melhoria da qualidade do cacau. **Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira**. 2011b.
- CLIFFORD, M. N.. Chlorogenic acids and other cinnamates— nature, occurrence, dietary burden, absorption and metabolism. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. v.80, p.1033–1043. 2000.
- COOPER, K. A.; CAMPOS-GIMÉNEZ, E.; ALVAREZ, D. J.; NAGY, K.; DONOVAN, J. WILLIAMSON, G.. Rapid Reversed Phase Ultra-Performance Liquid Chromatography Analysis of the Major Cocoa Polyphenols and Inter-relationships of Their Concentrations in Chocolate. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.55, p.2841-2847. 2007.
- COUNET, C.; CALLEMIEN, D.; COLLIN, S.. Chocolate and cocoa: New sources of trans-resveratrol and trans-piceid. **Food Chemistry**. v.98, p.649–657. 2006.
- COUNET, C.; COLLIN, S.. Effect of the number of flavanol units on the antioxidant activity of procyanidin fractions isolated from chocolate. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.51, p.6816–6822. 2003.
- COUNET, C.; OUWERX, C.; ROSOUX, D.; COLLIN, S.. Relationship between procyanidin and flavor contents of cocoa liquors from different origins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.52, p.6243-6249. 2004.
- CROZIER, S. J.; PRESTON, A. G.; HURST, W. J.; PAYNE, M. J.; MANN, J.. Cacao seeds are a “Super Fruit”: A comparative analysis of various fruit powders and products. **Chemistry Central Journal**. v.5, n.5. 2011.
- D’ARCHIVIO, M.; FILESI, C.; DI BENEDETTO, R.; GARGIULO, R.; GIOVANNINI, C.; MASELLA, R.. Polyphenols, dietary sources and bioavailability. **Annali dell’Istituto Superiore di Sanità**, v.43, n.4, p.348–361. 2007.
- DI MATTIA, C.; MARTUSCELLI, M.; SACCHETTI, G.; SCHEIRLINCK, I.; BEHEYDT, B.; MASTROCOLA, D.; PITTIA, P.. Effect of fermentation and drying on procyanidins, antiradical activity and reducing properties of cocoa beans. **Food Bioprocess Technol**. v.6, p.3420–3432. 2013.
- DONOVAN, J. L.; HOLES-LEWIS, K. A.; CHAVIN, K. D.; EGAN, B. M.. Cocoa and health. In A. Crozier, H. Ashihara, and F. Tomás-Barbéran (Ed.), **Teas, cocoa and coffee** (p. 219–246). UK: Blackwell Publishing. 2012.
- ESATBEYOGLU, T.. **Analyse wertgebender Inhaltsstoffe von Aronia melanocarpa sowie Charakterisierung und Isolierung von Proanthocyanidinen** (Ph.D. thesis, in German). Göttingen, Germany: Cuvillier Verlag. 2011.
- ESATBEYOGLU, T.; WRAY, V.; WINTERHALTER, P.. Isolation of dimeric, trimeric, tetrameric and pentameric procyanidins from unroasted cocoa beans (*Theobroma cacao* L.) using countercurrent chromatography. **Food Chemistry**. v.179, p.278–289. 2015.
- EFRAIM, P.; PEZOA-GARCÍA, N. H.; JARDIM, D. C.; NISHIKAWA, A.; HADDAD, R.; EBERLIN, M. N.. Influência da fermentação e secagem de amêndoas de cacau no teor de

- compostos fenólicos e na aceitação sensorial. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, p. 142-150. 2010.
- ELWERS, S.; ZAMBRANO, A.; ROHSIUS, C.; LIEBEREI, R.. Differences between the content of phenolic compounds in Criollo, Forastero and Trinitario cocoa seed (*Theobroma cacao* L.). **European Food Research Technology**. v.229, p.:937–948. 2009.
- EMMANUEL, O. A.; JENNIFER, Q.; AGNES, S. B.; JEMMY, S. T.; FIRIBU, K. S.. Influence of pulp-preconditioning and fermentation on fermentative quality and appearance of Ghanaian cocoa (*Theobroma cacao*) beans. **International Food Research Journal**. v.19, n.1, p.127-133. 2012.
- FERNÁNDEZ-PACHÓN, M. S.; VILLANO, D.; TRONCOSO, A. M.; GARCIA-PARRILLA, M. C. Determination of the phenolic composition of sherry and table White wines by liquid chromatography and their relation with antioxidant activity. **Analytica chimica acta**, v.563, p.101-108, 2006.
- GU, L.; HOUSE, S. E.; WU, X.; OU, B.; PRIOR, R.. Procyanidin and catechin contents and antioxidant capacity of cocoa and chocolate products. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**. v.54, p.4057–4061. 2006.
- HAMMERSTONE, J. F., LAZARUS, S. A., MITCHELL, A. E.; Rucker, R.; Schmitz, H.. Identification of procyanidins in cocoa (*Theobroma cacao*) and chocolate using HPLC/mass spectrometry. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**. v.47, p.490–496. 1999.
- HII, C. L.; LAW, C. L.; SUZANNAH, S.; MISNAWI, S.; CLOKE, M.. Polyphenols in cocoa (*Theobroma cacao* L.). **Asian Journal of Food and Agro-Industry**. v.2, n.4, p.702–722. 2009a.
- HII, C. L.; LAW, C. L.; CLOKE, M.; SUZANNAH, S. Thin layer drying kinetics of cocoa and dried product quality. **Biosystems Engineering**. v.102, p.153–161. 2009b.
- HII, C. L.; LAW, C. L.; CLOKE, M.. Modeling using a new thin layer drying model and product quality of cocoa. **Journal of Food Engineering**. v.90, p.191–198. 2009.
- HUANG, D.; OU, B.; HAMPSCH-WOODILL, M. F.; JUDITH, A.; PRIOR, R. L. High-throughput assay of oxygen radical absorbance capacity (ORAC) using a multichannel liquid handling system coupled with a microplate fluorescence reader in 96-well format. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.50, p.4437-4444. 2002.
- HURST, W. F.; KRAKE, S. H.; BERGMEIER, S.C.; PAYNE, M. J.; MILLER, K. B.; STUART, D. A.. Impact of fermentation, drying, roasting and dutch processing on flavan-3-ol stereochemistry in cacao beans and cocoa ingredients. **Chemistry Central Journal**. v.5, n.53. 2011.
- IBGE. Indicadores IBGE. **Estatística da Produção Agrícola**. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2014.
- ICCO - International Cocoa Organization. **Quarterly Bulletin of Cocoa Statistics**. v. XLI, n.4, Cocoa year 2014/15. 2015.
- IGNAT, I.; VOLF, I.; POPA, V.. A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. **Food Chemistry**. v.126, p.1821–1835. 2011.

- IOANNONE, F.; DI MATTIA, C. D.; DE GREGORIO, M.; SERGI, M.; SERAFINI, M.; SACCHETTI, G.. Flavanols, proanthocyanidins and antioxidant activity changes during cocoa (*Theobroma cacao* L.) roasting as affected by temperature and time of processing. **Food Chemistry**. v.174, p.256–262. 2015.
- JAGANATH, I. B.; CROZIER, A.. Dietary flavonoids and phenolic compounds. In C. G. FRAGA (Ed.), **Plant phenolics and human health: biochemistry, nutrition and pharmacology**. Hoboken, New Jersey, John Wiley and Sons, Inc. p.1-49. 2010.
- JOLIĆ, S. M.; REDOVNIKović, I. R.; MARKOVIĆ, K.; ŠIPUŠIĆ, D. I.; DELONGA, K.. Changes of phenolic compounds and antioxidant capacity in cocoa beans processing. **International Journal of Food Science and Technology**. v.46, p.1793–1800. 2011.
- JULKUNEN-TIITTO, R. Phenolic constituents in the leaves of Northern Willows: methods for the analysis of certain phenolics. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.33, p.213-217. 1985.
- KADOW, D.; BOHLMANN, J.; PHILLIPS, W.; LIEBEREI, R.. Identification of main fine flavour components in two genotypes of the chocolate tree (*Theobroma cacao* L.). **Journal of Applied Botany and Food Quality**, v.86, p.90-98. 2013.
- KOFINK, M.; PAPAGIANNPOULOS, M.; GALENSA, R.. (-)-Catechin in cocoa and chocolate: occurrence and analysis of an atypical flavan-3-ol enantiomer. **Molecules**, v.12, p.1274–1288. 2007.
- KÖHLER, N. **Entwicklung und Anwendung leistungsfähiger präparativer gegenstromverteilungschromatographischer Trenntechniken** (Ph.D. thesis, in German). Göttingen, Germany: Cuvillier Verlag. 2006.
- KOTHE, L.; ZIMMERMANN, B. F.; GALENSA, R.. Temperature influences epimerization and composition of flavanol monomers, dimers and trimers during cocoa bean roasting. **Food Chemistry**. v.141, p.3656–3663. 2013.
- KRÄHMER, A.; ENGEL, A.; KADOW, D.; ALI, N.; UMAHARAN, P.; KROH, L.; SCHULZ, H.. Fast and neat – Determination of biochemical quality parameters in cocoa using near infrared spectroscopy. **Food Chemistry**. v.181, p.152–159. 2015.
- KRYSIAK, W.; ADAMSKI, R.; ŻYŻELEWICZ, D.. Factors affecting the colour of roasted cocoa bean. **Journal of Food Quality**. v.36, p.21–31. 2013.
- KRYSIAK, W.; MOTYL-PATELSKA, L.. Effects of air parameters on changes in temperature inside roasted cocoa beans. **Acta Agrophysica**. v.7, n.1, p.113-127. 2006.
- KYI, T. M.; DAUD, W. R.; MOHAMMAD, A. B.; SAMSUDIN, M. W.; KADHUM, A. A.; TALIB, M. Z.. The kinetics of polyphenol degradation during the drying of Malaysian cocoa beans. **International Journal of Food Science and Technology**. v.40, p.323–331. 2005.
- LAFAY, S.; GIL-IZQUIERDO, A.. Bioavailability of phenolic acids. **Phytochem Rev**. v.7, p.301–311. 2008.
- LIMA, L. J. R.; ALMEIDA, M. H.; NOUT, R. M. J.; ZWIETERIG, M. H.. *Theobroma cacao* L., “The Food of the Gods”: quality determinants of commercial cocoa beans, with particular reference to the impact of fermentation. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.51, n.8, p.731–761. 2011.
- LIU, A. H.; LI, L.; XU, M.; LIN, Y. H.; GUO, H. Z.; GUO, D. A.. Simultaneous quantification of six major phenolic acids in the roots of *Salvia miltiorrhiza* and four

- related traditional Chinese medicinal preparations by HPLC-DAD method. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**. v.41, p.48–56. 2006.
- MANACH, C.; SCALBERT, A.; MORAND, C.; RÉMÉSY, C.; JIMÉNEZ, L.. Polyphenols: food sources and bioavailability. **American Society for Clinical Nutrition**. v.79, p.727–47. 2004.
- MAZZA, G.; MANIATI, E.. **Anthocyanins in fruits, vegetables, and grains**. Boca Raton, FL: CRC Press, 1993.
- MENDES, F. A. T.; REIS, S. M. **Comportamento do preço do cacau em amêndoas nos Estados do Pará e Bahia: uma análise das diferenças**. CEPLAC. Belém, PA, Brasil. In.
- XLIV Congresso da sociedade brasileira de economia e sociologia Rural. Fortaleza, CE, 2006.
- MISNAWI, S. J.; JAMILAH, B.; NAZAMID, S.. Changes in polyphenol ability to produce astringency during roasting of cocoa liquor. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.85, p.917–924. 2005.
- MISNAWI, S. J.; TEGUH, W.. Cocoa Chemistry and Technology (Roles of Polyphenols and enzymes reactivation in flavour development of under-fermented cocoa beans. **Lambert Academic Publishing**. p.66-69. 2010.
- NACZK, M.; SHAHIDI, F.. Extraction and analysis of phenolics in food. **Journal of Chromatography A**, v.1054, p.11–95. 2004.
- NAZARUDDIN, R.; SENG, L. K.; HASSAN, O.; SAID, M.. Effect of pulp preconditioning on the content of polyphenols in cocoa beans (*Theobroma Cacao*) during fermentation. **Industrial Crops and Products**. v.24, p.87–94. 2006.
- NIELSEN, D. S.; TENIOLA, O. D.; BAN-KOFFI, L.; OWUSU, M.; ANDERSSON, T. S.; HOLZAPFEL, W. H.. The microbiology of Ghanaian cocoa fermentations analyzed using culture dependent and culture-independent methods. **International Journal Food Microbiology**. v.114, p.168–186. 2007.
- NIELSEN, D. S., CRAFACK, L.J., JAKOBSEN, M.. **The microbiology of cocoa fermentation**. In: Watson, R.R., Preedy, V.R., Zibadi, S. (Eds.), *Chocolate in Health and Nutrition*. Humana Press, London, pp. 39–60. 2013.
- NIEMENAK, N.; ROHSIUS, C.; ELWERS, S.; OMOKOLO, D.; LIEBEREI, R.. Comparative study of different cocoa (*Theobroma cacao* L.) clones in terms of their phenolics and anthocyanins contents. **J Food Comp Anal**. v.19, p.612–9. 2006.
- OETTERER, M. **Tecnologias de obtenção do cacau, produtos do cacau e do chocolate**. In: OETTERER, M., REGITANO, M.A.B., SPOTO, M.H.F. *Fundamentos de Ciência e Tecnologia de Alimentos*. Editora Manole Ltda. São Paulo, 2006.
- ORTEGA, N.; ROMERO, M. P.; MACIÀ, A.; REGUANT, J.; ANGLÈS, N.; MORELLÓ, J. R.; MOTILVA, M. J.. Comparative study of UPLC–MS/MS and HPLC–MS/MS to determine procyanidins and alkaloids in cocoa samples. **Journal of Food Composition and Analysis**. v.23, p.298–305. 2010.
- ORTEGA, N.; ROMERO, M. P.; MACIÀ, A.; REGUANT, J.; ANGLÈS, N.; MORELLÓ, J. R.; MOTILVA, M. J.. Obtention and characterization of phenolic extracts from different cocoa sources. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.56, n.20, p.9621–9627. 2008.

- OTHMAN, A.; ISMAIL, A.; GHANI, N. A.; ADENAN, I. Antioxidant capacity and phenolic content of cocoa beans. **Food Chemistry**. v.100, p.1523–1530. 2007.
- PAREJO, I.; JAUREGUI, O.; SANCHEZ-RABANEDA, F.; VILADOMAT, F.; BASTIDA, J.; CODINA, C.. Separation and characterization of phenolic compounds in fennel (*Foeniculum vulgare*) using liquid chromatography-negative electrospray ionization tandem spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.52, p.3679–3687. 2004.
- PAYNE, M. J.; HURST, W. J.; MILLER, K. B.; RANK, C.; STUART, D. A.. Impact of Fermentation, Drying, Roasting, and Dutch Processing on Epicatechin and Catechin Content of Cacao Beans and Cocoa Ingredients. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.58, n.19, p.10518–10527. 2010.
- PEREIRA-CARO, G.; BORGES, G.; NAGAI, C.; JACKSON, M. C.; YOKOTA, T.; CROZIER, A.; ASHIHARA, H.. Profiles of phenolic compounds and purine alkaloids during the development of seeds of *Theobroma cacao* cv. Trinitario. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.61, n.2, p.427–434. 2013.
- PORTER, L. J.; IN: HARBORNE, J. B. (Ed.), **The Flavanoids**, Chapman and Hall Ltd., New York, p. 23. 1988.
- PRIOR, R. L.; HOANG, H., GU, L.; WU, X.; BACCHIOCCA, M.; HOWARD, L.. Assays for hydrophilic and lipophilic antioxidant capacity (oxygen radical absorbance capacity (ORAC(FL))) of plasma and other biological and food samples. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.51, n.11, p.3273–3279. 2003.
- PRIOR, R. L.; WU, X.; SCHAICH, K.. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.53, p.3101–3113. 2005.
- QUEIROZ, M. B. **Estudo dos parâmetros de torração de amêndoas de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*)**. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, UNICAMP, 1999.
- QUIÑONES, M.; SÁNCHEZ, D.; MUGUERZA, B.; MIGUEL, M.; ALEIXANDRE, A.. Mechanisms for antihypertensive effect of CocioanOX, a polyphenol-rich cocoa powder, in spontaneously hypertensive rats. **Food Research International**, v.44, n.5, p.1203–1208. 2011.
- RAMIREZ-SANCHEZ, I.; MAYA, L.; CEBALLOS, G.; VILLARREAL, F.. Fluorescent detection of (-)-epicatechin in microsamples from cacao seeds and cocoa products: Comparison with Folin- Ciocalteu method. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 23, n. 8, p. 790-793. 2010.
- REDGWELL, R. J.; TROVATO, V.; CURTI, D.. Cocoa bean carbohydrates: roasting-induced changes and polymer interactions. **Food Chemistry**. v.80, p.511–516. 2003.
- ROBBINS, R.; LEONCZAK, J.; JOHNSON, J.; LI, J.; KWIK-URIBE, C.; PRIOR, R.; GU, L.. Method performance and multi-laboratory assessment of a normal phase high pressure liquid chromatography–fluorescence detection method for the quantitation of flavanols and procyanidins in cocoa and chocolate containing samples. **Journal of Chromatography A**. v.1216, p.4831–4840. 2009.
- RUSCONI, M.; CONTI, A.. *Theobroma cacao* L., the food of the gods: A scientific approach beyond myths and claims. **Pharmacology Res**. v.61, p.5–13. 2010.

- SACCHETTI, G.; IOANNONE, F.; GREGORIO, M.; DI MATTIA, C.; SERAFINI, M.; MASTROCOLA, D. Non enzymatic browning during cocoa roasting as affected by processing time and temperature. **Journal of Food Engineering**. v.169, p.44-52. 2016.
- SÁNCHEZ-RABANEDA, F.; JÁUREGUI, O.; CASALS, I.; ANDRÉS-LACUEVA, C.; IZQUIERDO-PULIDO, M.; LAMUELA-RAVENTÓS R.. Liquid chromatographic/electrospray ionization tandem mass spectrometric study of the phenolic composition of cocoa (*Theobroma cacao*). **Journal of mass spectrometry**. v.38, p.35–42. 2003.
- SANTOS, C. C.. **Influência dos processos de fermentação e secagem no teor de compostos fenólicos e capacidade antioxidante de amêndoas de cacau amazônico (*Theobroma cacao* var. Forasteiro)**. Dissertação de Mestrado. Ciência e Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal do Pará. 2013.
- SCHINELLA, G.; MOSCA, S.; CIENFUEGOS-JOVELLANOS, E.; PASAMAR, M.; MUGUERZA, B.; RAMÓN, D.; RÍOS, J.. Antioxidant properties of polyphenol-rich cocoa products industrially processed. **Food Research International**. v.43, p.1614–1623. 2010.
- SHAHIDI, F.; NACZK, M.. **Phenolics in food and nutraceuticals**. Boca Raton, FL, USA: CRC Press. 2003.
- SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **Am. J. Enol. Vitic**, 1965.
- SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMELA-RAVENTÓS, R. M.. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidant means of Folin–Ciocalteu reagent. **Methods in Enzymology**. v.299, p.152–178. 1999.
- SRDJENOVIC, B.; DJORDJEVIC-MILIC, V.; GRUJIC, N.; INJAC, R.; LEPOJEVIC, Z.. Simultaneous HPLC determination of caffeine, theobromine, and theophylline in food, drinks, and herbal products. **Journal of Chromatographic Science**, v.46, n.2, p.144–149. 2008.
- STARK, T.; BAREUTHER, S.; HOFMANN, T.. Sensory-guided decomposition of roasted cocoa nibs (*Theobroma cacao*) and structure determination of taste-active polyphenols. **Journal of Agricultural Food Chemistry**. v.53, p.5407-5418. 2005.
- STARK, T.; HOFMANN, T.. Isolation, structure determination, synthesis, and sensory activity of N-phenylpropenoyl-L-amino acids from cocoa (*Theobroma cacao*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.53, n.13, p.5419–5428. 2005.
- SUAZO, Y.; DAVIDOV-PARDO, G.; AROZARENA, I.. Effect of fermentation and roasting on the phenolic concentration and antioxidant activity of cocoa from Nicaragua. **Journal of Food Quality**. v.37, p.50–56. 2014.
- SUMMA, C.; RAPOSO, F. C.; MCCOURT, J.; SCALZO, R. L.; WAGNER, K. H.; ELMADFA, I.; ANKLAM, E.. Effect of roasting on the radical scavenging activity of cocoa beans. **European Food Research Technology**. v.222, p.368–375. 2006.
- TEYE, C.; HUANG, X.; DAI, H.; CHEN, Q.. Rapid differentiation of Ghana cocoa beans by FT-NIR spectroscopy coupled with multivariate classification. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**. v.114, p.183–189. 2013.
- TAEYE, C.; CIBAKA, M.; JERKOVIC, V.; COLLIN, S.. Degradation of (-)-epicatechin and procyanidin B2 in aqueous and lipidic model systems. First evidence of “chemical”

flavan-3-ol oligomers in processed cocoa. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.62, p.9002–9016. 2014.

TOMÁS-BARBÉLAN, F.; BORGES, G.; CORZIER, A.. Phytochemicals in cocoa and flavan-3-ol bioavailability. In A. Crozier, H. Ashihara, & F. Tomás-Barbéran (Ed.), **Teas, cocoa and coffee** (p. 193–218). UK: Blackwell Publishing. 2012.

VOIGT, J.. **Chocolate and cocoa aroma**. In: Watson, R.R., Preedy, V.R., Zibadi, S. (Eds.), **Chocolate in Health and Nutrition**. Humana Press, London, p.89–101. 2013.

WOLLGAST, J.; ANKLAN, E.. Polyphenols in chocolate: is there a contribution to human health? **Food Research International**, v.33, n.6, p.449-459, 2000.