



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

**Avaliação físico-química e identificação dos compostos  
voláteis em chocolates provenientes de diferentes  
variedades de cacau (*Theobroma cacao L.*)**

CALIONARA WALESKA BARBOSA DE MELO

Salvador – BA

2018

**CALIONARA WALESKA BARBOSA DE MELO**

**Avaliação físico-química e identificação dos compostos voláteis em chocolates provenientes de diferentes variedades de cacau (*Theobroma cacao L.*)**

Orientador: Prof<sup>o</sup>. Dr<sup>o</sup> Sérgio Eduardo Soares  
Coorientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Carolina Oliveira de Souza

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

Salvador – BA

2018

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema Universitário de Bibliotecas (SIBI/UFBA), com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Melo, Calionara Waleska Barbosa de  
Avaliação físico-química e identificação dos compostos voláteis  
em chocolates provenientes de diferentes variedades de cacau  
(Theobroma cacao L.) / Calionara Waleska Barbosa de Melo. --  
Salvador, 2018.  
103 f. : il

Orientador: Sérgio Eduardo Soares.  
Coorientadora: Carolina Oliveira de Souza.  
Dissertação (Mestrado - Ciência de Alimentos) --  
Universidade Federal da Bahia, Faculdade de Farmácia, 2018.

1. Chocolates monovarietais. 2. Cultivares. 3. SPME. I.  
Soares, Sérgio Eduardo. II. Souza, Carolina Oliveira de. III.  
Título.



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

## TERMO DE APROVAÇÃO

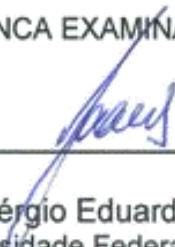
CALIONARA WALESKA BARBOSA DE MELO

### AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E IDENTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS VOLÁTEIS EM CHOCOLATES PROVENIENTES DE DIFERENTES VARIEDADES DE CACAU (THEOBROMA CACAO L.)

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos (nível Mestrado Acadêmico) da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal da Bahia, como requisito parcial para a obtenção do título de mestre em Ciência de Alimentos.

Aprovada em 28 de março de 2018.

BANCA EXAMINADORA



---

Dr. Sérgio Eduardo Soares  
Universidade Federal da Bahia  
Orientador



---

Dr.ª. Eliete da Silva Bispo  
Universidade Federal da Bahia



---

Dr.ª. Ingrid Graça Ramos  
Universidade Federal da Bahia

*Deus pai, teu espírito me deu forças ao decorrer dessa longa caminhada e me fez prosseguir. Em especial a minha avó Maria Josina de Lima, pelo amor infinito e por ter acreditado em mim, DEDICO.*

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

**Augusto Cury**

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por ser tão fiel e misericordioso e por tanta graça alcançada. A minha fonte de inspiração, responsável por todas minhas vitórias e conquistas, minha amada avó Maria Josina, a você minha amada avó (mãe), todo meu amor e gratidão. As minhas irmãs Cláudia, Claudeane e minha tia Lúcia por todo cuidado e proteção. Assim como meu avô João Barbosa, minha mãe biológica e toda a minha família, que mesmo estando longe sempre me apoiaram.

Ao Prof<sup>o</sup>. Dr<sup>o</sup>. Sérgio Eduardo, pela orientação, paciência e por ser sempre tão solícito todas as vezes que precisei no decorrer do mestrado.

À professora Dr<sup>a</sup>. Carolina Oliveira, pela orientação durante a pesquisa. Às professoras Dr<sup>a</sup>. Janice e Dr<sup>a</sup>. Aláise, e ao Dr<sup>o</sup>. Leonardo Maciel, por ter sido tão atencioso, e sempre se dispôs a me ajudar.

Às professoras Claudia Rezende e Thais Uekane pelo conhecimento transmitido e também pela oportunidade de executar as análises dos compostos voláteis em seu laboratório, assim como todos que compõem o LAROMA – UFRJ.

Aos meus colegas de mestrado, que desenvolveram seus projetos comigo. Em especial, Ferré, Nathália, Palloma, Sergiane, Tássia, Danilo e Leandro. Aos laboratórios LAPESCA, BROMATOLOGIA e ANÁLISE INSTRUMENTAL por todo suporte cedido. E à Fazenda Riachuelo, por conceder as amostras desse estudo.

Às grandes amigas Ana Laura, Thamires, Ynayara e Cássia, que eu levarei sempre comigo, e que foram pessoas fundamentais em minha vida ao longo desses dois anos. Pelo amor, companheirismo e conselhos. Que nossos laços, sejam eternos.

Aos meus amigos que mesmo longe sempre torceram e acreditaram em mim, Ivete, Francly, Roberval, Aline, Ewellyn, Pedro e, em especial, minha amiga fiel e companheira que sempre acreditou em mim, Nayara Soares. À Roberta, pela ajuda, benevolência e contribuições sempre tão produtivas e mais ainda pela parceria firmada. Assim como também aos meus sogros Zé e Lourdes, pelo acolhimento.

A meu noivo Matheus Bandeira, por ser tão paciente, atencioso e por estar sempre comigo me incentivando a ser uma pessoa melhor.

À Universidade Federal da Bahia pelo suporte e ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos pela oportunidade e acolhimento. A Fundação de Amparo e Pesquisa da Bahia – FAPESB, pela concessão da bolsa de estudos.

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO GERAL</b> .....	1
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	3
2.1 Objetivo geral .....	3
2.2 Objetivos específicos.....	3
<b>CAPITULO I – REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	4
<b>1. CACAU</b> .....	5
1.1 Cultivares clonais do cacau.....	6
1.2 Tecnologia pós-colheita.....	8
<b>2. CHOCOLATE</b> .....	11
<b>3. COMPOSTOS VOLÁTEIS</b> .....	14
3.1 Voláteis importantes para o sabor do chocolate.....	15
3.2 Análise dos compostos voláteis .....	20
3.3 Microextração em fase sólida (SPME) .....	21
3.4 Determinação do índice de retenção .....	23
<b>4. PERFIL LIPÍDICO DO CACAU E CHOCOLATE</b> .....	24
<b>5. ANÁLISE TÉRMICA</b> .....	26
<b>6. ANÁLISE MULTIVARIADA</b> .....	27
<b>7. REFERÊNCIAS</b> .....	28
<b>CAPITULO II – Determinação das propriedades físico-químicas de chocolates produzidos com diferentes cultivares de cacau (<i>Theobroma cacao L.</i>)</b> .....	35
<b>RESUMO</b> .....	36
<b>ABSTRACT</b> .....	37
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	38
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	39
2.1 Métodos.....	39
2.2 Caracterização físico-química.....	39
2.3 Análise dos dados .....	43
<b>3. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	43
3.1 Caracterização físico-química.....	43
3.2 Identificação e quantificação de ácidos graxos.....	50
3.3 Análise térmica .....	53



<b>4. CONCLUSÃO</b> .....	56
<b>5. AGRADECIMENTOS</b> .....	56
<b>6. REFERÊNCIAS</b> .....	56
<b>CAPITULO III – Perfil de compostos voláteis em chocolates monovarietais por GC-MS utilizando a técnica de HS-SPME</b> .....	60
<b>RESUMO</b> .....	61
<b>ABSTRACT</b> .....	62
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	63
<b>2. MATERIALE MÉTODOS</b> .....	64
2.1 Material .....	64
2.2 Isolamento dos compostos voláteis .....	65
2.3 Condições cromatográficas GC-MS .....	65
2.4 Determinação do índice de retenção linear (IRL) .....	65
2.5 Identificação dos compostos.....	66
2.6 Condições cromatográficas GC-FID .....	66
2.7 Análise multivariada dos compostos voláteis.....	66
<b>3. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	67
3.1 Perfil de compostos voláteis em chocolates monovarietais.....	67
3.2 Análise multivariada .....	76
<b>4. CONCLUSÃO</b> .....	81
<b>5. AGRADECIMENTOS</b> .....	82
<b>6. REFERÊNCIAS</b> .....	82
<b>7. APÊNDICES</b> .....	85
7.1 Apêndice A – curvas TG e DTG dos chocolates monovarietais.....	87
7.2 Apêndice B – Cromatogramas dos compostos voláteis dos chocolates monovarietais por GC-MS.....	88

## LISTA DE FIGURAS

### CAPITULO I

Figura 1 – Ciclo de vida da <i>Moniliophthora perniciosa</i> .....	5
Figura 2 – Variedades de cacau: <i>Criollo</i> (A), <i>Forastero</i> (B) e <i>Trinitário</i> (C).....	6
Figura 3 – Cultivares de cacau cultivadas na Bahia.....	7
Figura 4 – Fluxograma de beneficiamento do cacau.....	8
Figura 5 – Fases da fermentação: A- Fase alcoólica (anaeróbica, sem a presença de oxigênio). B- Fase acética (aeróbica, com a presença de oxigênio) .....	9
Figura 6 – Secagem natural de amêndoas de cacau feito em barcaças, tradicional do Sul da Bahia.....	10
Figura 7 – Fluxograma de processamento do chocolate.....	11
Figura 8 – Estruturas químicas dos principais compostos voláteis do sabor do chocolate.....	16

### CAPÍTULO II

Figura 1 – Diagrama de correlação linear entre o teor de pH e acidez .....	46
Figura 2 – Score e carga fatorial da Análise de Componentes Principais da composição de ácidos graxos em chocolates monovarietais.....	52
Figura 3 – Análise de agrupamento hierárquico das amostras de chocolates quanto ao perfil de AG. ....	53
Figura 4 – Curvas de TG e DTG para a amostra de chocolate PH16 contendo 70% de sólidos de cacau.....	53

### CAPÍTULO III

Figura 1 – Perfil cromatográfico do HS-SPME do chocolate monovarietal PH16 por GC-MS em coluna DB-WAX.....	67
Figura 2 – Score e carga fatorial da análise de componentes principais dos compostos voláteis em chocolates monovarietais.....	77
Figura 3 – Análise de agrupamento hierárquico das amostras de chocolates monovarietais quanto ao perfil de compostos voláteis.....	77
Figura 4 – Score da análise de componentes principais dos chocolates sob influência dos ésteres.....	78
Figura 5 – Análise de agrupamento hierárquico das amostras de chocolates monovarietais quanto a influência dos ésteres.....	79

Figura 6 – Score da análise de componentes principais dos chocolates sob influência das cetonas .....	79
Figura 7 – Análise de agrupamento hierárquico das amostras de chocolates monovarietais quanto a influência das cetonas.....	80
Figura 8 – Score da análise de componentes principais dos chocolates sob influência dos ácidos carboxílicos .....	80
Figura 9 – Análise de agrupamento hierárquico das amostras de chocolates monovarietais quanto a influência dos ácidos carboxílicos.....	81

## LISTA DE TABELAS

### CAPITULO I

Tabela 1 – Principais compostos voláteis identificados no sabor do chocolate.....	17
Tabela 2 – Tipos de fibras de SPME disponíveis comercialmente .....	23

### CAPÍTULO II

Tabela 1 – Composição físico-química das amostras de chocolates monovarietais contendo 70% de sólidos de cacau .....	43
Tabela 2 – Valores médios e desvio padrão $a_w$ , acidez titulável, pH, ponto de fusão e força de quebra para amostras de chocolates monovarietais contendo 70% de sólidos de cacau.....	45
Tabela 3 – Valores médios dos parâmetros Luminosidade ( $L^*$ ) e cromaticidade ( $a^*$ ) e ( $b^*$ ) nas amostras de chocolates monovarietais.....	49
Tabela 4 – Perfil de ácidos graxos em chocolates monovarietais contendo 70% de sólidos de cacau em mg de ácidos graxos/g de lipídios.....	51
Tabela 5 – Resultados das análises térmicas das amostras de chocolates monovarietais em atmosfera de ar sintético até 700°C .....	54

### CAPÍTULO III

Tabela 1 – Compostos voláteis tentativamente identificados (TI) no <i>headspace</i> das amostras de chocolates monovarietais por espectrometria de massas e pelo índice de retenção linear.....	68
---	----

## LISTA DE ABREVIações

AG – Ácidos graxos  
AGI – Ácidos graxos insaturados  
AGS – Ácidos graxos saturados  
ANOVA – Análise de variância  
ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária  
CEPEC – Centro de Pesquisa do Cacau  
CEPLAC – Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira  
CP – Componente principal  
CW – Carbowax  
DB-FFAP – Polietilenoglicol modificado com ácido nitrotereftlático  
DB-WAX - Polietilenoglicol  
DTG – Termogravimetria derivada  
DVB – Divinilbenzeno  
EmAG – Ésteres metílicos de ácidos graxos  
FID – Detector por ionização de chamas  
GC – Cromatografia gasosa  
GC-O – Cromatografia gasosa olfatométrica  
HCA – Análise hierárquica de agrupamento  
HS – *Headspace*  
IRL – Índice de retenção linear  
MS – Espectrometria de massas  
ND – Não detectado  
NIST – National Institute of Standards and Technology  
PA – Poliacrilato  
PCA – Análise de componentes principais  
PC – Primeiro componente  
PF – Ponto de fusão  
PDMS – Polidimetilsiloxano  
NS – nível de similaridade  
SPME – Microextração em fase sólida  
TG – Termogravimetria  
TI – Tentativamente identificado  
VAR – Variância  
VB – Vassoura de bruxa

## RESUMO

A região Sul da Bahia se destaca como a segunda maior produtora de cacau no Brasil. Em 1989, a produção de cacau foi afetada pela ocorrência da vassoura de bruxa no Brasil, causada pelo fungo (*Moniliophthora perniciosa*), comprometendo grande parte da produção cacaueira. Como alternativa para controlar a doença, foram desenvolvidas novas variedades clonais, que fossem resistentes ao fungo, altamente produtivas e com potencial para produzir chocolates de qualidade. Ao longo do processamento das amêndoas, até a produção do chocolate, ocorrem modificações que formam compostos voláteis de grande importância nas características sensoriais dos chocolates. Com o objetivo de contribuir com o Programa Brasileiro de Melhoramento Genético realizou-se a caracterização físico-química e identificação do perfil de compostos voláteis em chocolates monovarietais produzidos a partir de diferentes cultivares de cacau (*Theobroma cacao L.*) utilizando a técnica de microextração em fase sólida (SPME) equipado a um GC-MS. Foram utilizadas nesse estudo, chocolates das variedades: SR162, TSH1188, BN34, PH16, CEPEC2002, PS1319, CCN51, Ipiranga 1 e Para/parazinho e foram avaliados quanto a sua composição físico-química e perfil de compostos voláteis através de técnicas cromatográficas. Os resultados das análises físico-químicas realizadas mostraram que os chocolates possuem características próprias. As amostras apresentaram diferença significativa quanto às análises de ponto de fusão e força de quebra. Com relação à cor, os chocolates não difeririam entre si em análises colorimétricas. As amostras possuem perfil termogravimétrico semelhantes. A análise de componentes principais (PCA) e análise de agrupamento hierárquico (HCA) permitiram discriminar as diferenças e similaridades dos chocolates em função da composição de ácidos graxos e compostos voláteis. Através das análises realizadas, verificou-se que as diferenças entre as amostras estão relacionadas às variedades do cacau e as condições de processamento que foram utilizadas para obtenção dos chocolates.

**Palavras-chaves:** amêndoas, chocolates monovarietais, cultivares.

## ABSTRACT

The southern region of Bahia stands out as the second largest cocoa producer in Brazil. In 1989, cocoa production was affected by the broom broom competition in Brazil, caused by the fungus (*Moniliophthora perniciosa*), which affected a large part of the cocoa production. As an alternative to control the disease, new clonal varieties were developed that were resistant to fungus, highly productive and with the potential to produce quality chocolates. Throughout the processing of the almonds, until the production of the chocolate, modifications occur that form volatile compounds of great importance in the sensorial characteristics of the chocolates. In order to contribute to the Brazilian Genetic Improvement Program, the physicochemical characterization and identification of the volatile compounds profile in single-variety chocolates produced from different cacao cultivars (*Theobroma cacao L.*) using the microextraction technique in solid phase (SPME) equipped with a GC-MS. Cholecys of the varieties SR162, TSH1188, BN34, PH16, CEPEC2002, PS1319, CCN51, Ipiranga 1 and Para/parazinho were used in this study and were evaluated for their physicochemical composition and profile of volatile compounds by chromatographic techniques. The results of the physical-chemical analyzes carried out showed that the chocolates have their own characteristics. The samples presented significant difference in the analysis of melting point and breaking force. Regarding color, chocolates would not differ in colorimetric analyzes. The samples have similar thermogravimetric profile. Principal component analysis (PCA) and analysis hierarchical groupings (HCA) allowed to discriminate the differences and similarities of chocolates according to the composition of fatty acids and volatile compounds. Through the analyzes, it was verified that the differences between the samples are related to the varieties of cocoa and the processing conditions that were used to obtain the chocolates.

**Keywords:** almonds, monovarietal chocolates, cultivars.

## 1. INTRODUÇÃO

O cacau (*Theobroma cacao L.*) é provavelmente originário da Bacia Amazônica e é cultivado em diversas regiões do mundo (ALVES, 2002). Seu cultivo está relacionado com o aproveitamento de suas amêndoas para a produção da manteiga de cacau e chocolate. Sua qualidade e valor comercial são associados a sabores únicos e complexos, originados a partir da mistura de diversos compostos voláteis formados durante as etapas de fermentação, secagem e torra das amêndoas de cacau.

As etapas de tecnologia pós-colheita do cacau são importantes para garantia de qualidade, no que se refere ao sabor das amêndoas que serão utilizadas no processamento do chocolate. A etapa de torração consiste de um tratamento térmico fundamental para a obtenção das características sensoriais, ocasionadas por reações químicas, como a de Maillard (reação de escurecimento não-enzimático), que fazem com que os precursores de sabor (aminoácidos livres e açúcares redutores), sejam revertidos em compostos voláteis responsáveis por atribuir sabor característico ao chocolate. Ocorrendo ainda a redução do teor de ácidos voláteis formados durante a fermentação, principalmente o ácido acético, redução do teor de umidade das amêndoas de 8% para 2%, mudança da textura dos cotilédones e inativação das enzimas que podem degradar a manteiga de cacau (QUEIROZ & GARCIA, 1999).

As características sensoriais do chocolate também são atribuídas não apenas às condições que foram aplicadas durante o seu processamento, mas também aos atributos genéticos (variedade) do cacauzeiro que foi utilizado na produção dos chocolates (LEITE et al., 2013).

A partir da ocorrência da vassoura de bruxa (VB) causada pelo fungo (*Moniliophthora perniciosa*), muitas variedades clonais autocompatíveis selecionadas pela Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira (CEPLAC) foram produzidas para renovação das lavouras. O objetivo foi manejar a incidência da doença, que afetou a produção de cacau no Brasil, ocasionando elevadas perdas.

Os produtores de cacau do Sul da Bahia (maior região produtora de cacau no País) desenvolveram variedades clonais de cacau autocompatíveis selecionadas no Banco Ativo de Germoplasma da CEPLAC e em áreas de produtores que possuíssem resistência a esta enfermidade e que tenham alta produtividade. Esses



clones foram selecionados em regiões cacauceiras do estado da Bahia, introduzidos de outras regiões produtoras do cacau e foram adaptados às condições de solo e clima baianos. Esta ação resultou na identificação de inúmeras plantas resistentes a VB, as quais se encontram reunidas em coleções no CEPEC para avaliações complementares (CEPLAC, 2018).

Nesse contexto, foram produzidos chocolates varietais a partir de amêndoas de cacau oriundas de regiões geográficas e populações (cultivares) específicas (LUNA et al., 2002). A variedade genética das amêndoas de cacau, as condições ambientais, práticas agrícolas e as reações químicas que ocorrem durante o processamento do chocolate, determinam a composição físico-química e a qualidade sensorial do chocolate. Cerca de 600 compostos voláteis, incluindo álcoois, ácidos carboxílicos, aldeídos, cetonas, ésteres e pirazinas, já foram identificados como ativos de odor e sabor. Contudo a relação entre todos os compostos químicos que são susceptíveis de desempenhar um papel no sabor do chocolate, suas propriedades sensoriais e as fontes e mecanismos de formação do sabor não são totalmente compreendidas (APROTOSOAIÉ, LUCA, MIRON, 2016).

Vários estudos têm reportado o uso de técnicas analíticas, por meio de cromatografia gasosa (GC) acoplada a detectores por ionização de chamas (FID) e espectrometria de massas (MS) para a determinação dos compostos voláteis em alimentos (GARRUTI, 2001). Essas técnicas baseiam-se nas etapas de extração dos compostos, separação cromatográfica, posterior identificação e quantificação (BOGUSZ, 2010). A extração dos compostos voláteis utilizando a técnica de microextração em fase sólida (SPME) seguido da análise em sistemas de cromatografia gasosa também tem sido eficiente para a determinação dos compostos voláteis presentes em diversos alimentos (AUGUSTO et al., 2000; PINO et al., 2010). Diante disso o presente estudo teve como objetivo caracterizar as propriedades físico-químicas e identificar o perfil de compostos voláteis em chocolates monovarietais produzidos a partir de diferentes cultivares de cacau (*Theobroma cacao L.*), utilizando a técnica de HS-SPME equipado a um GC-MS.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Este estudo teve como objetivo caracterizar as propriedades físico-químicas e identificar o perfil de compostos voláteis em chocolates monovarietais produzidos a partir de diferentes cultivares de cacau (*Theobroma cacao L.*), utilizando a técnica de *headspace* por microextração em fase sólida (HS-SPME) equipado a um GC-MS.

### **2.2 Objetivos específicos**

- Caracterizar e comparar por meio das análises de composição físico-química, textura, estabilidade térmica, perfil lipídico e de compostos voláteis as diferentes amostras de chocolates obtidos a partir das cultivares de cacau SR162, PH16, BN34, TSH1188, CEPEC2002, CCN51, PS1319, Pára-parazinho e Ipiranga I;
- Discriminar as diferenças e similaridades das variedades em função do perfil de ácidos graxos utilizando a análise de componentes principais (PCA) e análise de agrupamento hierárquico (HCA);
- Discriminar as diferenças e similaridades das variedades em função do perfil de compostos voláteis por meio da PCA e HCA.

## **CAPÍTULO I**

---

### **REVISÃO DE LITERATURA**

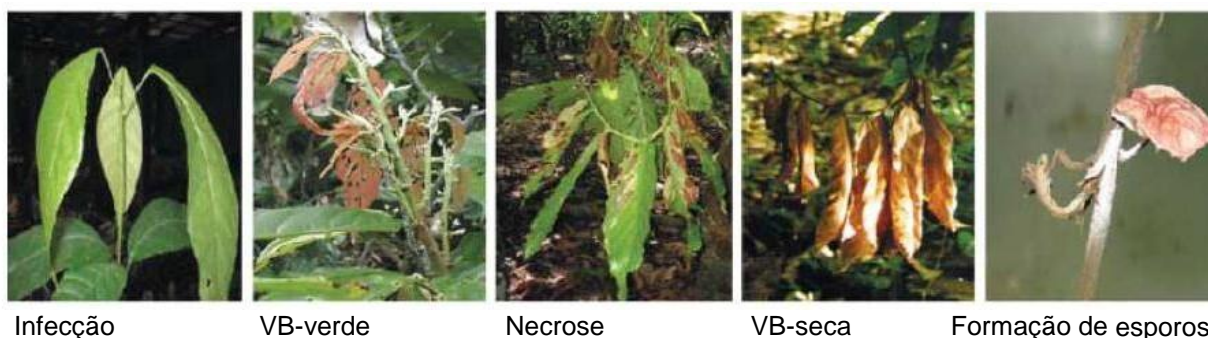
## 1- CACAU

O cacaueteiro (*Theobroma cacao* L.) é uma planta pertencente à família Malvaceae, possivelmente originada da Bacia Amazônica e cultivada em regiões tropicais do mundo (ALVES, 2002). O fruto do cacaueteiro possui forma oval com 15 a 20 cm de comprimento, e quando amadurecem grande parte das vagens mudam de cor, variando entre verde ou vermelho para amarelo ou laranja. Cada grão é composto por dois cotilédones e um pequeno gérmen ou embrião, recobertos pela casca, e a semente é revestida por uma polpa branca com tons rosados, mucilaginosa e adocicada (BECKETT, 2009).

As principais variedades da espécie explorada comercialmente são *Criollo*, *Forastero* e *Trinitário*, as mesmas possuem distinções. O *Criollo* possui superfície externa enrugada, os cotilédones não possuem células pigmentadas, coloração branca e sabor suave. O *Forastero*, os frutos possuem o formato arredondado, as sementes achatadas, o sabor é mais adstringente e são mais resistentes a pragas. O terceiro tipo é o *Trinitário*, é híbrido das variedades *Criollo* e *Forastero*, podendo apresentar características de ambos, possuindo sabor suave e é resistente a pragas (BECKETT, 2009; EFRAIM, 2004).

O Sul da Bahia se destaca como a principal região produtora de cacau do Brasil, sendo responsável por 54% da produção Nacional. Com área plantada de 450 mil hectares, onde atuam cerca de 40 mil produtores de cacau. Até o ano de 1989, esta região era livre da enfermidade causada pelo fungo *Moniliophthora perniciosa*, que é o agente etiológico da doença conhecida como vassoura de bruxa ocasionando elevadas perdas na produção (IBGE, 2015; MANDARINO & GOMES, 2009). A Figura 1 apresenta um cacaueteiro infectado pela VB.

**Figura 1** – Ciclo de vida da *Moniliophthora perniciosa*



Fonte: MEINHARDT, 2008.

Nos brotos vegetativos das árvores infectadas surgem grupamentos de flores hipertrofiadas e com superbrotamento, que originam frutos deformados, os quais morrem prematuramente. Os frutos mais desenvolvidos, ao atingirem a fase adulta, exibem uma mancha denominada “podridão negra” (SCARPARI et al., 2005).

Uma das alternativas encontradas para se manejar a VB foi à substituição dos cacaueiros que foram infectados por variedades clonais autocompatíveis selecionadas no Banco Ativo de Germoplasma da Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira (CEPLAC) (MANDARINO & GOMES, 2009; PINTO & PIRES, 1998; ROSA, 1998). A Figura 2 apresenta as variedades de cacau exploradas comercialmente.

**Figura 2** – Variedades de cacau: *Criollo* (A), *Forastero* (B) e *Trinitário* (C).



Fonte: FERREIRA et al., 2013.

### 1.1 Cultivares clonais do cacau

Os clones do cacau são selecionados em regiões cacaueiras do estado da Bahia, introduzidos de outras produtoras do cacau, nacionais ou estrangeiras e são adaptados às condições de solo e clima baianos. Esta ação resultou na identificação de inúmeras plantas resistentes a VB, as quais se encontram reunidas em coleções no CEPEC para avaliações complementares (CEPLAC, 2018).

A partir da ocorrência da VB, muitas variedades clonais autocompatíveis selecionadas pela CEPLAC foram produzidas para renovação das lavouras (Figura 3). Além de ser um fator importante para a sobrevivência da lavoura, a variedade do cacau é um dos fatores determinantes na qualidade, sabor e intensidade do chocolate (AFOAKWA, 2010). As variedades dos clones de cacau CCN51 e Ipiranga I, lançados recentemente pelo Centro de Pesquisas do Cacau (CEPEC), passaram por um processo de avaliação de cinco anos e apresentam boa produtividade. O

CCN51 possui comportamento muito produtivo. Já o Ipiranga 1 faz parte de uma seleção realizada na Fazenda Ipiranga em Belmonte, numa área de grande ocorrência de VB. Atualmente este clone já está bastante difundido nas fazendas deste condomínio, e vem mantendo ao longo dos anos um comportamento produtivo satisfatório, além de resistência à doença (CEPLAC, 2018).

A variedade SR162 é proveniente da mutação genética do cacau Catongo que é caracterizado por possuir sementes brancas e recebeu esse nome por ser oriundo da Fazenda São Roque, situada na cidade de Itagibá – BA.

O cultivar PH16 é um híbrido do cruzamento entre Forastero Amazônico e Trinitário, identificado em uma população de cacauzeiros da Fazenda Porto Híbrido, no município de São José da Vitória – BA, a amostra de cacau convencional é composta por uma mistura de sementes sadias e doentes das variedades Pará, Parazinho e Maranhão e são conhecidas como cacau do tipo comum (LEITE, 2013).

O clone CEPEC 2002 também é um híbrido do cruzamento entre Forastero Amazônico e Trinitário, é autocompatível, podendo assim também fertilizar qualquer outro clone. Mesclado com outros clones podem melhorar ao nível geral de frutificação e reduzir sensivelmente os efeitos da incompatibilidade sobre a produção. O TSH1188 é um híbrido selecionado de Trindade e Tobago. Já o BN34 é um híbrido de origem desconhecida (CEPLAC, 2018).

Além desses clones, existem outros que são desenvolvidos pelos próprios produtores em suas fazendas (CEPLAC, 2018). A Figura 3 apresenta algumas cultivares clonais de cacau cultivadas no Sul da Bahia.

**Figura 3** – Cultivares de cacau cultivadas na Bahia. Detalhe para grande variedade de tamanho e cores dos frutos



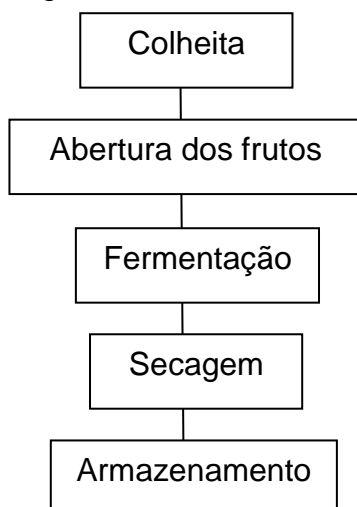
Fonte: FERREIRA et al., 2013.

## 1.2 Tecnologia pós-colheita

A qualidade dos grãos de cacau depende de muitos fatores como a variedade do cacauzeiro, manejo agrônomico, fatores do solo, condições climáticas, e a tecnologia pós-colheita. Desta forma, a qualidade dos grãos de cacau, sabor e aroma, dependerão das condições de processamento pós-colheita que foram utilizadas. Diante disso, torna-se necessária a avaliação dos parâmetros físicos, químicos e organolépticos que permite determinar a qualidade em relação à variedade e ao meio ambiente. O cotilédone da semente do cacau, em sua forma bruta, apresenta uma característica adstringente e gosto desagradável, precisando ser fermentado, seco e torrado para adquirir o sabor de “cacau” propriamente dito (BRUNETTO et al, 2007).

O processamento primário ocorre nas fazendas e inclui as etapas de colheita, abertura dos frutos, fermentação e secagem. A Figura 4 mostra o fluxograma do pré-processamento do cacau.

**Figura 4** – Fluxograma de beneficiamento do cacau



Fonte: Próprio autor, 2018

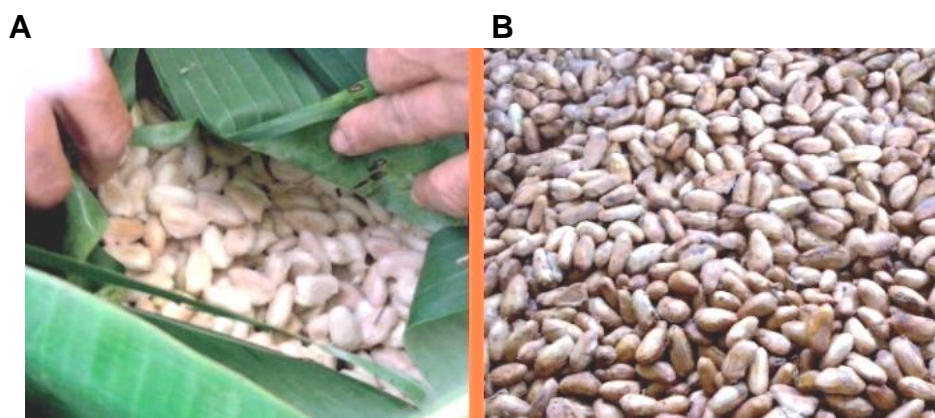
**Colheita:** A época de colheita depende das condições climáticas de cada região. No Brasil, o cacau é colhido praticamente durante o ano inteiro, distinguindo-se dois períodos de safra: o principal ocorre entre outubro a janeiro e o secundário de maio a agosto. O cacau colhido no segundo período da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

**Abertura dos frutos:** Após a colheita, os frutos são abertos manualmente, com auxílio de facões, e após a abertura é feita a retirada da placenta das sementes

aderidas à polpa, de modo a permitir uma melhor fermentação e também melhorar as características sensoriais da amêndoa, uma vez que apresenta sabor extremamente amargo, devido à grande quantidade de polifenóis (BECKETT, 1994).

**Fermentação:** O processo fermentativo ocorre em duas fases, alcoólica e acética (Figura 5). Na primeira fase, durante as primeiras 48 horas de fermentação, as leveduras são favorecidas pelo baixo pH, alta concentração de açúcares e pouca disponibilidade de oxigênio. As leveduras são responsáveis pela fermentação alcoólica, e os açúcares presentes na polpa (sacarose, glicose e frutose) são convertidos em álcool e gás carbônico, reação que libera calor e eleva a temperatura da massa de cacau à 30-32 °C e degradam a polpa envoltória das sementes, ocasionando a morte do gérmen. Algumas leveduras produzem enzimas pectinolíticas que rompem a parede das células da polpa, gerando o mel do cacau, com o escoamento desse mel e o revolvimento da massa, ocorre à entrada de ar no interior do cocho, favorecendo o aumento dos níveis de oxigênio com a presença significativa de gás carbônico e açúcar da massa, propiciando o crescimento de bactérias lácticas, que transformam o álcool em ácido láctico. Com o declínio da predominância de leveduras e de álcool, as bactérias acéticas tornam-se os organismos dominantes (AFOAKWA, 2010; EFRAIM, 2004; FERREIRA, 2013).

**Figura 5** – Fases da fermentação: A- Fase alcoólica (anaeróbica, sem a presença de oxigênio). B- Fase acética (aeróbica, com a presença de oxigênio).



Fonte: FERREIRA et al., 2013.

Na segunda fase da fermentação, após a morte do embrião e com a difusão dos compostos formados para os cotilédones, condições necessárias são criadas para a ocorrência de várias transformações bioquímicas como a hidrólise de



proteínas, que favorece a formação de precursores de aroma (compostos aromáticos que se desenvolverão durante o processo de torrefação), a oxidação de compostos fenólicos, que alteram a cor dos cotilédones e reduz a adstringência indesejada das amêndoas, e a liquefação e remoção da polpa, facilitando o posterior processamento do *liquor* (KOBELITZ, 2011; NIGAM & SINGH, 2014).

**Secagem:** Pode ser realizada de duas formas: natural ou artificial e consiste em dispor as amêndoas de cacau fermentadas espalhadas em áreas cimentadas, bandejas, plásticos ou no próprio solo em uma camada uniforme com cerca de 5 cm de espessura, por um período de 7 a 14 dias, dependendo das condições climáticas (OETTERER, 2006; NIGAM & SINGH, 2014; COPETTI et al., 2011; PONTILLON, 2009). O método mais utilizado no Brasil é a secagem natural feita em barcaças (Figura 6). Durante o processo de secagem, o teor de umidade é reduzido, e deve ser em torno de 7% e algumas reações enzimáticas (iniciadas durante a fermentação) que darão às amêndoas o sabor característico de cacau e chocolate são finalizadas. Esta etapa é importante tanto para reduzir a atividade de água das amêndoas, necessária para sua conservação, quanto para a volatilização do ácido acético produzido durante o processo fermentativo (FERREIRA et al., 2013; MINIFIE, 1999).

**Figura 6** – Secagem natural de amêndoas de cacau feito em barcaças, tradicional do Sul da Bahia



Fonte: BASTOS, 2016.

**Armazenamento:** As instalações destinadas ao armazenamento de cacau devem possuir luminosidade e aeração adequadas. Recomenda-se o armazenamento do

cacau acondicionado em sacos de polietileno ou cobrindo totalmente as pilhas de saco de juta com lonas plásticas (SERRA, 2004).

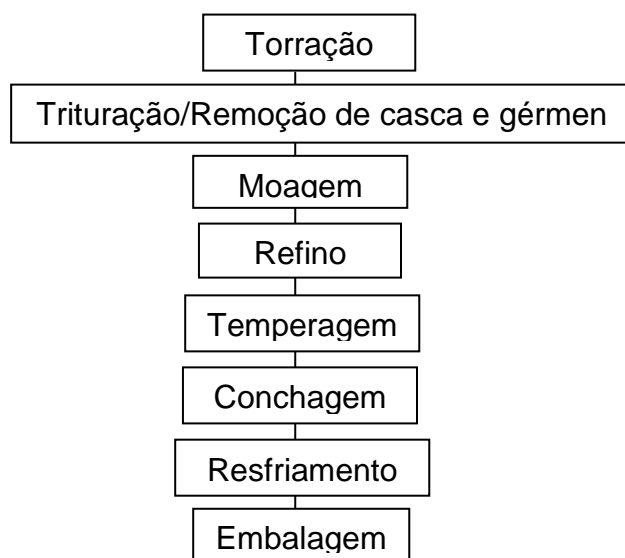
## 2- CHOCOLATE

Chocolate é um produto obtido por processo tecnológico adequado, a partir da mistura de líquido ou massa de cacau, manteiga de cacau e açúcar. E pode ser definido como uma dispersão de partículas sólidas, em uma fase gordurosa contínua, que contribui para o aroma, cor, sabor, além de propiciar forma ao produto final quando utilizado o método de moldagem (COHEN et al., 2004; VISSOTO et al., 1999).

Chocolate varietal é aquele produzido com amêndoas de cacau oriundas de regiões geográficas e populações varietais (cultivares) específicas, sendo que o sabor destas amêndoas é fortemente influenciado pelo meio ambiente onde é produzido, fazendo com que esses produtos possuam uma verdadeira identidade de origem (LUNA et al., 2002).

O comportamento físico, químico e reológico do chocolate é determinado pelas propriedades de escoamento, teor de gordura, distribuição do tamanho das partículas, teor de umidade e equipamentos utilizados em seu processamento. O processamento do chocolate envolve duas etapas e vai desde a limpeza das amêndoas fermentadas e secas (para obtenção do líquido e da manteiga de cacau) até a temperagem, conforme apresenta a Figura 7 (LUCCAS, 2001).

**Figura 7 – Fluxograma de processamento do chocolate**



Fonte: Próprio autor, 2018

**Torração:** É uma operação térmica muito importante no processamento dos grãos de cacau, sendo um tratamento térmico fundamental para o desenvolvimento do sabor do chocolate. Nessa etapa ocorrem muitas reações químicas que fazem com que os precursores de sabor, sejam convertidos em produtos responsáveis pelo sabor típico do chocolate (BECKETT, 2009).

A etapa de torração é caracterizada pelos seguintes fenômenos: perda do teor de umidade; diminuição dos ácidos voláteis indesejáveis (principalmente o ácido acético); inativação de enzimas que podem degradar a manteiga de cacau; desenvolvimento de aromas desejáveis através de reações químicas (Reação de Maillard) partindo dos precursores formados na etapa de fermentação e o desenvolvimento da coloração típica do chocolate. O grau de alteração está relacionado com o tempo e a temperatura de torração e a taxa de perda de umidade durante o processo. A temperatura de torração varia entre 90 °C e 170 °C (ROCHA et al., 2017; LOPES et al., 2003; EFRAIM, 2004).

O sabor do chocolate é o resultado de uma mistura complexa de um grande número de compostos combinados, incluindo pirazinas, aldeídos, éteres, tiazóis, fenóis, cetonas, álcoois, furanos e ésteres. Esses compostos são formados através da reação de Maillard e degradação de Strecker de aminoácidos livres e açúcares redutores durante a torração (QUEIROZ & GARCIA, 1999; RAMLI, 2006; FRAUENDORFER & SCHIEBERLE, 2008).

Na reação de Maillard é possível observar três etapas. Na primeira ocorre uma condensação entre um grupo amino e um açúcar redutor, levando a formação de N-glicosilamina, se o açúcar redutor for uma aldose, o rearranjo é chamado de Amadori, se for o açúcar redutor for uma cetose, será um produto de Heyns. A etapa intermediária da reação inicia-se a partir dos produtos de Amadori/Heyns, levando a produtos da fragmentação do açúcar e assim ocorre a liberação de um grupo amino. Na etapa final, observam reações de desidratação, fragmentação, ciclização e polimerização em que grupos amino participam novamente. Nessa etapa é visualizada a formação do sabor, onde há a degradação de Strecker (QUEIROZ & GARCIA, 1999).

**Descascamento:** Permite a separação da casca por peneiragem, ventilação e sucção.

**Moagem:** As amêndoas passam por uma moagem e o produto, denominado massa ou liquor de cacau será a matéria prima para a produção da manteiga de cacau, do cacau e do chocolate, conforme tratamento que for submetido (OETTERER, 2006).

**Mistura:** consiste em homogeneizar os ingredientes em proporções adequadas a formulação, para a obtenção de uma massa uniforme (SAMPAIO, 2011).

**Refino:** Promove a redução do tamanho das partículas dos ingredientes tornando-os imperceptíveis na boca durante a degustação. O tamanho das partículas da massa refinada não deve ser superior a 25 µm para que não seja perceptível o aspecto de arenosidade na boca ao degustar o chocolate (LUCCAS, 2001).

**Conchagem:** A conchagem se constitui como a última etapa de importância na formação do sabor característico e desejável do chocolate. É um processo geralmente dividido em duas etapas: conchagem seca, quando a umidade é reduzida e a reologia melhorada; conchagem úmida, quando a lecitina é adicionada (COUNET et al, 2002).

Durante a conchagem ocorre o desenvolvimento pleno do sabor pela eliminação dos ácidos voláteis, remoção da umidade, redução do tamanho dos cristais de açúcar, modificação da viscosidade e alteração da cor do produto. Nesta etapa, são necessários o cisalhamento, a agitação e o aquecimento da massa entre 50 e 70 °C, dependendo do tipo de chocolate desejado (ao leite, branco ou amargo). Quanto maior o tempo de conchagem, maior é a formação do sabor desejável do chocolate (REINECCIUS, 2006; BECKETT, 1994; AFOAKWA et al, 2008).

**Temperagem:** A temperagem é uma etapa do processamento que consiste na indução à formação de núcleos de cristais do tipo beta (V), de maior estabilidade termodinâmica, influenciando de forma positiva as características de qualidade do produto final. A agitação, o tempo e a temperatura de cristalização são os parâmetros do processo de temperagem. A velocidade de agitação tem que proporcionar boa transferência de calor e massa no produto. O tempo de cristalização deve ser o suficiente para que ocorra a formação e o amadurecimento dos cristais estáveis. A temperatura exerce uma função essencial no processo, em face de ser a força propulsora de cristalização (COHEN, LUCCAS & JACKIX, 2004).

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

**Moldagem:** O chocolate é moldado e colocado em fôrmas e submetidos a um mecanismo vibratório e refrigerado, com temperaturas de 12 a 15 °C e umidade relativa do ar de 65%. O resfriamento consiste em solidificar o chocolate com rapidez. A moldagem dos chocolates, nas fábricas modernas, é feita mecanicamente e em cadeia por um grupo completo de equipamentos consecutivos e interligados (BECKETT, 2009).

**Desmoldagem:** Consiste da retirada dos chocolates dos tabletes prontos para serem embalados (BECKETT, 2009).

**Embalagem:** É realizada automaticamente por embalagens de papel, conforme as características específicas de cada tipo de chocolate (BECKETT, 2009).

### 3- COMPOSTOS VOLÁTEIS

A formação do sabor ocorre principalmente pelas sensações que o aroma e o gosto provocam, os quais são atribuídos aos compostos voláteis e compostos não voláteis presentes nos alimentos. A sensação de sabor é atribuída à presença dos compostos não voláteis nos alimentos, como os açúcares, sais, ácido, e limonina, determinando as cinco sensações básicas descritas como doce, salgado, azedo, amargo e *umami*. Já os compostos voláteis, responsáveis pelo aroma, pertencem a diferentes classes químicas e termolábeis (THOMAZINI & FRANCO, 2000; FRANCO & JANZANTTI, 2004).

Mais de 8000 substâncias voláteis já foram identificadas em produtos do gênero alimentício. Aromas complexos, como o do café, de carnes e do chocolate e podem ser constituídos por mais de 1000 diferentes voláteis. Estes compostos pertencem a diversas classes químicas, com distintas propriedades físico-químicas, como polaridade, solubilidade, volatilidade, entre outras. Eles são altamente

susceptíveis a transformações químicas, tais como rearranjos, ciclização, hidrólise, oxidação, entre outras, e estão presentes geralmente em baixíssimas concentrações na matriz alimentícia, as quais podem chegar a níveis de  $\text{ng L}^{-1}$  (REINECCIUS, 2006; ORTEGA-HERAS, GONZÁLEZ-SANJOSÉ & BÉLTRAN, 2002; PARLIMENT, 2002; FRANCO & JANZANTTI, 2004).

As moléculas existentes em aromas apresentam diferentes funções químicas como as cetonas, ésteres, ácidos, aldeídos, pirazinas, lactonas, álcoois entre outras. Além da produção de metabólitos primários, tais como etanol, ácido láctico e acético durante a fermentação de cacau, as leveduras e bactérias também produzem uma grande variedade de metabólitos secundários voláteis tais como álcoois superiores, ácidos graxos, ésteres, aldeídos, cetonas, e tióis (RODRIGUEZ-CAMPOS et al., 2011).

Vale ressaltar que as diferenças geográficas, em função do clima, da composição do solo, fase do ciclo vegetativo, sazonalidade, entre outros, podem provocar variações significativas, qualitativa e quantitativamente, no teor e na composição química dos compostos voláteis de uma mesma espécie vegetal (WANG et al., 2009; SOUSA GALVÃO et al., 2011).

### **3.1 Voláteis importantes para o sabor do chocolate**

Na maioria dos alimentos, o aroma consiste na combinação de muitos compostos voláteis, sendo que, apenas uma pequena parcela destes compostos possui relação direta com o sabor (BLANK, 1996). Acredita-se que apenas 5% desses compostos contribuem para a percepção do aroma (GROSCH, 2001).

Muitas vezes o aroma e sabor característicos de um alimento ou bebida não decorrem de seus compostos majoritários, mas sim de voláteis presentes em baixa concentração ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ), que, no entanto, possuem alto poder odorífero (GARRUTI, 2004; WARDENCKI & PLUTOWSKA, 2008).

A combinação de proporções específicas da mistura de diversos voláteis, influenciados por alguns fatores como: grau de maturação, variedade e técnicas de processamento, é que irão determinar o sabor característico de um alimento (McGORRIN, 2002).

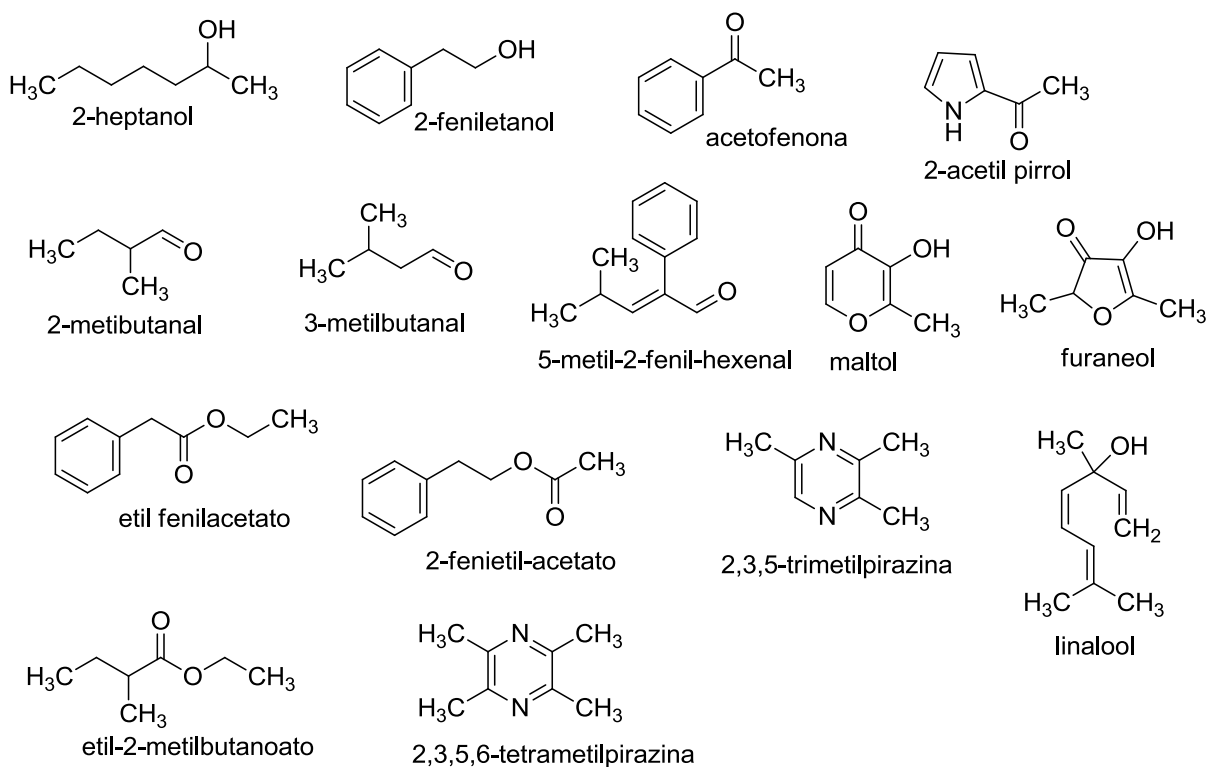
Existem compostos voláteis presentes em alguns alimentos que são chamados de compostos de impacto, ou seja, compostos que mesmo quando

isolados, são capazes de produzir as principais sensações sensoriais de identidade de um determinado alimento. Como por exemplo, o etil-2-metil butirato, (Z,Z)-3,6-nonadienol e o acetato de isoamila que são compostos de impacto da maçã, melão e banana, respectivamente. Os alimentos que possuem compostos voláteis de impacto têm grande valor industrial, pois através da sua síntese química, é possível a obtenção de aromas artificiais que conseguem assemelhar-se com bastante proximidade do sabor natural de um alimento (BOOD & ZABETAKIS, 2002).

Alguns trabalhos relataram a tetrametilpirazina como composto de impacto no chocolate que é responsável por atribuir aroma doce e forte, e podem representar um índice útil para a avaliação das qualidades do produto e do processo (PEREGO et al., 2004). Assim como também o 2-metil e o 3-metilbutanal, linalool e o 2,3-butanediona, que são perceptíveis sensorialmente mesmo em altas diluições e são reportados como importantes na formação do aroma do chocolate (HOLSCHIER, VITZTHUM & STEINHART, 1990).

A Figura 8 apresenta várias classes químicas, como aldeídos, cetonas, ésteres, álcoois, pirazinas, ácidos carboxílicos, lactonas etc.

**Figura 8** – Estruturas químicas dos principais compostos voláteis do sabor do chocolate



Fonte: APROTOSOIAE, LUCA, MIRON, 2016.

A Tabela 1 resume os compostos voláteis que são considerados os principais contribuintes para o sabor do chocolate. Diferentes variedades de cacau utilizados no processamento do chocolate podem exibir vários sabores específicos, uma vez que a concentração e o caráter sensorial desses compostos variam significativamente (APROTOSOAIÉ, LUCA & MIRON, 2016).

**Tabela 1** – Principais compostos voláteis identificados no sabor do chocolate

<b>Composto</b>	<b>Qualidade do aroma</b>	<b>Percepção sensorial</b>	<b>Referência</b>
<b>Álcoois e fenóis</b>			
1-Propanol	Doces	Chocolate doce	RODRIGUES et al., (2011)
2-Metil-1-butanol	Frutado, uva	Frutado	RAMOS et al., (2014)
2,3-Butanodiol	Odor natural da manteiga de cacau	Chocolate doce	RAMOS et al., (2014)
2-Pentanol	Verde, Verde suave	Vegetal	RODRIGUES et al., (2011)
1-Hexanol	Frutado, verde	Frutado, á base de plantas	BONVECHI, (2005)
2-Hexanol	Frutado, verde	Frutado, á base de plantas	BONVECHI, (2005)
<i>Trans</i> -3-hexen-1-ol	<i>Grassy</i> , verde	Vegetal	RAMOS et al., (2014)
2-Heptanol	Citrus	Frutado	RODRIGUES et al., (2011)
1-Feniletanol	Mel floral	Floral	RODRIGUES et al., (2011)
2-Feniletanol	Mel floral	Floral	RODRIGUES et al., (2011)
Álcool benzílico	Doce floral	Floral	RODRIGUES et al., (2011)
<b>Aldeídos e cetonas</b>			
2-Fenil acetaldeído	Mel floral	Floral	RODRIGUES et al., (2011)
2-Metilpropanal	Chocolate	Chocolate doce	RODRIGUES et al., (2011)
2-Fenilpropanal	Floral	Floral	BONVECHI, (2005)
2-Metilbutanal	Chocolate	Chocolate doce	RODRIGUES et al., (2011)
3-Metilbutanal	Chocolate	Chocolate doce	RODRIGUES et al., (2011)
2-fenil-2-butenal	doce	Chocolate doce	RODRIGUES et al., (2011)
4-Metil-2-fenil-2-pentenal	Cacau	Chocolate doce	BONVECHI, (2005)
n-Hexanal	Verde	Ervas	AFOAKWA (2012)
5-Metil-2-fenil-2-hexenal	Cacau	Chocolate doce	BONVECHI (2005)
2-Nonenal	Verde	Ervas	AFOAKWA (2012)
Vanilina	Chocolate, baunilha	doce, Chocolate doce	BONVECHI (2005)
2-Pentanona	Frutado	Frutado	RODRIGUES et al., (2011)
2-heptanona	Frutado floral	Frutado floral	RODRIGUES et al., (2011)
Acetofenona	Floral	Floral	RODRIGUES et al.,



2-hidroxi acetofenona	Pesado, herbáceo	floral,	Floral a base de plantas	(2011) BONVECHI (2005)
4-Metil-acetofenona	Frutado floral		Frutado floral	BONVECHI (2005)
<b>Ácidos</b>				
Ácido 2-metilpropiónico	Floral		Floral	KRINGS et al., (2006)
Ácido 3-fenilpropiónico	Doce rosa		Floral	BONVECHI (2005)
Ácido cinâmico	Mel floral		Floral	BONVECHI (2005)
<b>Ésteres</b>				
Acetato de etilo	Abacaxi		Frutado	RODRIGUES et al., (2011)
Acetato de isobutilo	Frutado		Frutado	RODRIGUES et al., (2011)
Acetato de isobutilo	Frutado		Frutado	RODRIGUES et al., (2011)
Acetato de isoamil	Frutado, banana		Frutado	RAMOS et al., (2014)
Acetato de benzilo	Floral, jasmim		Floral	RODRIGUES et al., (2011)
Acetato de metilfenilo	Doce, mel, jasmim		Floral	BONVECHI (2005)
Acetato de etilfenilo	Frutado, doce		Floral	RODRIGUES et al., (2011)
2-acetato de feniletilo	Mel, floral		Floral	RODRIGUES et al., (2011)
Butirato de etilo	Abacaxi		Frutado	RAMOS et al., (2014)
Lactato de etilo	Frutado		Frutado	RODRIGUES et al., (2011)
Succinato de dietilo	Agradável aroma		Floral	RAMOS et al., (2014)
2-metilbutanoato de etilo	de Frutado		Frutado	RODRIGUES et al., (2011)
3-metilbutanoato de etilo	de Frutado		Frutado	RODRIGUES et al., (2011)
Valerato de etilo	Frutado, maçã		Frutado	BONVECHI (2005)
Hexanoato de etilo	Frutado		Frutado	RODRIGUES et al., (2011)
Octanoato de etilo	Frutado, floral		Frutado	RODRIGUES et al., (2011)
Decanoato de etilo	Pêra, uva		Frutado	RODRIGUES et al., (2011)
Laurate de etílico	Frutado, floral		Frutado, floral	BONVECHI (2005)
Benzoato de isoamilo	Bálsamo, doce		Floral	RODRIGUES et al., (2011)
Salicilato de metilo	Amêndoa amarga		Nozes	BONVECHI (2005)
Cinnamato de metilo	Balsâmico, morango		Frutado	BONVECHI (2005)
Cinnamato de etil	Doce, como canela		Chocolate doce	RODRIGUES et al., (2011)
<b>Aminas e aminas</b>				
N- (2-fenetil) formamida	Essências		Floral	BONVECHI (2005)
<b>Lactamas</b>				
δ-Octenolactona	Coco		Nozes	AFOAKWA (2012)
γ-Decalactona	Pêssego		Frutado	AFOAKWA (2012)
<b>Terpenos</b>				
Geraniol	Floral, rosa, frutado		Floral, frutado	BONVECHI (2005)
Acetato de geraniol	Rosa, lavanda		Floral	BONVECHI (2005)

Formado de a-terpenilo	Herbácea, citrino	Ervas, frutado	BONVECHI (2005)
Linalool (cis-piranoide)	Floral, verde	Floral, a base de plantas	BONVECHI (2005)
Linalol (transpiranoide)	Floral	Floral	BONVECHI (2005)
Óxido de Linalol (cis-furanoide)	Nozes	Nozes	BONVECHI (2005)
Óxido de Linalol (trans-furanoide)	Floral, citrus	Frutado, floral	BONVECHI (2005)
<b>Pirazinas</b>			
2-Metilpirazina	Nozes, chocolate, cacau, nozes torradas	Chocolate doce, nozes	BONVECHI (2005)
2-etilpirazina	Manteiga de amendoim, nozes	Nozes	BONVECHI (2005)
2,5-dimetilpirazina	Cacau	Chocolate doce, nozes	BONVECHI (2005)
2,6-dimetilpirazina	Nozes, café, verde	Nozes, ervas	BONVECHI (2005)
2-etil-5-metilpirazina	Nozes, batata crua		BONVECHI (2005)
2,3-dietilpirazina	Nozes, avelã, cereal	Nozes	BONVECHI (2005)
2,3-dimetilpirazina	Caramelo, cacau	Chocolate doce	BONVECHI (2005)
2,3,5-trimetilpirazina	Cacau, nozes enferrujadas, amendoim	Chocolate doce, nozes	BONVECHI (2005)
2,3,5,6-tetrametilpirazina	Chocolate, cacau, café	Chocolate doce	BONVECHI (2005)
2,3,5-trimetil-6-etilpirazina	Doce	Chocolate doce	RODRIGUES et al., (2011)
<b>Pirrol</b>			
Pirrole	Nozes	Nozes	BONVECHI (2005)
2-acetilpirrol	Chocolate, avelã	Chocolate doce	RODRIGUES et al., (2011)
Pirrole-2-carboxaldeído	Nozes	Nozes	KRINGS et al., (2006)
<b>Outros</b>			
2-Furfural	Amêndoa	Nozes	BONVECHI (2005)
5-Metil-2-furfural	Doce, caramelo	Chocolate doce	BONVECHI (2005)
2-Furfural acetato	Frutado, banana	Frutado	RAMOS et al., (2014)
2-acetilfurano	Doce, bálsamo, café	Chocolate doce	BONVECHI (2005)
2-acetil-5-metilfurano	Noz forte	Nozes	BONVECHI (2005)
2-Furfuril propionato	Picante, floral	Floral	BONVECHI (2005)
5-(1-Hidretil)-2-furanona	Frutas vermelhas, geléia, notas verdes	Frutado, a base de plantas	KRINGS et al., (2006)
Dihidro-3-hidroxi-4,4-dimetil-2-furanona	Coco	Nozes	KRINGS et al., (2006)
4-Hidroxi-2,5-dimetil-3-furanona (furaneol)	Frutado, morango, açúcar quente	Frutado, noz	BONVECHI (2005)
3-hidroxi-2-metil-4-pirona (maltol)	Nozes torradas	Nozes	BONVECHI (2005)

Fonte: APROTOSOIAE, LUCA, MIRON, 2016.

Altos teores de álcool, aldeídos e cetonas são desejáveis para a obtenção de chocolates com notas florais e doces. A proporção de linalol e benzaldeído pode ser utilizada como índice de sabor. Os aldeídos não são apenas componentes de sabor, mas também compostos importantes para a formação de compostos heterocíclicos, como as pirazinas. O composto 5-Metil-2-fenil-2-hexenal exibe uma

nota de cacau amargo profundo. Entre as cetonas, a acetofenona destaca-se por apresentar notas doces, florais e a acetoina parece ser um precursor da tetrametilpirazina, um importante componente do sabor do chocolate (RODRIGUEZ-CAMPOS et al., 2011; ZIEGLER, 2009; RAMLI et al., 2006).

Os ésteres são a segunda classe mais importante de voláteis depois das pirazinas. São predominantes os etílicos, ésteres metílicos e acetatos. Eles conferem um sabor frutado e são os componentes de aroma típicos (principalmente acetatos) em cacau não torrado e são formados a partir dos aminoácidos (RAMLI et al., 2006; RODRIGUEZ-CAMPOS et al., 2011; BIEHL & ZIEGLER, 2003).

### **3.2 Análise dos compostos voláteis**

A avaliação analítica de determinação dos compostos voláteis em alimentos baseia-se nas etapas de isolamento dos compostos, separação cromatográfica, posterior identificação e quantificação (BOGUSZ, 2010)

No processo de extração dos compostos, aspectos físico-químicos devem ser cuidadosamente observados para a escolha dos diferentes métodos que podem ser aplicados. Em suma existem duas abordagens para o isolamento dos compostos voláteis: análise total ou métodos tradicionais que compreende a extração de todos os compostos voláteis presentes na amostra, ou análise do *headspace* (espaço confinado sobre a amostra) que envolve apenas a análise dos voláteis presentes na fase gasosa em equilíbrio sobre a amostra. Permitindo eliminar interferentes e ajustar a concentração acima do limite detectável pelos instrumentos (FRANCO & JANZANTTI, 2004).

Quanto à separação dos voláteis extraídos, pode ser realizada por meio de técnicas cromatográficas, como a cromatografia gasosa (GC), acoplada a detectores de ionização de chama (FID, "*Flame Ionization detector*"), espectro de massas (MS, "*Mass spectrometer*"), ou detecção olfatométrica (GC-O), essas técnicas tem sido eficiente para análise desses compostos. Na técnica cromatográfica se faz necessário o ajuste criterioso das condições como a velocidade linear, rampa de aquecimento (temperatura do forno), fase estacionária, pressão e temperaturas do injetor e detector para que se tenha a seletividade apropriada no método. Além disso, o detector utilizado deve ser escolhido de acordo

com a amostra a ser analisada e de acordo com o tipo de resposta que se deseja obter (GARRUTI, 2001; WAGNER, 2008; REID, 2003).

O cromatógrafo a gás de alta resolução, com coluna capilar e injetor do tipo *split-splitless*, acoplado à espectrometria de massas (GC-MS) são os instrumentos mais requeridos para esta análise por possuir alta resolução e eficiência, possibilitando obter informações qualitativas e quantitativas. Já o cromatógrafo a gás acoplado a detectores de ionização de chamas (GC-FID) possui maior sensibilidade (FRANCO & JANZANTTI, 2004). Além disto, o espectrômetro de massas possui a opção de escolha entre o modo operacional de varredura (*SCAN*) que coleta espectros para todos os compostos eluídos da coluna, e o sistema operacional em modo (*SIM*) com monitoramento de íon selecionado, que possibilita o aumento da sensibilidade e especificidade da análise quando o composto a ser determinado já é conhecido (REID, 2003).

A identificação dos compostos pode ser feita com a utilização dos índices de retenção linear ou índice de Kovalts, para comparar a ordem de eluição experimental com a ordem de eluição descrita na literatura em uma mesma fase estacionária (ADAMS, 1995). Além do uso de padrões analíticos, que auxiliam e eliminam possibilidades equivocadas, aumentando a confiabilidade da identificação (FRANCO & JANZANTTI, 2004). No caso da espectrometria de massa, as relações massa/carga ( $m/z$ ) obtidas nos espectros de massas por ionização por elétrons (EI), são utilizadas como informação estrutural na identificação dos constituintes voláteis de uma amostra. Obtendo-se o espectro do composto de interesse, pode-se realizar uma busca através da similaridade espectral deste, com os espectros armazenados em uma biblioteca de referência. Com o resultado desta etapa, tem-se o analito tentativamente identificado e com elevado grau de incerteza sobre a identificação (McLAFFERTY, 1993).

### **3.3 Microextração em fase sólida (SPME)**

A SPME é uma microtécnica, em que os processos de extração e pré-concentração do analito não utilizam solvente. A SPME é usada associada à cromatografia gasosa e possui alto poder de concentração, possibilitando a detecção de analitos puros (VALENTE & AUGUSTO, 2000).

Existem três tipos de extração por SPME: por membrana, direta ou *headspace*. Na amostragem por membrana, a fibra é inserida em uma membrana imersa na amostra, sendo esse o método menos utilizado. Na amostragem direta, a fibra é inserida diretamente na amostra e os analitos são sorvidos diretamente sobre o revestimento da fibra. No modo *headspace*, os analitos precisam ser transportados através da barreira de ar antes de alcançarem a fibra. Essa amostragem protege mais a fibra de analitos de alto peso molecular e de interferentes não-voláteis (PAWLISZYN, 1995). Além disso, o tempo necessário para obter o equilíbrio ( $t_e$ ) no modo *headspace* é menor do que o modo direto em condições de análise semelhantes (ZHANG & PAWLISZYN, 1993).

De acordo com Górecki, Yu e Pawliszyn (1999) na amostragem por *headspace*, o equilíbrio ocorre em três fases: amostra-ar, ar-revestimento e amostra-revestimento, seguindo as seguintes equações:

- Equilíbrio amostra-ar:

$$K_1 = D_1 \frac{V_1}{V_2} \quad (\text{Eq. 1})$$

Neste caso,  $D_1$  é o coeficiente de difusão do analito da amostra,  $V_1$  é o volume da amostra e  $V_2$  é o volume do *headspace*.

- Equilíbrio ar-revestimento:

$$K_2 = D_2 \frac{V_2}{V_3} \quad (\text{Eq. 2})$$

Onde  $D_2$  é o coeficiente de difusão do analito no *headspace* e  $V_3$  é o volume do revestimento.

Assim, o equilíbrio da amostra revestimento será:

- Equilíbrio amostra-revestimento:

$$K_1 K_2 = D_1 \cdot D_2 \frac{V_1}{V_3} = D_3 \frac{V_1}{V_3} \quad (\text{Eq.3})$$

A fração total do analito extraído pela fibra ( $f_{ex}$ ) será dada por:

$$f_{ex} = \frac{D_3}{D_3 + 1} = \frac{K_1 K_2 K_3}{K_1 K_2 V_3 + V_1} \quad (\text{Eq. 4})$$

As equações descritas acima consideram de uma forma geral, as extrações por SPME, não diferenciando o tipo de revestimento das fibras. Quando o revestimento da fibra for um polímero líquido (PDMS), o mecanismo de extração

será por partição ou adsorção. Se for revestimentos sólidos ou mistos, como (CW-DVB), o mecanismo será de adsorção. No mercado existem também fibras com misturas de fases, tais como *carbowax* e *polidimetilsiloxano* (CW-PDMS), *carboxen* e *polidimetilsiloxano* (CAR-PDMS) e *carbowax* e *divinilbenzeno* (CW-DVB) (GÓRECKI, YU & PAWLISZYN, 1999). As fibras disponíveis comercialmente para GC estão listada na Tabela 2.

**Tabela 2** – Tipos de fibras de SPME disponíveis comercialmente

Tipo <sup>a</sup>	Composição química	L <sub>f</sub> /μm	ΔT °C <sup>b</sup>	Aplicação
<b>Não-polares</b>	Polidimetilsiloxano (PDMS)	100; 30; 7	200-270 °C 220-320 °C	Basicamente para compostos apolares. É possível usar com polares.
	Poliacrilato (PA)	85	230-310 °C	Medianamente a altamente polares, como fenóis, pesticidas orgafosforados. Cetonas, álcoois. Voláteis de média a alta polaridade.
<b>Polares</b>	Carbowax/divinilbenzeno (CW-DVB)	65	200-260 °C	
	PDMS-DVB	65	200-270 °C	Voláteis e não voláteis de baixa a alta polaridade.
<b>Bi-polares</b>				
	Carboxen-PDMS	75	-----	Voláteis

a. Não estão relacionadas fibras para Cromatografia Líquida. b. ΔT °C = faixa de temperatura indicada dessorção. Fonte: SUPELCO, 1996.

A técnica de extração é a mesma para ambas, a fibra é inserida na amostra ou em seu *headspace*, ocorre então a interação das moléculas dos analitos à superfície do revestimento. Realizada a extração, a fibra é retirada da amostra e inserida no injetor do cromatógrafo gasoso, onde os analitos são termicamente dessorvidos sob fluxo do gás de arraste e carregados para a coluna cromatográfica. Terminada a dessorção, é retraída e a agulha retirada (VALENTE & AUGUSTO, 2000).

### 3.4 Determinação do índice de retenção

O índice de retenção de um componente é um número, obtido por interpolação, relacionando o tempo de retenção do componente em estudo com o tempo de retenção de dois padrões (geralmente hidrocarbonetos) eluídos antes e após o pico do composto de interesse. Além dos hidrocarbonetos, outras

substâncias podem ser utilizadas como substâncias de referências: ésteres metílicos, álcoois, ácidos graxos e entre outros (INCZEDY, LENGYEL & URE, 1998)

Este parâmetro foi introduzido em 1958 por E. Kovats para ser utilizado em separações isotérmicas com o objetivo de reduzir os erros de identificação de substâncias baseados nos tempos de retenção. Em 1963, essa técnica foi aprimorada por Van Den Dool e Kratz, que propuseram o índice de retenção linear (IRL), ou seja, para separações com programação linear de temperatura (rampa de aquecimento) conforme apresenta a (Equação 5). O sistema do IRL tem como vantagem, se basear em materiais de referência (colunas capilares) acessíveis e que cobrem ampla faixas de ponto de ebulição, porém sofrem variações a depender do tipo de fase estacionária e o modo de separação que foi empregado (ZELLNER et al., 2008; MÜHLEN, 2003).

$$IRL = 100n + 100 \left\{ \frac{t_{R(x)} - t_{R(cn)}}{t_{R(cn+1)} - t_{R(cn)}} \right\} \quad (\text{Eq. 5})$$

Em que:

IRL = índice de retenção linear;

$n$  = número de carbonos;

$t_{R(cn)}$  = Tempo de retenção do  $n$ -alcano que antecede o analito;

$t_{R(x)}$  = Tempo de retenção do analito;

$t_{R(cn+1)}$  = Tempo de retenção do  $n$ -alcano que sucede o analito.

Apesar de a técnica GC-MS ser uma poderosa ferramenta em análise qualitativa, muitas vezes as bibliotecas utilizadas podem não ser completas ou eficientes o suficiente para caracterizar completamente alguns compostos, sendo que o índice de retenção pode auxiliar neste propósito, evitando-se assim uma identificação equivocada. Os usuários de GC-MS tendem freqüentemente a confiar simplesmente na biblioteca de espectro de massas na identificação de compostos, mas devido à complexidade das matrizes e à ineficiência nas técnicas de extração, ao usar o IRL este processo é bastante aprimorado (VIEGAS & BASSOLI, 2007).

#### 4- PERFIL LIPÍDICO DO CACAU E CHOCOLATE

A manteiga de cacau é a principal gordura do chocolate e o ingrediente de maior valor econômico, correspondendo a um terço do preço do produto final. É

também responsável por diversas características de qualidade do chocolate como dureza e quebra à temperatura ambiente, rápida e completa fusão na boca, brilho, contração durante o desmolde e rápido desprendimento de aroma e sabor na degustação, além de estar diretamente ligada à estabilidade do produto, durante o armazenamento (COHEN; LUCCAS & JACKIX, 2004).

Quimicamente a manteiga de cacau é constituída predominantemente por 98% de triacilgliceróis e 2% de diglicerídeos, monoglicerídeos, ácidos graxos livres e compostos menos solubilizados. Os ácidos graxos saturados são menos reativos e apresentam ponto de fusão superior em relação ao ácido graxo correspondente de mesmo tamanho de cadeia com uma ou mais insaturações. Ácidos graxos insaturados podem existir nas configurações *cis* e *trans*, com diferentes propriedades físico-químicas (SUZUKI, 2009; LUCCAS, 2001; RUSCHENSKY, 2005),

Os três principais AG encontrados são o ácido esteárico (C18:0), ácido palmítico (C16:0) e o ácido oléico (C18:1). A composição em ácidos graxos tem grande importância devido aos seus aspectos nutricionais e funcionais. Praticamente todo ácido oléico encontra-se esterificado na posição central da molécula de glicerol, enquanto os AG saturados são mais encontrados nas posições 1 e 3. Esta condição permite que a manteiga de cacau possua três triglicerídeos simétricos principais, como o POP (1,3-dipalmito-2-óleo triacilglicerol), POS (1- palmito-2-óleo-3-estearo triacilglicerol) e SOS (1,3-diestearo-2-óleo triacilglicerol). Em função dessa simetria e das condições de temperagem do chocolate, a manteiga de cacau se cristaliza em seis diferentes formas cristalinas ou polimórficas, responsáveis por suas propriedades bem definidas de fusão e cristalização (LUCCAS, 2001; RUSCHENSKY, 2005; COHEN; LUCCAS & JACKIX, 2004; EFRAIM, 2004).

O avanço das técnicas de modificação de óleos e gorduras para substituição parcial ou total da manteiga de cacau tem atraído cada vez mais os fabricantes de chocolate, uma vez que a manteiga de cacau é uma matéria-prima de alto custo e demanda. Essas gorduras alternativas são denominadas sucedâneos e devem ter muita similaridade físico-química com a manteiga do cacau, para que não baixe o ponto de fusão do chocolate. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) determina que o chocolate possua no máximo 5% de gordura vegetal e no mínimo 25% de sólidos de cacau (LUCCAS, 2001; FARAH, 2008; BRASIL, 2003).



O principal problema para a conservação do chocolate é decorrente do seu alto conteúdo de gordura e do seu baixo ponto de fusão. A proporção entre os teores de AGS e AGI da manteiga de cacau é de fundamental importância na consistência do produto. Um maior percentual de AGS, em relação aos AGI, contribui positivamente para a elevação da consistência da gordura do cacau e da elevação do ponto de fusão e, conseqüentemente, da estabilidade do chocolate em barra, o que eleva a sua qualidade e aumenta a manutenção de suas características originais (MELLO & CHITARRA, 1999).

## **5- ANÁLISE TÉRMICA**

A análise térmica é um grupo de técnicas nas quais uma propriedade física de uma substância e/ou seus produtos de reação são medidos, enquanto a amostra é submetida a uma programação de temperatura (SANTOS, 2004).

A termogravimetria (TG) permite acompanhar, detalhadamente, a variação de massa que ocorre na amostra, perda ou ganho, provocada pelo aquecimento, sendo possível estabelecer a faixa de temperatura em que esta começa a se decompor. Na TG a variação de massa é medida utilizando-se um equipamento denominado termobalança (DANTAS, 2006).

A termobalança consiste na combinação de uma microbalança eletrônica adequada com um forno e um programador linear de temperatura, permitindo a pesagem contínua de uma amostra em função da temperatura, na medida em que a amostra é aquecida ou resfriada (WENDLAN, 1986; CONCEIÇÃO, 2004).

Dentre os métodos termogravimétricos utilizados, estão: o não-isotérmico, no qual a perda de massa é registrada continuamente à medida que a temperatura aumenta; o isotérmico, onde a variação de massa é registrada em função do tempo, mantendo-se uma temperatura constante; e o quase-isotérmico, cujo temperatura é mantida constante quando se inicia a variação de massa da amostra, até que a mesma se estabilize, sendo o aquecimento recomeçado e repetido em cada evento da decomposição (MACHADO et al., 1999).

Para melhor observar as informações, nem sempre nítidas nas curvas termogravimétricas, utiliza-se comumente a termogravimetria derivada (DTG), que corresponde à derivada primeira da curva TG, ou seja, a derivada da variação da massa em relação ao tempo ou temperatura. A curva DTG apresenta as informações

de uma forma mais visualmente acessível, levando a pronta determinação da temperatura do pico, indicando as temperaturas iniciais e finais do processo (FERNANDES, 1995).

Essas técnicas termoanalíticas representam ferramentas com metodologias rápidas e eficazes para análise de alimentos, especialmente para fins industriais, podendo ser utilizadas no controle da qualidade de matérias-primas, processamento e produto final (MOTHÉ & AZEVEDO, 2009).

## **6- ANÁLISE MULTIVARIADA**

Os métodos estatísticos estão dispostos em dois grupos: um que trata da estatística, que olha as variáveis de maneira isolada – a estatística univariada, e outro que olha as variáveis de forma conjunta – a estatística multivariada (VICINI, 2005).

A extração de informações dos resultados de um experimento químico envolve a análise de grande número de variáveis. Muitas vezes, um pequeno número destas variáveis contém as informações químicas mais relevantes, enquanto que a maioria das variáveis adiciona pouco ou nada à interpretação dos resultados em termos químicos. A decisão sobre quais variáveis são importantes é baseada em critérios que são mais subjetivos que objetivos, essa técnica pode ser realizada por meio da análise de componentes principais (PCA). Na prática, a PCA é usada para agrupar amostras que apresentam similaridade em sua constituição, ou seja, realiza-se uma classificação supervisionada (LESSA, 2014).

PCA é uma técnica matemática da análise multivariada, que possibilita investigações com um grande número de dados disponíveis e tem a finalidade de substituir um conjunto de variáveis correlacionadas por um conjunto de novas variáveis não-correlacionadas, sendo essas combinações lineares das variáveis iniciais, e colocadas em ordem decrescente por suas variâncias,  $VAR CP_1 > VAR CP_2 > \dots > VAR CP_n$  (VALENTIN, 2000).

A análise hierárquica de agrupamento (HCA) baseia-se em encontrar similaridade em um amplo conjunto de dados. Dividindo o conjunto de dados em grupos. O método de agrupamento hierárquico produz aglomerados de pequenos grupos de itens semelhantes e grandes aglomerados, que incluem itens com menor similaridade. A partir do método de agrupamento hierárquico normalmente são

produzidos gráficos conhecidos como dendogramas, que apresentam a estrutura dos agrupamentos de forma bastante intuitiva (HOLLAND, 2006).

## 7- REFERÊNCIAS

- ADAMS, R.P. **Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry**. Allured Publishing Corporation, Carol Stream, IL. 1995.
- AFOAKWA, E. O. **Chocolate Science and Technology**. United Kingdom: John Wiley and Sons Ltd. New Delhi: 2010.
- AFOAKWA, E. O. **Chocolate e cacau, sabor e qualidade**. Enciclopédia Kirk-Othmer Chem Technol 1 – 19, 2012.
- 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.
- ALVES, S. A. M. **Epidemiologia da vassoura de bruxa (Crinipellis perniciosa (STAHEL) SINGER) em cacauzeiros enxertados em Uruçuca, BA**. 2002. 70p. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Universidade de São Paulo. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Piracicaba – SP.
- APROTOSOAIE, A. C.; LUCA, S. V.; MIRON, A. Flavor chemistry of cocoa and cocoa products – An overview. **Food Science and Food Safety**, v. 15, p. 73-91, 2016.
- AUGUSTO, F.; VALENTE, A. L. P.; TADA, E. S.; RIVELLINO, S. R. Screening of Brazilian fruit aromas using solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 873, p. 117-127, 2000.
- BASTOS, V. S. **Sucessão microbiana e dinâmica de substratos e metabólitos durante a fermentação espontânea de grãos de cacau (Theobroma cacao L.), variedade clonal TSH 565, cultivado no Sul a Bahia**. 2016, 133p. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) Instituto de Química. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro – RJ, 2016.
- BECKETT, S. T. **Fabricación y utilización industrial del chocolate**. Zaragoza: Editorial Acribica, p 432. 1994.
- BECKETT, S. T. **Industrial chocolate manufacture and use**. 4th ed. USA: Blackwell Publishing. 2009. 732p.
- BIEHL, B.; ZIEGLER, G. **Cocoa: chemistry of processing**. In: CABALLERO, B.; TRUGO, L.; FINGLAS; P. M. editors. Encyclopedia of food sciences and nutrition. 2nd ed. New York: Academic Press. p 1436–48.2003.
- BLANK, I. **Gas chromatography-olfactometry in food aroma analysis**. In: Techniques for analyzing food aroma. Marsili, R., Ed.; Marcel Dekker: New York, pp. 293-329, 1996.

BOGUSZ, S. J. **Caracterização química da fração volátil e estudo do potencial antioxidante em pimentas do gênero *Capsicum***. 2010, 163p. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos). Faculdade de Engenharia de Alimentos. Universidade Estadual de Campinas, Campinas – SP. 2010.

BONVECHI, J. S. Investigação de compostos aromáticos em pó de cacau torrado. **European Food Research and Technology**, v. 221, p.19 – 29, 2005.

BOOD, K. G.; ZABETAKIS, I. The biosynthesis of strawberry flavor (II): Biosynthesis and molecular biology studies. **Journal of Food Science**, v. 67, p. 2-8, 2002.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 227, de 28 de agosto de 2003. Aprova Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Chocolate e Chocolate Branco. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, 01 set. 2003.

BRIGGS, J. L.; WANG, T. Influence of shearing and time on the rheological properties of milk chocolate during tempering. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 81, 2004.

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

CEPLAC – Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira. **Cacau: história e evolução**. 2014. Disponível em: < <http://www.ceplac.gov.br/radar/cacau.htm>> Acesso em: 16 fev. 2018.

COHEN, K. O.; LUCCAS, V.; JACKIX, M. N. H. Revisão: Temperagem ou Pré-Cristalização do Chocolate. Braz. **Journal Food and Technologies**, v.7, p.23-30, 2004.

CONCEIÇÃO, M. M. **Estudo da degradação térmica de adoçante com aspartame**. 2004, 101p. Tese (Doutorado em Química). Centro de Tecnologia. Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa – PB. 2004.

COPETTI, M. V.; IAMANAKA, B. T.; FRISVAD, J. C.; PEREIRA, J. L.; TANIWAKI, M. H. Mycobiota of cocoa: From far to chocolate. **Food Microbiology**, v.28, p.1499-1504, 2011.

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

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

DANTAS, H. J. **Estudo termoanalítico, cinético e reológico de biodiesel derivado do óleo de algodão (*Gossypium hisutum*)**. 2006, 122p. Dissertação (Mestrado em Química). Centro de Tecnologia. Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa – PB. 2006.

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

FARAH, R. **Chocolate: energia e saúde**. São Paulo: Alaúde Editorial, 2008. 151p.

FERNANDES, V. J. **Curso de Análise Térmica (TG, DSC, DTA e TMA)**. Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 1995.

FERREIRA, A. C. R.; AHNERT, D.; NETO, B. A. M.; MELLO, D. L. N. **Guia de Beneficiamento de cacau de qualidade**. Instituto Cabruca. Ilhéus, 2013. 52p.

FRANCO, J.; JANZANTTI, N. S. **Avanços na metodologia instrumental da pesquisa do sabor**. In: FRANCO, M. R. B. (Ed.). *Aroma e Sabor de Alimentos: Temas atuais*. São Paulo: Editora Varela, Cap. 1, p.17-27, 2004.

FRAUENDORFER, F.; SCHIEBERLE, P. Changes in key aroma compounds of Criollo cocoa beans during roasting. **Journal Agriculture Food Chemistry**, v. 56, p. 10244–10251, 2008.

GARRUTI, D. S. **Composição de voláteis e qualidade de aroma do vinho de caju**. 2001. 218p. Tese (Doutorado em Ciências de Alimentos). Faculdade de Engenharia de Alimentos. Universidade Estadual de Campinas, Campinas – SP, 2001.

GARRUTI, D. S. Identificação de compostos voláteis importantes ao aroma de sucos de frutas tropicais por CG-EM e CG-olfatometria. pp.101-112.(Ed.). **Aroma e Sabor de Alimentos: temas atuais**. São Paulo: Livraria Varela, 2004.

GÓRECKI, T.; YU, X.; PAWLISZYN, J. Theory of analyte extraction by selected porous polymer SPME fibres. **Analyst**, v. 124, p. 643-649, 1999.

GROSCH, W. Evaluation of the key odorants of foods by dilution experiments, aroma models and omission. **Chem Senses**. v. 26, p. 533-545, 2001.

HOLLAND, S. M. **Cluster Analysis, Departament of geology**. University of Georgia, Athens, GA 30602-2501, janeiro 2006.

HOLSCHER, W.; VITZTHUM, O. G.; STEINHART, H. Identification and sensorial evaluation of aroma-impact compounds in roasted colombian coffee. **Café Cacao Thé**, v. 34, p. 205-212, 1990.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Levantamento sistemático da produção agrícola. **Pesquisa mensal de previsão e acompanhamento das safras agrícolas no ano civil**. Rio de Janeiro, v. 29, p. 1-81, 2015. Disponível em: <<https://ww2.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/default.shtm>>. Acesso em: 16 fev. 2018.

INCZEDY, J.; LENGYEL, T.; URE, A. M.; **Compendium of Analytical Nomenclature**. Definitive Rules 1997, "The Orange Book", 3rd ed. Blackwell Science: Oxford, 1998.

KOBLITZ, M. G. B. **Matérias-primas alimentícias: composição e controle de qualidade**. Rio de Janeiro (RJ): Guanabara Koogan, 2011.p.301.

KRINGS, U.; ZELENA, K.; WU, S.; BERGER, R. G. Destilação de alta camada de camada fina para isolar compostos de sabor voláteis de cacau em pó. **European Food Research and Technology**, v. 223, p. 675 – 681, 2006.

LEITE, P. B.; LANNES, S. C. S.; RODRIGUES, A. M.; SOARES, F. A. S. M.; SOARES, S. E.; BISPO, E. S. Estudo reológico de chocolates elaborados com diferentes cultivares de cacau (*Theobroma cacao L.*). **Brazilian Journal of Food Technology**, v.16, p. 192-197, 2013.

LOPES, A. S.; GARCÍA, N. H. P.; VASCONCELOS, M. A. M. Avaliação das condições de torração após a fermentação de amêndoas de cupuaçu (*Theobroma Grandiflorum* Schum) e cacau (*Theobroma cacao L.*). **Brazilian Journal Food Technology**, v. 6, p. 309-316, 2003.

LUCCAS, V. **Fracionamento térmico e obtenção de gorduras de cupuaçu alternativas à manteiga de cacau para uso na fabricação de chocolate**.2001. 195p. Tese (Doutorado em Engenharia Química). Faculdade de Engenharia de Alimentos. Universidade Estadual de Campinas, Campinas – SP, 2001.

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

MACHADO, M. C. N.; SOUZA, A. G.; NUNES, L. M.; PINHEIRO, C. D.; MACHADO, J.C. Kinetic study of the thermal decomposition on bisdialkyldithiocarbamate cadmium ii complexes by isothermal and non-isothermal thermogravimetry. **Thermochimica Acta**, v. 328, p. 201-207,1999.

MANDARINO, E. P.; GOMES, A. R. S. **Produtividade do cacauzeiro (*Theobroma cacao L.*) cultivado em blocos monoclonais, no Sul da Bahia, Brasil**. Ilhéus, CEPLAC/CEPEC, nº 197, 32p. 2009.

McGORRIN, R.G. **Character impact compounds: Flavors and off-flavors in foods** R. Marsili (Ed.), Flavor, fragrance and odor analysis, Marcel Dekker Inc., New York, pp. 375-413, 2002.

McLAFFERTY, F. W.; TURECK, F. **Interpretation of mass spectra**.4 th Ed., University Science Books, CA., p.371, 1993.

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

- MELO, G. R. P.; CHITARRA, A. B. Características qualitativas de importância na gordura da amêndoa em nove híbridos de cacau (Theobroma cacao L.). **Ciências e Agrotécnica**, v. 23, p.161-169, 1999.
- MINIFIE, B. W. **Chocolate, cocoa, and confectionery: science and technology**. Van Nostrand & Reinhold, New York, v.3, p.907, 1999.
- MOTHÉ, C. G.; AZEVEDO, A. D. **Análise térmica de materiais**. Artliber, São Paulo, 2009, 324p.
- MÜHLEN, C. V. Índices de retenção em cromatografia gasosa bidimensional abrangente. **Scientia Chromatographica**, v. 1, p. 69-103, 2003.
- NIGAM, P. S.; SINGH, A. Cocoa and Coffee Fermentations. **Encyclopedia of Food Microbiology**, v.2, p. 485-492, 2014.
- OETTERER, M.; D'ARCE, M. A. B. R.; SPOTO, M. **Fundamentos de ciência e tecnologia de alimentos**. Tecnologia de obtenção do cacau, produtos do cacau e chocolate. Barueri, SP: Editora Manole Ltda. p.612, 2006.
- ORTEGA-HERAS, M.; GONZÁLEZ-SANJOSÉ, M. L.; BELTRÁN, S. Aroma composition of wines studied by different extraction methods. **Analytica Chimica Acta**, v. 458, p. 85-93, 2002.
- PARLIMENT, T. Solvent Extraction and Distillation Techniques. Cap. 01, pp.1-23. *In*: MARSILI, R. (Ed). **Flavor, fragrances and odor analysis**, Nova Iorque: Marcel Dekker Inc., 2002.
- PAWLISZYN, J. **Solid phase microextraction: Theory and Practices**. Wiley – VCH: New York, p. 264, 1995.
- PEREGO, P.; FABIANO, B.; CAVICCHIOLI, M.; BORGUI, M. D. Cocoa quality and processing: A study by solid-phase microextraction and gas chromatography analysis of methylpyrazines. **Food and Bioproducts Processing**, v. 84, p. 291-297, 2004.
- PINO, J. A.; QUERIS, O. Analysis of volatile compounds of pineapple wine using solid-phase microextraction techniques. **Food Chemistry**, v. 122, p. 1241-1246, 2010.
- PINTO, L. R. M.; PIRES, J. L. Seleção de plantas de cacau resistentes à vassoura de bruxa. CEPLAC/CEPEC. **Boletim Técnico n. 181**, 1998. 35p.
- PLUTOWSKA, B.; WARDENCKI, W. Aromagrams – aromatic profile in the appreciation of food quality. **Food Chemistry**, v. 101, p. 845-872, 2007.
- PONTILLON, J. Do cacau ao tablete. **A Ciência na cozinha**, v.1, p.62-71, 2009.
- QUAST, L. B.; LUCCAS, V.; ROTH, T. C. W.; KIECKBUSCH, T. G. Influência da incorporação de gordura de cupuaçu na temperagem da manteiga de cacau. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 10, p. 130-136, 2007.
- QUEIROZ, M. B.; GARCIA, N. H. P. Avaliação da torração de amêndoas de cupuaçu (Theobroma grandiflorum). **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 2, p. 167-173, 1999.

RAMLI, N.; HASSAN, O.; SAID, M.; SAMSUDIN, W.; IDRIS, N. A. Influence of roasting conditions on volatile flavor of roasted malaysian cocoa beans. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 30, p. 280–298, 2006.

RAMOS, L. C.; DIAS, D.R.; PEDROSO, C.; MIGUEL, M. G.; FREITAS, S. R. Impact of different cocoa hybrids (*Theobroma cacao* L.) and *S. cerevisiae* UFLA CA11 inoculation on microbial communities and volatile compounds of cocoa fermentation. **Food Research International**, v. 2014, p. 908–18, 2014.

REINECCIUS, G. **Flavor chemistry and technology**. 2. ed Boca Raton: Taylor & Francis, 2006. 489 p.

ROCHA, I. S.; SANTANA, L. R. R.; SOARES, S. E.; BISPO, E. S. Effect of the roasting temperature and time of cocoa beans on the sensory characteristics and acceptability of chocolate. **Food Science and Technology**, v. 37, p. 522-530, 2017.

RODRIGUEZ-CAMPOS, J.; ESCALONA-BUENDÍA, H.; CONTRERAS-RAMOS, S.; OROZCO-AVILA, I.; JARAMILLO-FLORES, E.; LUGO-CERVANTES, E. Effect of fermentation time and drying temperature on volatile compounds in cocoa. **Food Chemistry**, v.132, p.277-288, 2011.

ROSA, I. S. **Enxertia do cacauero**. Ilhéus. CEPLAC/SUBES/ CEPEC. 1998. 42p.

RUSCHENSKY, N. **Estudo da cristalização e fracionamento térmico a seco da gordura de cupuaçu**. 2005, 89p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Universidade Estadual de Campinas, Campinas – SP, 2005.

SAMPAIO, S. C. S. **Chocolate meio amargo produzido de amêndoas de cacau fermentadas com polpa de cajá, cupuaçu ou graviola: características físico-químicas reológicas e sensorias**. 2011. 93p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal de Viçosa. Viçosa – MG, 2011.

SANTOS, J. C. O. **Estudo termoanalítico e cinético da degradação térmica de óleos e lubrificantes automotivos**. 2004, 110p. Tese (Doutorado em Química). Centro de Tecnologia. Universidade Federal da Paraíba. João Pessoa – PB, 2004.

SCARPARI, L. M.; MEINHARDT, L. W.; MAZZAFERA, P.; POMELLA, A. W. V.; SCHIAVINATO, M. A.; CASCARDO, J. C. M.; PEREIRA, G. A. G. Biochemical changes during the development of witches' broom: the most important disease of cocoa in Brazil caused by *Crinipellis pernicioso*. **Journal of Experimental Botany**, v. 56, n. 413, p. 865–877, 2005.

SERRA, W. S. **Manual do Cacaucultor: com perguntas e respostas**. p.177-207, 2004.

SOUSA GALVÃO, M.; NARAIN, N.; DOS SANTOS, M. D. S. P.; NUNES, M. L. Volatile compounds and descriptive odor attributes in umbu (*Spondias tuberosa*) fruits during maturation. **Food Research International**, v.44, p.1919-1926, 2011.

SUPELCO. **Chromatographic Products** (catálogo); Supelco, Bellefonte, PA, 1996; p. 373.



SUZUKI, R. M. **Composição química e quantificação de ácidos graxos em chocolates, achocolatados em pó, bebidas achocolatadas e sorvetes de chocolate**. 2009, 133p. Tese (Doutorado em Química). Centro de Ciências Exatas, Universidade Estadual de Maringá. Maringá – PR, 2009.

THOMAZINI, M.; FRANCO, M. R. B. Metodologia para análise dos constituintes voláteis do sabor. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.34, p.52-59, 2000.

VALENTE, A. L. P.; AUGUSTO, F. Microextração por fase sólida. **Química Nova**, v. 23, p. 523-530, 2000.

VALENTIN, J. L. **Ecologia numérica: uma introdução à análise multivariada de dados ecológicos**. Rio de Janeiro: Interciência, 2000.

VICINI, L. **Análise multivariada da teoria a prática**. Universidade Federal de Santa Maria, 215p. 2005.

VIEGAS, M. C.; BASSOLI, D. G. Utilização do índice de retenção linear para caracterização de compostos voláteis em café solúvel utilizando GC-MS e coluna HP-INNOWAX. **Química Nova**, v. 30, p. 2031-2034, 2007.

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

WAGNER, R. **Composição de voláteis e aroma de salames nacionais tipos italiano e milano**. 2008.299 p. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos). Faculdade de Engenharia de Alimentos. Universidade Estadual de Campinas, Campinas – SP, 2008.

WANG, Y.; YANG, C.; LIS, Y. Volatile characteristics of 50 peaches and nectarines evaluated by HP–SPME with GC–MS. **Food Chemistry**, v.116, p. 56-364, 2009.

WARDENCKI, W.; PLUTOWSKA, B. Application of gas chromatography-olfactometry in analysis and quality assessment of alcoholic beverages – A review. **Food Chemistry**, v. 107.p. 449-463, 2008.

WENDLANT, W. W. **Thermal Analysis**, 3ª Edição, Jonh Wiley & Sons, New York, 1986.

ZELLNER, B.A.; BICCHI, C.; DUGO, P.; RUBIOLO, P.; DUGO, G.; MONDELLO, L. Linear retention indices in gas chromatographic analysis: a review. **Flavour and Fragrance Journal**, v.23, p. 297-314, 2008.

ZHANG, Z.; PAWLISZYN, J. Headspace Solid Phase Microextraction. **Journal Analytical Chemistry**, v. 65, p. 1843-1852, 1993.

ZIEGLEDER, G. **Flavour development in cocoa and chocolate**. In: Beckett ST, editor. Industrial chocolate manufacture and use. 4th ed. Oxford: Blackwell Publishing. p 169–91. 2009.

## **CAPÍTULO II**

---

**Determinação das propriedades físico-químicas de chocolates produzidos com diferentes cultivares de cacau (*Theobroma cacao L.*)**

**DETERMINAÇÃO DAS PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DE CHOCOLATES  
PRODUZIDOS COM DIFERENTES CULTIVARES DE CACAU  
(*Theobroma cacao* L.)**

**RESUMO**

Chocolate varietal é aquele produzido com amêndoas de cacau oriundas de regiões geográficas e populações varietais (cultivares) específicas. Amêndoas de cacau de boa qualidade são de grande importância para a obtenção e comercialização de chocolates com atributos diferenciados. O presente estudo teve como objetivo caracterizar e comparar as propriedades físico-químicas de chocolates produzidos a partir de diferentes variedades de cacau (*Theobroma cacao* L.) cultivados na Região Sul da Bahia. Foram avaliadas 9 amostras de chocolates monovarietais, quanto às propriedades físico-químicas, térmicas e o perfil de ácidos graxos. Os resultados obtidos foram submetidos a testes de variância e estatística multivariada. As avaliações químicas mostraram que as amostras possuem características próprias. O perfil de fusão de gordura variou de 28°C a 31,60°C. Foi possível identificar uma correlação linear entre o teor de gordura dos chocolates e o parâmetro de força de quebra. As amostras de chocolates não diferiram entre si com relação ao aspecto colorimétrico. A análise de componentes principais (PCA) permitiu discriminar as diferentes variedades de chocolate em função do perfil de ácidos graxos. Através da análise hierárquica de agrupamento (HCA) verificou-se a formação de três grupos. As análises termogravimétricas demonstraram que as amostras possuem um perfil termogravimétrico semelhante. As diferenças encontradas nas amostras de chocolates foram atribuídas a fatores como o processo de maturação do fruto, a variedade do cacau e as condições climáticas a que foram submetidas durante o processamento.

**PALAVRAS-CHAVES:** Ácidos graxos; monovarietal; sólidos de cacau, vassoura de bruxa.

## DETERMINATION OF THE PHYSICO-CHEMICAL PROPERTIES OF CHOCOLATES PRODUCED WITH DIFFERENT COCOA CULTIVARS (*Theobroma cacao L.*)

### ABSTRACT

Varietal chocolate is that produced with cocoa beans from geographical regions and specific varietal populations (cultivars). Good quality cocoa almonds are of great importance for the obtaining and commercialization of chocolates with differentiated attributes. The present study aimed to characterize and compare the physicochemical properties of chocolates produced from different varieties of cocoa (*Theobroma cacao L.*) cultivated in the Southern Region of Bahia. Nine samples of monovarium chocolates were evaluated for physico-chemical, thermal and fatty acid profiles. The results were submitted to tests of variance and multivariate statistics. The chemical evaluations showed that the samples have their own characteristics. The fat melting profile ranged from 28 °C to 31.60 °C. It was possible to identify a linear correlation between the fat content of the chocolates and the break force parameter. The samples of chocolates did not differ in relation to the colorimetric aspect. The main component analysis (PCA) allowed to discriminate the different varieties of chocolate according to the profile of fatty acids. Through the hierarchical clustering analysis (HCA) the formation of three groups was verified. The thermogravimetric analysis showed that the samples had a similar thermogravimetric profile. The differences found in the samples of chocolates were attributed to factors such as the fruit maturation process, the cocoa variety and the climatic conditions to which they were submitted during processing.

**KEYWORDS:** Fatty acids; monovarietal; cocoa solids, witch's broom.

## 1. INTRODUÇÃO

O Sul da Bahia é a segunda maior região produtora de cacau do Brasil, sendo responsável por 72,8% da produção nacional, entre as safras de 2007/2008. Até o ano de 1989, esta região era livre da enfermidade conhecida como “vassoura-de-bruxa”, causada pelo fungo *Moniliophthora perniciosa*, responsável por elevadas perdas que provocou uma redução de até 100% na produção de cacau dessa região (MANDARINO & GOMES, 2009).

Uma das alternativas encontradas para se manejar a incidência da doença “vassoura-de-bruxa” foi o emprego de variedades resistentes e de alta produtividade, desenvolvidas em programa de melhoramento genético do cacau (LEITE et al., 2013).

Amêndoas de cacau de boa qualidade são de grande importância para a obtenção e comercialização de chocolates com atributos diferenciados. As características genéticas do cacau, bem como as operações de processamento que se iniciam na propriedade agrícola como fermentação e secagem, e as operações de processamento do chocolate influenciam diretamente na qualidade final do produto (MENEZES et al. 2016; LEITE et al., 2013).

De acordo com a legislação brasileira, o chocolate é definido como produto obtido a partir da mistura de derivados de cacau (*Theobroma cacao* L.), massa, pasta ou liquor, cacau em pó e ou manteiga de cacau, com outros ingredientes, como açúcar, com ou sem adição de leite, contendo, no mínimo, 25% (g/100 g) de sólidos totais de cacau (BRASIL, 2005).

Chocolate varietal é aquele produzido com amêndoas de cacau oriundas de regiões geográficas e populações varietais (cultivares) específicas, sendo que o sabor destas amêndoas é fortemente influenciado pelo meio ambiente onde é produzido, fazendo com que esses produtos possuam uma verdadeira identidade de origem (LUNA et al., 2002).

A composição do chocolate varia em todo o mundo devido às diferenças culturais e de legislação em relação às concentrações de cacau e sólidos do leite e às quantidades e tipos de gorduras vegetais permitidas, assim como também pode ser influenciada pela variedade genética das amêndoas de cacau que foram utilizadas para a produção do chocolate, condições de cultivo e técnicas pós-colheita (APROTOSOIAIE, LUCA, MIRON, 2016; CARNEIRO et al., 2011). Dessa forma, torna-se necessário avaliar

as características físico-químicas desses chocolates, afim de verificar a influência de cada fator sobre a qualidade e preservação do produto final. O presente estudo teve como objetivo caracterizar e comparar as propriedades físico-químicas de chocolates produzidos a partir de diferentes variedades de cacau (*Theobroma cacao L.*) cultivados na Região Sul da Bahia.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Material**

Foram avaliadas nove amostras de chocolates monovarietais contendo 70% de sólidos de cacau, produzidos a partir de diferentes variedades de cacau, denominadas PH16, SR162, TSH1188, CEPEC2002, CCN51, Pára-parazinho (Pará), Ipiranga I (Ipi.I), BN34 e PS1319. Essas cultivares de cacau foram utilizadas para a elaboração dos chocolates por possuírem características próprias das regiões cacaeiras onde foram cultivadas.

Os chocolates foram produzido em uma fábrica de chocolate localizada em Ilhéus, região Sul da Bahia. A formulação do chocolate 70%, provenientes das variedades de cacau em estudo, foi realizada utilizando: massa de cacau 66,0%, açúcar 29,60%, manteiga de cacau 4,0% e lecitina 0,4%. Todos os chocolates produzidos possuem a mesma formulação.

### **2.2 Caracterização física química**

As amostras foram caracterizadas quanto aos teores de acidez titulável, pH,  $a_w$ , composição química, ponto de fusão, determinação dos parâmetros de cor, textura, perfil térmico e de ácidos graxos.

As análises foram realizadas em triplicata e os resultados expressos pela média da triplicata e seu desvio padrão.

#### **▪ Acidez titulável**

O teor de acidez titulável foi quantificado de acordo com IAL (2008). Tomou-se 5 g da amostra previamente macerada e aquecida com o auxílio de 50 mL de água deionizada. Posteriormente o eletrodo foi introduzido na solução e foi feita a titulação a com solução de NaOH 0,1 M, até pH 8,2-8,4.

- **pH**

A leitura do pH foi obtida através de pHmetro digital de bancada, modelo (PHS 3D – SANXIN), devidamente calibrado. Pesou-se 10 g de amostra previamente macerada, em seguida as amostras foram aquecidas com o auxílio de 100 mL de água deionizada e depois foi realizada a leitura, de acordo com a metodologia sugerida pelo IAL (2008).

- **$a_w$**

A  $a_w$  foi determinada em equipamento Aqualab – Decagon com exatidão  $\pm 0,015$  e resolução 0,001.

- **Umidade**

Foi utilizado 3 g de amostra para a determinação de umidade pelo método gravimétrico, em estufa com circulação de ar modelo (TE 394/1 – TECNAL) a uma temperatura de 105 °C e dessecador sob vácuo, para resfriamento até peso constante (IAL, 2008).

- **Cinzas**

O teor de cinzas foi avaliado pelo método gravimétrico, por meio da destruição da matéria orgânica contida em 3 g de amostra, submetida à carbonização total em manta aquecedora e posterior incineração em forno mufla modelo (402 D - LAVOISIER), a 550°C, até peso constante de acordo com as recomendações do IAL (2008).

- **Proteínas**

A determinação de proteínas foi realizada a partir da quantificação do nitrogênio total contido em 0,5 g da amostra, pelo método de Kjeldahl (1988), cujo fator indicado para conversão de nitrogênio total para proteína foi de 6,25, conforme as normas do IAL (2008).

- **Lipídios**

Os lipídeos totais foram determinados usando a técnica proposta por Bligh & Dyer, descrita por Dias et al., (2013), que consiste em uma extração a frio a partir da mistura de três solventes, clorofórmio, metanol e água. Os lipídeos foram quantificados em 5 mL de clorofórmio e submetidos à estufa 105 °C, modelo (TE 3941 – Tecnal) para completa evaporação do solvente.

### ▪ **Carboidratos**

O teor de carboidratos foi calculado por diferença, conforme Cohen e Jackix (2004), onde foi subtraído de 100 – (% umidade + % cinzas + % proteína bruta + % lipídios totais). (Eq.1)

$$\text{Carboidratos (\%)} = 100 - (\% \text{ umidade} + \% \text{ cinzas} + \% \text{ proteínas} + \% \text{ lipídios totais})$$

### ▪ **Ponto de fusão**

A determinação do ponto de fusão foi realizada em aparelho medidor de PF modelo PFMII. A razão de aquecimento utilizada foi de 1 °C min<sup>-1</sup>, na faixa de temperatura de 23 a 40 °C.

### ▪ **Análise instrumental de cor**

A determinação dos parâmetros para análise de cor das amostras foi feita usando um colorímetro Konica Minolta (Chroma Meter CR-5), previamente calibrado, em uma superfície branca e preta. A cor das amostras de chocolate foi determinada no sistema L\*, a\*, b\*, o qual foi calibrado utilizando placa de porcelana branca. Nesse sistema de cores L\* representa a luminosidade (L\*=0 – totalmente preto e L\*=100 – totalmente branco) e a\* e b\* são as coordenadas de cores responsáveis pela cromatocidade: (+a\* = vermelho e -a\*= verde, +b\*=amarelo e -b\*= azul).

### ▪ **Textura**

O ensaio mecânico realizado foi um corte utilizando uma sonda SMS/P6 em um analisador de textura modelo TA (Stable Micro Systems), sendo as amostras condicionadas a 21 °C. Condições de operação: velocidade pré-teste 1,0 mm/s, teste 2,0 mm/s e pós-teste 10,0 mm/s; distância de compressão de 5,0 mm; trigger force 5,1 g e tempo de 5,00 s. Foi utilizada placa de perfuração dupla com 8 mm de diâmetro. A força de quebra foi expressa em Newtons (N).

### ▪ **Determinação do perfil de ácidos graxos**

Os ácidos graxos individuais foram determinados por cromatografia gasosa de acordo com a metodologia proposta por Souza et al., (2017). Para isso, uma alíquota dos lipídios totais (aproximadamente 25 mg) foi submetida à reação de saponificação com NaOH em metanol, seguida de metilação com catalisador BF<sub>3</sub> (12% em metanol). Os ésteres metílicos de ácidos graxos (EmAG) foram extraídos com isooctano e



transferidos para frasco âmbar contendo 1mg de padrão interno (C23:0 - T9900; Sigma Aldrich®) e armazenados em atmosfera inerte (N<sub>2</sub>) em freezer à -60 °C.

#### ▪ **Separação cromatográfica dos EmAG**

A separação dos EmAG foi realizada em cromatógrafo a gás (Perkin Elmer Clarus 680) equipado com detector de ionização de chama e coluna capilar de sílica fundida DB-FFAP (30 m x 0,32 mm x 0,25 µm). Os parâmetros de análises foram: temperatura do injetor em 250 °C; temperatura do detector em 280 °C; temperatura da coluna programada a 150 °C durante 16 min., 2 °C por min<sup>-1</sup> até 180 °C, permanecendo nessa temperatura por 25 minutos; e aumentando 5 °C até 210 °C, permanecendo por 25 minutos. O gás hélio foi utilizado como gás de arraste a 1,0 mL min<sup>-1</sup>. Utilizou-se Nitrogênio como gás de make-up a 30 mL min<sup>-1</sup>. Para os gases de chama, utilizou-se 30 mL min<sup>-1</sup> para o gás hidrogênio e a 300 mL min<sup>-1</sup> para o ar sintético. As injeções foram realizadas em triplicatas no modo *split* e o volume de injeção foi de 1 µL.

A identificação dos EmAG de ácidos graxos foi realizada por comparação aos tempos de retenção dos picos das amostras com os tempos de retenção do padrão mix (189-19, Sigma, EUA). A quantificação dos ácidos graxos foi realizada pela adição de padrão interno (C23:0 Sigma, EUA) aos EmAG de ácidos graxos extraídos. Os cálculos foram realizados de acordo com a equação 2 e expressos em mg/g de lipídios totais.

$$\text{Concentração (mg/g)} = \frac{A_{AG} \times M_{PI} \times F}{A_{PI} \times M \times F_{AG}} \times 1000 \quad (\text{Eq.2})$$

Em que:

A<sub>AG</sub> = área do pico do éster metílico de ácido graxo no cromatograma da amostra;

M<sub>PI</sub> = massa do padrão interno adicionada à amostra em mg;

F = fator de correção de resposta de cada éster metílico de ácido graxos no detector de ionização em relação ao C23:0;

A<sub>PI</sub> = área do padrão interno no cromatograma da amostra;

M = massa da amostra em miligramas;

F<sub>AG</sub> = fator de conversão de éster metílico de ácido graxos para ácido graxo.

#### ▪ **Análise térmica**

A determinação dos parâmetros de análise foi de acordo com as condições propostas por Materazzi et al., (2014). Foi utilizada uma termobalança previamente calibrada, da marca Perkin Elmer modelo Pyris1 TGA. As análises termogravimétricas foram realizadas utilizando 10 mg da amostra em cadinho de alumina, sob atmosfera de

nitrogênio, à vazão de 1 mL min<sup>-1</sup>. E razão de aquecimento de 10 °C min<sup>-1</sup>, operado em uma faixa de temperatura de 25 a 700 °C.

### 2.3 Análise dos dados

Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado (DIC) com 9 tratamentos e 3 repetições e os resultados obtidos nas análises foram compilados em planilhas eletrônicas e analisados para ajuste adequado dos modelos matemáticos.

Os dados de composição química foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as variáveis que apresentaram diferença significativa foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância. Para os resultados de colorimetria, foi aplicado o teste de Kruskal-Wallis ( $p < 0,05$ ).

A análise dos componentes principais (PCA) e análise hierárquica de agrupamento (HCA) foram aplicadas para avaliar a similaridade da concentração de ácidos graxos em função da variedade das amostras. As análises estatísticas foram realizadas utilizando o programa estatístico *Minitab v.17*. Os dados obtidos a partir das curvas de TG e DTG foram plotados por meio do programa *Origin v.8*.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 Análises físico-químicas

Os resultados da composição química para as amostras de chocolates monovarietais avaliadas nesse estudo estão apresentadas na Tabela 1.

**Tabela 1** – Composição físico-química das amostras de chocolates monovarietais

Amostras	Proteínas (%)	Lipídios (%)	Cinzas (%)	Umidade (%)	Carboidratos (%)
SR162	8,42±0,19 <sup>abc</sup>	38,40±0,18 <sup>abc</sup>	1,52±0,02 <sup>ef</sup>	0,90±0,04 <sup>e</sup>	50,83±0,26 <sup>abc</sup>
BN34	9,14±0,49 <sup>a</sup>	38,28±0,78 <sup>abc</sup>	1,64±0,03 <sup>cd</sup>	1,14±0,02 <sup>bc</sup>	49,92±0,63 <sup>bc</sup>
PH16	8,93±0,02 <sup>a</sup>	34,83±0,59 <sup>c</sup>	1,86±0,02 <sup>a</sup>	1,10±0,08 <sup>cd</sup>	53,36±0,70 <sup>a</sup>
CEPEC	8,69±0,32 <sup>ab</sup>	37,80±1,03 <sup>abc</sup>	1,50±0,01 <sup>f</sup>	0,91±0,01 <sup>de</sup>	51,04±1,34 <sup>abc</sup>
TSH1188	8,99±0,25 <sup>a</sup>	41,82±0,96 <sup>a</sup>	1,58±0,02 <sup>de</sup>	1,06±0,06 <sup>cde</sup>	46,39±0,66 <sup>d</sup>
Ipiranga I	7,87±0,06 <sup>c</sup>	39,70±3,65 <sup>ab</sup>	1,89±0,02 <sup>a</sup>	1,29±0,07 <sup>ab</sup>	49,25±3,70 <sup>cd</sup>
CCN51	8,79±0,12 <sup>ab</sup>	35,98±0,82 <sup>bc</sup>	1,76±0,04 <sup>b</sup>	1,40±0,03 <sup>a</sup>	51,99±0,94 <sup>ab</sup>
PS1319	8,04±0,37 <sup>bc</sup>	35,21±0,67 <sup>bc</sup>	1,74±0,02 <sup>b</sup>	1,15±0,07 <sup>bc</sup>	54,07±1,00 <sup>a</sup>
Pará	8,99±0,25 <sup>a</sup>	36,21±0,91 <sup>bc</sup>	1,69±0,05 <sup>bc</sup>	1,32±0,03 <sup>a</sup>	51,75±0,60 <sup>abc</sup>

\*Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna representam diferenças significativas entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Os teores de proteínas para as amostras de chocolates das variedades BN34, PH16, TSH1188 e Pará-parazinho não apresentaram diferença significativa ( $p < 0,05$ ) mas possuem diferença significativa quando comparada com a amostra Ipiranga I que possui o menor teor de proteína 7,87%. Já as amostras CCN51 e CEPEC2002 também não apresentaram diferença significativa e possuem valores médios entre 8,79 e 8,69%.

O alto teor de proteínas pode proporcionar uma quantidade razoável de peptídeos e alguns aminoácidos como histidina, metionina e cisteína que possuem atividade antioxidante (JALIL & ISMAIL, 2008). Moreira (1994) atribuiu às variações do valor protéico ao teor de nitrogênio total no solo onde o cacau foi cultivado, assim como também a variedade genética do cacau que foi utilizado no processamento do chocolate.

Quanto aos teores de lipídios totais as amostras TSH1188, SR162, BN34, CEPEC2002 e Ipiranga I não possuem diferença significativa entre si, mas diferem da amostra PH16. Os chocolates das variedades Pará-Parazinho, PS1319, CCN51 e PH16 não exibem diferença significativa entre si e possuem valores médios entre 34,83 e 39,70%, sendo esses valores inferiores aos das amostras TSH1188, SR162, BN34, CEPEC2002 e Ipiranga I. Leite et al (2013) ao analisar as propriedades físico-químicas de chocolates monovarietais contendo 70% de sólidos de cacau, determinou valores médios de lipídios entre 36,53% e 41,76% estando esses valores em concordância com os encontrados nesse trabalho. A variação no teor lipídico das amostras pode estar relacionada a fatores como o processo de maturação do fruto do cacau, a origem genética e as condições climáticas a que foram submetidas durante o processamento (QUAST, 2007).

Entre as amostras, os valores de cinzas variaram entre 1,50 e 1,89%. Os chocolates das variedades PH16 e Ipiranga I apresentaram teores de cinzas mais elevados 1,86 e 1,89% e não possuem diferença significativa ( $p < 0,05$ ), mas diferem das amostras Pará-Parazinho, CEPEC2002, BN34, TSH1188, SR162. Os chocolates PS1319 e CCN51 não apresentam diferença significativa entre si, mas possuem diferença entre as amostras PH16 e Ipiranga I. Genovese e Lannes (2009) sugerem que os chocolates com alto teor de cinzas podem conter um alto teor de minerais.

Os teores médios de umidade foram de 0,90 e 1,40% esses valores são inferiores a faixa de umidade descrita por Genovese e Lannes (2009) que foi de 1,93 a 3,05% para chocolates contendo 70% de sólidos de cacau. Verifica-se que o teor de umidade apresentou valores próximos para a amostra SR162 e CEPEC2002, e estas não

diferiram significativamente ( $p < 0,05$ ). Já as amostra CCN51 e Pará-parazinho apresentaram um teor médio de umidade superior às demais, diferindo significativamente das outras amostras ( $p < 0,05$ ). A umidade dos chocolates pode ser um interferente nos atributos sensoriais de derretimento e textura.

O conteúdo de carboidratos variou de 46,39 a 53,36%. As amostras PH16 e PS1319 não diferem entre si ( $p < 0,05$ ), porém diferem das demais, já que apresentaram o maior teor de carboidratos. Essas variações podem ser atribuídas ao fato de que como os carboidratos foram calculados por diferença, um baixo teor de proteínas e gordura dará um alto teor de carboidratos (PADILLA, LIENDO & QUINTANA, 1998).

A Tabela 2 apresenta os resultados das avaliações de  $a_w$ , acidez titulável, pH, ponto de fusão e força de quebra nas diferentes amostras de chocolates monovarietais.

**Tabela 2** – Valores médios e desvio padrão  $a_w$ , acidez titulável, pH, ponto de fusão e força de quebra para amostras de chocolates monovarietais contendo 70% de sólidos de cacau

Amostras	$a_w$	Acidez titulável NaOH/100 g	pH	Ponto de fusão (°C)	Força da quebra (N)
SR162	0,254±0,01 <sup>a</sup>	3,94±0,22 <sup>c</sup>	6,21±0,30 <sup>a</sup>	28,50±0,50 <sup>de</sup>	82,48±10,9 <sup>ab</sup>
BN34	0,232±0,03 <sup>a</sup>	4,16±0,41 <sup>c</sup>	5,06±0,04 <sup>bc</sup>	28,33±0,58 <sup>de</sup>	71,98±3,40 <sup>ab</sup>
PH16	0,234±0,01 <sup>a</sup>	6,58±0,20 <sup>a</sup>	4,57±0,21 <sup>c</sup>	31,60±0,58 <sup>a</sup>	76,82±21,8 <sup>ab</sup>
CEPEC	0,246±0,02 <sup>a</sup>	4,66±0,52 <sup>bc</sup>	4,99±0,09 <sup>bc</sup>	28,00±0,00 <sup>e</sup>	83,38±5,71 <sup>ab</sup>
TSH1188	0,259±0,02 <sup>a</sup>	6,20±0,20 <sup>a</sup>	4,73±0,09 <sup>bc</sup>	31,43±0,32 <sup>a</sup>	98,54±7,95 <sup>a</sup>
Ipiranga I	0,265±0,03 <sup>a</sup>	4,57±0,40 <sup>bc</sup>	5,13±0,15 <sup>b</sup>	31,26±0,46 <sup>ab</sup>	89,08±3,55 <sup>ab</sup>
CCN51	0,239±0,01 <sup>a</sup>	5,55±0,69 <sup>ab</sup>	5,18±0,40 <sup>b</sup>	29,66±0,58 <sup>cd</sup>	88,33±9,30 <sup>ab</sup>
PS1319	0,268±0,03 <sup>a</sup>	4,87±0,38 <sup>bc</sup>	4,94±0,03 <sup>bc</sup>	29,26±0,25 <sup>cde</sup>	65,63±4,77 <sup>b</sup>
Pará	0,262±0,02 <sup>a</sup>	6,15±0,13 <sup>a</sup>	4,78±0,02 <sup>bc</sup>	30,00±0,00 <sup>bc</sup>	74,25±9,17 <sup>ab</sup>

\*Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna representam diferenças significativas entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

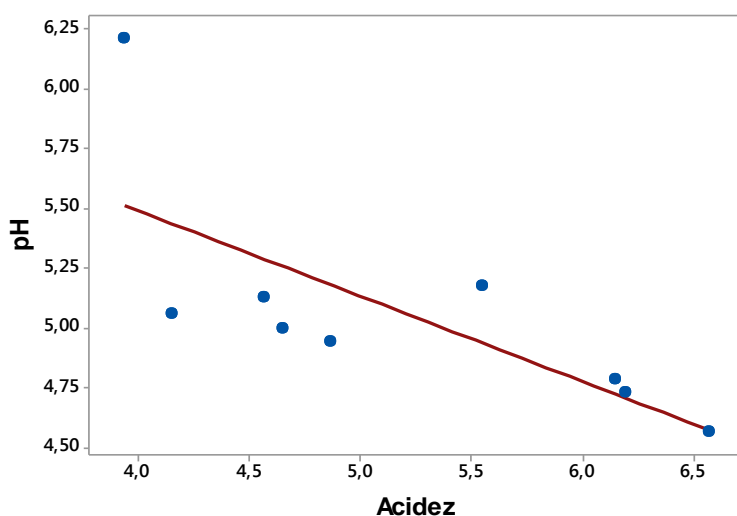
De acordo com os dados apresentados na Tabela 2, para as medidas de atividade de água ( $a_w$ ) não foram verificadas diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre as nove variedades de chocolates estudadas. Efraim (2010) verificou medidas de  $a_w$  para chocolates com 65% de sólidos de cacau de 0,350 sendo esses resultados mais elevados aos apontados nesse estudo. Menezes et al.,(2016) ao estudar 10 variedades de chocolates monovarietais encontrou valores de  $a_w$  que variaram de 0,631 a 0,692 e destaca que a  $a_w$  das amêndoas deve ser inferior a 0,7, a fim de evitar o crescimento de fungos produtores de toxinas que possam comprometer a qualidade do produto final. A redução na

$a_w$  é ocasionada pela temperatura aplicada durante o processo que volatiliza a água livre presente nas amêndoas (MENEZES et al. 2016)

A acidez total titulável apresentou diferença significativa entre as amostras ( $p < 0,05$ ) e os valores variaram entre 3,94 e 6,58 NaOH/100g. Os resultados obtidos são superiores aos determinados por Menezes et al. (2016) ao avaliar as características de chocolates monovarietais contendo 70% de sólidos de cacau que variaram entre 2,39 a 3,54 NaOH/100g. A variação entre os valores encontrados para acidez titulável das amostras de chocolates, pode estar relacionado com a etapa de conchagem, que se constitui como a última etapa de importância na formação do sabor característico e desejável do chocolate, por ocasionar a eliminação de ácidos voláteis indesejáveis, como o ácido acético formado durante a fermentação, que influencia nas características sensoriais do chocolate (AFOAKWA et al, 2008).

Os valores médios de pH dos chocolates variaram entre (4,57 e 6,21), e apresentaram diferença significativa entre si ( $p < 0,05$ ). Essas diferenças entre os valores de pH encontrados são justificadas por diversos fatores, como a variedade de cacau utilizada no processamento do chocolate, os tempos de fermentação e secagem (EFRAIM, 2010).

Segundo Dimick e Hoskin (1981), o valor de pH ideal para chocolates é de 5,70. Valores de pH mais baixos representam teores elevados de ácidos orgânicos, principalmente o ácido acético, formado durante a etapa de fermentação das amêndoas de cacau, afetando de forma indesejável o sabor do chocolate (BRITO & NARAIN, 2003; EFRAIM, 2010). Para verificar a correlação entre o teor de pH e acidez, foi realizada uma análise de correlação linear, conforme apresenta a Figura 1.



**Figura 1** – Diagrama de correlação linear entre o teor de pH e acidez

Foi observada uma correlação inversa significativa ( $p < 0,05$ ) entre o pH e a acidez titulável, levando em consideração o coeficiente de correlação de Pearson encontrado, que foi de  $-0,656$ , o que sugere que 65% da redução do pH ocorrem proporcionalmente com o aumento do teor de acidez.

Holm, Aston e Douglas (1993) ao avaliar os efeitos dos ácidos orgânicos no cacau e chocolate, verificaram correlação positiva significativa ( $p < 0,05$ ) entre a concentração de ácido acético e pH onde o coeficiente de correlação de Pearson foi de  $0,820$ .

Tem sido reportado na literatura que níveis mais altos de acidez titulável são associados com amêndoas de cacau com baixos valores de pH (SHEPHERD, 1976). O pH, é um índice que indica a acidez, neutralidade ou alcalinidade de um meio qualquer, cuja determinação é feita eletrometricamente. Já a acidez é resultante dos ácidos orgânicos existentes no alimento, e que causam alterações químicas nos mesmos (IAL, 2008).

Também foi relatado que amêndoas de cacau que possuem características sensoriais inferiores aos desejáveis de sabor de cacau/chocolate é ocasionado pelo alto teor de acidez (BIEHL et al., 1985).

As características de qualidade do chocolate também estão relacionadas com o seu ponto de fusão. Esse deve ser derretido de forma lenta e em temperaturas que não seja superior a do corpo humano, conferindo assim dureza e quebra à temperatura ambiente (*snap*), brilho, contração durante o processo de desmoldagem, rápido desprendimento de aroma e sabor e completa fusão na boca (DHONSI & STAPLEY, 2006).

Os valores médios de ponto de fusão variaram de  $28$  a  $31,60$  °C e apresentaram diferença significativa entre si ( $p < 0,05$ ). As amostras PH16 e TSH1188 possuem o ponto de fusão mais elevados  $31,60$  e  $31,43$  °C, respectivamente quando comparada com as demais amostras. De acordo com Stapley et al. (1999), em estudos realizados com a temperagem de chocolates, as amostras que possuem pontos de fusão maiores estão associados às formas polimórficas mais estáveis para chocolates adequadamente temperados.

A faixa do ponto de fusão de uma gordura depende da sua composição química, do seu comportamento polimórfico e das condições de cristalização às quais as amostras foram submetidas (QUAST et al., 2011).

Lohman e Hartel (1994) ao determinarem ponto de fusão em chocolates com alto teor de cacau verificaram valores médios de ponto de fusão entre  $32,6$  e  $33,7$  °C.

Esses resultados são semelhantes aos apresentados nesse estudo. Leite et al. (2013) determinaram ponto de fusão entre 29,63 e 30,43 °C também são considerados próximos aos encontrados no presente estudo para chocolates produzidos a partir de cacau resistentes a vassoura de bruxa. Baixo ponto de fusão influencia a textura do produto final, tornando o chocolate inconsistente e sem estabilidade. De acordo com Melo e Chitarra (1999) o principal problema para a conservação do chocolate está relacionado com o seu alto conteúdo de gordura e do seu baixo ponto de fusão.

As medidas de força de quebra dos chocolates avaliados foram descritos na Tabela 2 e apresentaram diferença significativa ( $p < 0,05$ ). A força de quebra é um dos parâmetros de textura avaliados, que confere a firmeza do alimento, sendo uma propriedade instrumentalmente definida como a força requerida para causar uma determinada deformação na amostra (SZCZESNIAK, 2002). Os resultados foram de 98,54 N a 65,63 N, em que a amostra TSH1188 possui valor mais elevado 98,54 N. Assim, pode-se afirmar que a energia necessária para romper a amostra foi superior as demais. Já as amostras BN34 e PS1319 requerem menor energia, pois apresentaram valores mais baixos 71,98 N e 65,63 N.

A diferença de força de quebra entre as amostras estudadas pode estar relacionada com a eficiência da temperagem e a quantidade de manteiga de cacau. Essa etapa do processamento induz a formação de cristais da manteiga de cacau na forma  $\beta$ , e somente esta forma é capaz de produzir a solidificação da gordura presente na massa (CARNEIRO et al., 2011).

A fim de avaliar a relação linear, o sentido e a intensidade da correlação entre o teor de gordura e a força de quebra dos diferentes chocolates, foi calculado o coeficiente de correlação de Pearson que foi de 0,722 e a sua significância ( $p < 0,028$ ). Carneiro et al. (2011) ao avaliar os parâmetros de textura em barras de chocolates, também verificou uma correlação significativa ( $p < 0,05$ ) entre o teor de gordura e a força de quebra, em que o coeficiente de correlação de Pearson foi de 0,710.

A Tabela 3 apresenta os dados referentes à análise de cor das diferentes amostras de chocolate monovarietais.

**Tabela 3** – Valores médios dos parâmetros Luminosidade (L\*) e cromaticidade (a\*) e (b\*) nas amostras de chocolates monovarietais

<b>Amostras</b>	<b>L*</b>	<b>a*</b>	<b>b*</b>
<b>SR162</b>	26,15±0,23	7,42±0,08	4,40±0,09
<b>BN34</b>	27,24±0,93	5,82±0,36	3,31±0,13
<b>PH16</b>	28,07±1,57	5,27±0,15	2,85±0,41
<b>CEPEC2002</b>	27,24±0,93	5,82±0,36	3,31±0,13
<b>TSH1188</b>	26,38±0,32	4,90±0,11	1,91±0,02
<b>Ipiranga I</b>	29,52±0,14	6,96±0,11	3,84±0,14
<b>CCN51</b>	27,98±2,35	6,91±0,41	4,21±0,45
<b>PS1319</b>	28,53±1,20	7,65±0,29	4,63±0,13
<b>Pará-Parazinho</b>	28,47±0,98	6,43±0,42	3,42±0,05

Teste de Kruskal-Wallis para análise de variância, (p<0,05).

A cor em chocolates e produtos derivados é um dos parâmetros indicadores de qualidade, influenciando diretamente na aceitação, já que está intimamente relacionado com as proporções de cacau e a manteiga de cacau que foram utilizados no processamento (OLIVEIRA et al., 2003; OLIVEIRA & BENASSI, 2010).

Os valores dos parâmetros luminosidade L\* e cromaticidade a\* e b\*, descrevem a uniformidade da cor no espaço tridimensional. O parâmetro L\* representa a luminosidade e se refere à capacidade que a amostra possui em refletir ou transmitir luz, quanto menor o valor de L\*, mais escura a amostra (AFOAKWA et al., 2008).

Não foi possível observar diferenças significativas ao nível de confiança de 95% entre as amostras para os parâmetros de cor avaliados (L\*, a\* e b\*). Com relação ao parâmetro L\*, todas as amostras foram consideradas escuras, apresentando valores abaixo de 50 na escala de 0 a 100. As amostras SR162 e TSH1188 possuem valores de L\* entre 26,15 e 26,38, podendo ser consideradas as mais escuras. Quanto às coordenadas de cromaticidade (a\* e b\*), foi possível observar que todas as amostras situaram-se entre as regiões do vermelho e do amarelo, em que a leitura do colorímetro demonstrou valores positivos para estas coordenadas. Leite et al. (2013) descreve que a combinação dos cromos positivos a\* e b\* resulta na coloração marrom, cor característica do chocolate.

De acordo com Padilha et al. (2010) a cor dos chocolates é influenciada tanto pelas proporções de matérias-primas, como pela porcentagem da massa de cacau. O que explica a similaridade entre as amostras, já que todas possuem a mesma formulação.



### 3.2 Identificação e quantificação dos ácidos graxos

A Tabela 4 apresenta o perfil de ácidos graxos saturados e insaturados das diferentes variedades de chocolates. Os percentuais de ácidos graxos quantificados neste estudo apresentaram diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre algumas variedades. Observou-se uma proporção maior de ácidos graxos saturados, que explicariam parcialmente o ponto de fusão das amostras analisadas.

Dentre os ácidos graxos majoritários encontrados, destacam-se o ácido palmítico (C16:0), que variou entre 23,91 a 30,72%; o ácido esteárico (C18:0), de 30,25 a 35,18%; e o ácido oléico (18:1n9), com concentrações entre 32,24 a 35,40%. Os percentuais obtidos para os ácidos graxos majoritários são similares aos encontrados por Leite et al. (2013) que avaliou o perfil de ácidos graxos em chocolates oriundos de diferentes variedades de cacau, estes variaram entre 25,23 a 25,76% ácido palmítico, 33,83 a 34,03% para o ácido esteárico e 34,44 a 35,83% para o ácido oléico. E corroboram também com os resultados determinados por Menezes et al. (2016) para diferentes variedades de cacau, que variaram de 25,49% a 25,73% para o ácido palmítico, de 33,69% a 34,34% para o ácido esteárico e de 35,06% a 35,33% para o ácido oléico. Segundo Cohen e Jackix (2004) o ácido oléico é o principal ácido graxo do chocolate. A alta concentração desse ácido confere maciez à gordura.

As quantidades de ácidos graxos poliinsaturados foram de 2,78% a 3,56%, com destaque para o ácido linoléico (18:2n6).

As amostras que apresentaram menor concentração de ácidos graxos foram CEPEC2002 e PS1319. Tais amostras possuem um quantitativo total de ácidos graxos saturados de 414,29 mg e 381,06 mg, respectivamente. Com relação a concentração de ácidos graxos insaturados, as amostras apresentaram valores médios de 362,89 mg (BN34) e 230,03 (PS1319), que também apresentou menor concentração de ácidos graxos insaturados.

As médias percentuais para a somatória dos ácidos graxos saturados variou entre 61,21 e 63,7% e ácidos graxos insaturados de 36,21 e 39,43 %. Esses valores são similares aos determinados por Padilla, Liendo e Quintana (1998) ao estudarem a composição de ácidos graxos de híbridos de cacau, que verificaram resultados médios de ácidos graxos saturados de 61,65% e insaturados 38,32%, sendo esses valores similares aos percentuais de ácidos graxos apresentados nesse estudo.

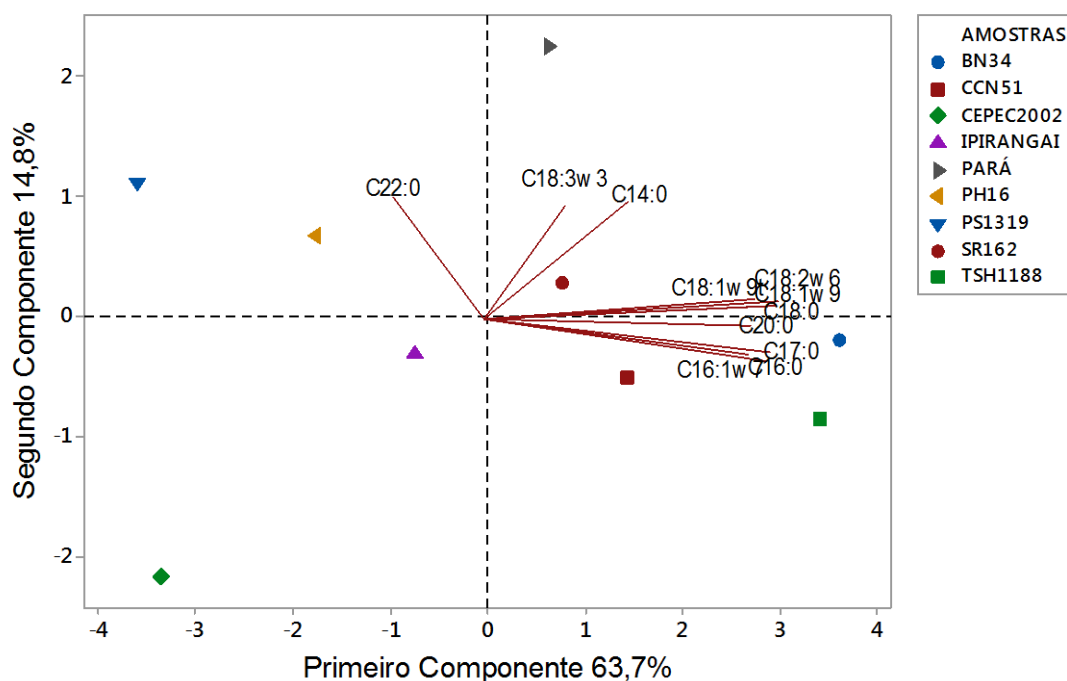
**Tabela 4** – Perfil de ácidos graxos em chocolates monovarietais contendo 70% de sólidos de cacau em mg de ácidos graxos/g de lipídios

<b>AG</b>	<b>SR162</b>	<b>BN34</b>	<b>PH16</b>	<b>CEPEC2002</b>	<b>TSH1188</b>	<b>Ipiranga I</b>	<b>CCN51</b>	<b>PS1319</b>	<b>Pára</b>
<b>C14:0</b>	0,73±0,40 <sup>a</sup>	0,60±0,03 <sup>b</sup>	0,56±0,13 <sup>b</sup>	ND	0,80±0,04 <sup>a</sup>	0,84±0,25 <sup>a</sup>	0,71±0,02 <sup>a</sup>	0,73±0,10 <sup>a</sup>	0,90±0,07 <sup>a</sup>
<b>C16:0</b>	221,25±5,43 <sup>ab</sup>	277,49±14,32 <sup>a</sup>	206,05±3,90 <sup>ab</sup>	191,98±21,37 <sup>b</sup>	274,39±2,45 <sup>a</sup>	217,65±12,62 <sup>ab</sup>	233,69±34,02 <sup>ab</sup>	187,82±34,56 <sup>b</sup>	203,78±5,34 <sup>ab</sup>
<b>C16:1n7</b>	1,83±0,14 <sup>a</sup>	2,24±0,43 <sup>a</sup>	1,63±0,08 <sup>a</sup>	1,42±0,41 <sup>a</sup>	2,43±0,08 <sup>a</sup>	1,54±0,13 <sup>a</sup>	2,06±0,21 <sup>a</sup>	1,37±0,26 <sup>a</sup>	1,64±0,66 <sup>a</sup>
<b>C17:0</b>	2,13±0,10 <sup>a</sup>	1,96±0,48 <sup>ab</sup>	1,38±0,09 <sup>ab</sup>	1,27±0,35 <sup>ab</sup>	2,11±0,49 <sup>ab</sup>	1,46±0,02 <sup>ab</sup>	2,23±0,33 <sup>a</sup>	0,98±0,06 <sup>b</sup>	1,51±0,15 <sup>ab</sup>
<b>C18:0</b>	289,45±8,65 <sup>ab</sup>	303,42±23,49 <sup>a</sup>	246,00±12,15 <sup>abc</sup>	218,16±20,94 <sup>bc</sup>	312,15±1,85 <sup>a</sup>	252,20±13,08 <sup>abc</sup>	280,57±36,38 <sup>ab</sup>	184,91±29,30 <sup>c</sup>	299,82±16,43 <sup>ab</sup>
<b>C18:1n9</b>	292,89±6,80 <sup>abc</sup>	327,30±19,50 <sup>a</sup>	248,85±13,91 <sup>abc</sup>	230,0±24,70 <sup>bc</sup>	321,59±0,46 <sup>a</sup>	275,30±14,50 <sup>abc</sup>	268,60±31,70 <sup>abc</sup>	207,40±42,60 <sup>c</sup>	304,30±16,60 <sup>ab</sup>
<b>C18:2n6</b>	26,10±0,48 <sup>abc</sup>	31,63±2,05 <sup>a</sup>	21,35±0,86 <sup>bc</sup>	19,72±1,69 <sup>c</sup>	28,65±0,42 <sup>ab</sup>	26,70±1,39 <sup>abc</sup>	26,96±3,32 <sup>abc</sup>	19,91±3,39 <sup>c</sup>	27,97±1,80 <sup>ab</sup>
<b>C18:3n3</b>	ND	1,70±0,23 <sup>ab</sup>	1,06±0,25 <sup>b</sup>	ND	ND	ND	1,03±0,35 <sup>b</sup>	1,32±0,15 <sup>ab</sup>	2,18±0,03 <sup>a</sup>
<b>C20:0</b>	8,81±0,50 <sup>ab</sup>	9,84±0,25 <sup>a</sup>	8,70±0,40 <sup>ab</sup>	7,35±0,93 <sup>ab</sup>	9,78±0,08 <sup>a</sup>	7,00±0,89 <sup>ab</sup>	8,93±1,01 <sup>ab</sup>	5,77±1,63 <sup>b</sup>	8,89±0,16 <sup>ab</sup>
<b>C22:0</b>	1,55±0,56 <sup>a</sup>	ND	1,39±0,06 <sup>a</sup>	ND	ND	ND	ND	0,99±0,28 <sup>a</sup>	1,14±0,19 <sup>a</sup>
<b>S</b>	523,92±12,51 <sup>ab</sup>	593,31±38,58 <sup>a</sup>	464,07±7,74 <sup>ab</sup>	414,29±38,48 <sup>b</sup>	599,22±3,92 <sup>a</sup>	479,14±26,86 <sup>ab</sup>	526,11±71,76 <sup>ab</sup>	381,06±65,89 <sup>b</sup>	521,11±15,15 <sup>ab</sup>
<b>M</b>	294,73±6,65 <sup>abc</sup>	329,56±19,92 <sup>a</sup>	250,48±13,82 <sup>abc</sup>	231,46±25,12 <sup>bc</sup>	324,23±0,09 <sup>a</sup>	276,82±14,38 <sup>abc</sup>	270,68±31,86 <sup>abc</sup>	208,80±42,89 <sup>c</sup>	308,75±12,03 <sup>ab</sup>
<b>P</b>	26,11±0,49 <sup>abcd</sup>	33,33±1,82 <sup>a</sup>	22,41±0,61 <sup>bcd</sup>	18,53±1,68 <sup>d</sup>	29,36±1,43 <sup>ab</sup>	26,70±1,39 <sup>abcd</sup>	27,99±3,68 <sup>abc</sup>	21,23±3,54 <sup>cd</sup>	30,70±0,99 <sup>a</sup>
<b>Σ</b>	844,80±19,7 <sup>ab</sup>	956,20±60,3 <sup>a</sup>	737,00±22,2 <sup>ab</sup>	670,00±70,4 <sup>b</sup>	952,61±2,86 <sup>a</sup>	782,60±42,6 <sup>ab</sup>	824,80±107,3 <sup>ab</sup>	611,10±112,4 <sup>b</sup>	852,10±40,0 <sup>ab</sup>

\*Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha representam diferenças significativas entre si pelo teste de Tukey (p<0,05). \*\* S= somatório de ácidos graxos saturados; M= somatório de ácidos graxos monoinsaturados; P= somatório de ácidos graxos poliinsaturados. \*\*\*ND= Não detectado.

A Figura 2 ilustra os resultados de scores dos primeiros componentes principais, PC1 e PC2, que explicaram respectivamente 63,7% e 14,8% e demonstraram a variância armazenada em cada componente principal expressa pelos autovalores da matriz padronizada. Verificou-se no presente estudo que os dois componentes principais foram usados em conjunto e explicaram 78,5% da variância total observada entre as amostras. As amostras similares ocupam regiões próximas no gráfico, enquanto as amostras com características distintas encontram mais distantes umas das outras.

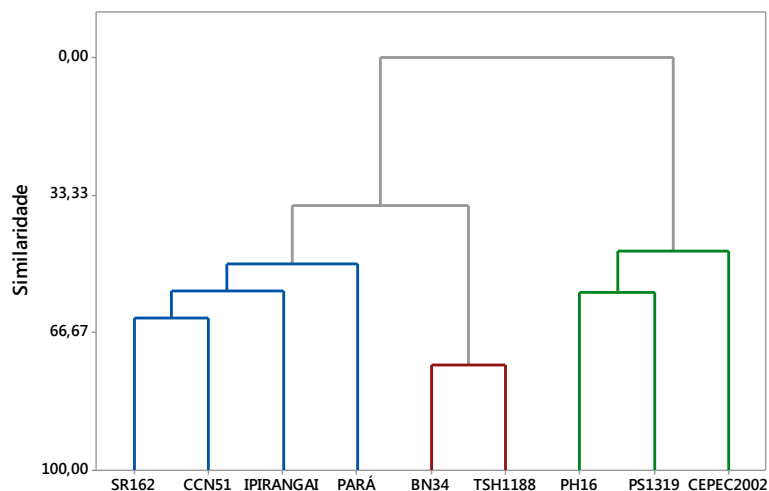
Cada amostra foi localizada próximo aos vetores que a caracterizaram e que descreveram com maior intensidade suas características, sendo possível observar a formação de três grupos em função da similaridade apresentada entre os dados, conforme apresenta a Figura 2. A análise de componentes principais permitiu discriminar as diferentes variedades de chocolate em função do perfil de ácidos graxos.



**Figura 2** – Score e carga fatorial da Análise de Componentes Principais da composição de ácidos graxos em chocolates monovarietais

Na Figura 3 é apresentado o dendrograma de similaridade obtido a partir da HCA para o agrupamento de diferentes amostras de chocolates monovarietais, obtido pela matriz de distância euclidiana média padronizada. De acordo com as características consideradas, quanto menor a distância entre dois locais, mais similares eles serão. Observou-se uma separação das variedades em três grupos principais,

podendo ser classificados de acordo com perfil de ácidos graxos de cada variedade de chocolate.

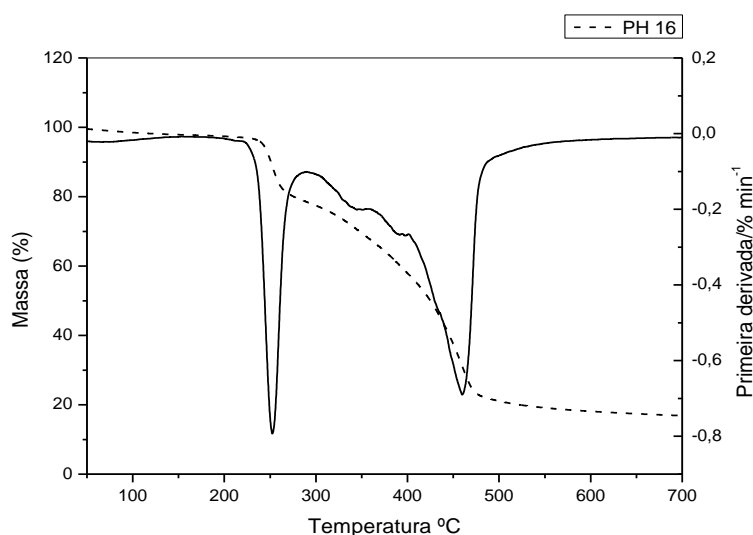


**Figura 3** – Análise de agrupamento hierárquico das amostras de chocolates quanto ao perfil de AG

As amostras SR162, CCN51, Ipiranga I e Pará-parazinho, são mais similares entre si. Já os chocolates das variedades PH16, PS1319 e CEPEC2002 foram às últimas a agruparem-se, provavelmente devido aos menores teores de ácidos graxos encontrados, quando comparados aos demais.

### 3.3 Análise térmica

Foi observado um comportamento termogravimétrico semelhante para todas as amostras conforme apresenta a Figura 4.



**Figura 4** – Curvas de TG e DTG para a amostra de chocolate PH16 contendo 70% de sólidos de cacau

As amostras de chocolates apresentaram 3 eventos de decomposição e variação de massa nas curvas de TG e 5 eventos nas curvas da DTG, exceto as amostras CCN51 e TSH1188 que apresentaram 6 eventos de decomposição na DTG.

O comportamento térmico dos alimentos depende fortemente da sua composição (RAEMY, 2003). As curvas termogravimétricas e resultados obtidos referentes à avaliação da variação de massa dos chocolates são representados na Tabela 5.

**Tabela 5** – Resultados das análises térmicas das amostras de chocolates monovarietais em atmosfera ar sintético até 700 °C

<b>Amostra</b>	<b>Etapa</b>	<b>T<sub>onset</sub> (°C)</b>	<b>T<sub>endset</sub> (°C)</b>	<b>Δ Massa (%)</b>	<b>T<sub>pico</sub> (°C)</b>
<b>SR162</b>	1	93,54	96,55	0,50	
	2	214,55	279,18	17,12	249,87
	3	279,18	369,62	12,62	
	4	369,62	397,82	7,34	
	5	397,82	509,96	41,12	457,13
<b>Pará-parazinho</b>	1	133,46	175,75	0,85	
	2	215,81	286,30	18,14	248,61
	3	286,30	349,66	8,27	
	4	349,66	387,35	7,86	460,07
	5	387,35	532,92	44,04	
<b>CCN51</b>	1	114,76	175,75	1,01	
	2	218,04	288,53	18,49	249,87
	3	315,61	357,90	6,93	
	4	357,90	394,33	8,16	
	5	426,01	435,50	4,46	
	6	435,50	498,87	24,55	460,07
<b>BN34</b>	1	115,87	155,79	0,53	
	2	213,44	283,92	17,56	249,87
	3	326,21	352,03	3,75	
	4	374,37	393,21	4,58	
	5	393,21	522,46	44,73	460,07
<b>TSH1188</b>	1	107,64	169,84	0,94	
	2	218,04	287,41	17,45	253,36
	3	287,41	313,23	2,91	
	4	360,27	375,48	4,83	
	5	375,48	417,77	15,23	
	6	417,77	575,22	36,27	445,97
<b>PH16</b>	1	82,93	132,34	0,74	
	2	220,42	281,55	17,70	252,24
	3	324,96	360,27	6,76	
	4	360,27	402,56	10,21	
	5	402,56	498,87	36,10	460,07
<b>IPIRANGA1</b>	1	112,38	158,17	0,72	
	2	216,93	288,53	19,34	246,24

	3	288,53	343,80	7,48	
	4	343,80	386,09	8,87	
	5	386,09	490,63	40,38	454,20
<b>PS1319</b>	1	110,01	152,30	0,87	
	2	218,04	288,53	19,05	246,24
	3	288,53	343,80	7,97	
	4	343,80	387,35	9,66	
	5	387,35	481,28	38,09	455,46
<b>CEPEC 2002</b>	1	100,66	137,09	0,55	
	2	209,81	285,04	18,10	246,24
	3	285,04	335,57	7,68	
	4	335,57	389,58	13,81	
	5	389,58	496,49	37,72	441,36

$T_{\text{onset}}$ = Temperatura inicial;  $T_{\text{endset}}$ = Temperatura final;  $T_{\text{pico}}$ = Temperatura de decomposição máxima

A primeira etapa avaliada em todas as amostras é caracterizada por um evento ocasionado pela desidratação das amostras que ocorreu em função das moléculas de água fracamente ligadas. A perda de massa nas amostras iniciou em uma temperatura média de 107,91 °C e terminando em torno de 150,39 °C. Foi observada uma perda de massa média de 0,74%, sendo esses resultados inferiores aos obtidos pelo método gravimétrico tradicional para a determinação de umidade (0,90 a 1,40%).

O segundo evento ocorreu em uma temperatura média de 216,12 °C, com perda de massa de 18,10%. A temperatura média do  $T_{\text{pico}}$  da primeira derivada foi observada na faixa de 249,17 °C. Ostrowska-Ligeza et al. (2018) ao avaliar a estabilidade térmica de chocolates escuros em diferentes estágios de processamento, correlacionou o segundo evento à decomposição de açúcar em todas as curvas da DTG.

O terceiro apresentou temperatura média de  $T_{\text{onset}}$  de 334,22 °C e temperatura média de  $T_{\text{endset}}$  de 347,32 °C, com uma perda de massa média de 9,50%. O quarto evento ocorreu em uma temperatura média de 364,28 °C e finalizou em 399,69 °C. O quinto evento foi caracterizado pela maior perda de massa 40,31 %, principalmente para as amostras Ipiranga I, BN34, SR162 e Pará-Parazinho, respectivamente. Já as amostras CCN51 e TSH1188 apresentaram maior perda de massa média no sexto evento de 30,41%.

Materazzi et al. (2014) ao avaliar o comportamento térmico de chocolates escuros, determinaram apenas três eventos de decomposição na faixa de temperatura de 20-210 °C; 210-340 °C e 340-750 °C, sendo esses resultados diferentes aos apresentados nesse estudo.

#### 4. CONCLUSÃO

Por se tratar de variedades clonais que ainda estão sendo estudadas, se faz necessário caracterizar as propriedades dos chocolates obtidos a partir de cada variedade de cacau, a fim de verificar a influência genética e ambiental na qualidade final do chocolate. Assim, foi possível diferenciar os chocolates monovarietais com base em suas propriedades físico-químicas. Foi encontrada diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre as amostras para todos os parâmetros físico-químicos que foram avaliados, exceto para  $a_w$  e os parâmetros colorimétricos. Essas diferenças podem ser atribuídas às condições de processamento, fatores ambientais e variedades genéticas do cacau que foi utilizado para a elaboração dos chocolates. Baixos índices de acidez titulável são esperados em chocolates de maior qualidade. Portanto, dentre as amostras analisadas, SR162, BN34 e Ipiranga I são preferíveis seguindo esse critério. No entanto, vale ressaltar que existem outras variáveis que são responsáveis pela qualidade final e propriedades organolépticas do produto acabado.

A partir da análise de componentes principais (PCA), foi possível discriminar as diferentes variedades de chocolate em função do perfil de ácidos graxos em três grupos principais. A formação dos grupos foi confirmada a partir da análise hierárquica de agrupamento (HCA). As amostras possuem perfil termogravimétrico semelhante.

#### 5. AGRADECIMENTOS

À FAPESB (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia) pelo apoio financeiro e concessão da bolsa de estudos.

#### 6. REFERÊNCIAS

AFOAKWA, E. O.; PATERSON, A.; FOWLER, M.; VIEIRA, J. Particle size distribution and compositional effects on textural properties and appearance of dark chocolates. **Journal of Food Engineering**, v. 87, p. 181-190, 2008.

APROTOSOAIÉ, A. C.; LUCA, S. V.; MIRON, A. Flavor chemistry of cocoa and cocoa products – An overview. **Food Science and Food Safety**, v. 15, p. 73-91, 2016.

BIEHL, B.; BRUNNER, E.; PASSERN, D.; QUESNEL, V.C.; ADOMAKO, D. Acidification, proteolysis and flavour potential in fermenting cocoa beans. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 36, p. 583-598, 1985.

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução de Diretoria Colegiada - RDC nº 264, de 22 de setembro de 2005. Regulamento técnico para chocolate e produtos de cacau. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 23 set. 2005. Seção 1. Disponível em: <<http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=18823&word=>>>. Acesso em: 31 dez. 2017.

BRITO, E. S.; NARAIN, N. Effect of pH and distillate volume on monitoring aroma quality of bittersweet chocolate. **Food Quality and Preference**, v. 14, p. 219-226, 2003.

CARNEIRO, A. P. G.; FONTELES, T. V.; COSTA, M. G. M.; ROCHA, E. M. F. F.; RODRIGUES, M. C. P. Parâmetros de textura em barras de chocolate ao leite. **Alimentos e Nutrição**, v. 22, p.259-264, 2011.

COHEN, K. O.; JACKIX, M. N. H. Obtenção e caracterização física, química e físico-química de licor de cupuaçu e de cacau. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 7, p. 57-67, 2004.

DHONSI, D.; STAPLEY, A. G. F. The effect of shear rate, temperature, sugar and emulsifier on the tempering of cocoa butter. **Journal of Food Engineering**, v. 77, p. 936-942, 2006.

DIAS, R. C. E.; FARIA, A. F.; MERCADANTE, A. Z.; BRAGAGNOLO, N.; BENASSI, M. T. Comparison of extraction methods for kahweol and cafestol in roasted coffee. **Journal Brazilian Chemistry**, v.24, p. 492–499, 2013.

DIMICK, P. S.; HOSKIN, J. M. Chemico-physical aspects of chocolate processing – A review. **Journal of Canadian Institute of Food Science and Technology**, v. 14, p. 269-282, 1981.

EFRAIM, P. et al. 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.

GENOVESE, M. I.; LANNES, S. C. S. Comparison of total phenolic content and antiradical capacity of powders and “chocolates” from cocoa and cupuassu. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, p. 810-814, 2009.

HOLM, C. S.; ASTON, J. W.; DOUGLAS, K. The effects of the organic acids in cocoa on the flavour of chocolate. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 61, p. 65-71, 1993.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. v. 1. Métodos químicos e físicos para análise de alimentos, 3. Ed. São Paulo: IMESP, 2008. p. 25-26.

JALIL, A. M. M.; ISMAIL, A. Polyphenols in cocoa and cocoa products: is there a link between antioxidant properties and health. **Molecules**, v. 13, n. 9, p. 2190-2219, 2008.

LEITE, P. B.; LANNES, S. C. S.; RODRIGUES, A. M.; SOARES, F. A. S. M.; SOARES, S. E.; BISPO, E. S. Estudo reológico de chocolates elaborados com diferentes cultivares de cacau (*Theobromacacao L.*). **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 16, p. 192-197, 2013.



LIENDO, R.; PADILLA, F. C.; QUINTANA, A. Characterization of cocoa butter extracted from Criollo cultivars of *Theobroma cacao* L. **Food Research International**, v. 30, p. 727-731, 1998.

LOHMAN, H. M.; HARTEL, R. W. Effect of milk fat fractions on fat bloom in dark chocolate. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v. 71, p. 267-276, 1994.

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

MANDARINO, E. P.; GOMES, A. R. S. **Produtividade do cacauzeiro (*Theobroma cacao* L.) cultivado em blocos monoclonais, no Sul da Bahia, Brasil**. Ilhéus, CEPLAC/CEPEC, nº 197, 32p. 2009.

MATERAZZI, S.; ANGELIS CURTIS, S.; VECCHIO CIPRIOTI, S.; RISOLUTI, R.; FINAMORE, J. Thermogravimetric characterization of dark chocolate. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 116, p. 93-98, 2014.

MELO, G. R.; CHITARRA, A. B. Características qualitativas de importância na gordura da amêndoa em nove híbridos de cacauzeiro (*Theobromacacao* L.). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 23, p.161-169, 1999.

MENEZES, A. G. T.; BATISTA, N. N.; RAMOS, C. L.; SILVA, A. R. A. E.; EFRAIM, P.; PINHEIRO, A. C. M.; SCHWAN, R. F. Investigation of chocolate produced from four different Brazilian varieties of cocoa (*Theobroma cacao* L.) inoculated with *Saccharomyces cerevisiae*. **Food Research International**, v. 81, p. 83-90, 2016.

MOREIRA, M. La calidad del cacao. **Revista de Investigaciones Agropecuarias**, v. 4, p. 24-26, 1994.

OLIVEIRA, A. P. V.; BENASSI, M. T. Avaliação sensorial de pudins de chocolates com açúcar e dietéticos por perfil livre. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 34, p. 146-154, 2010.

OLIVEIRA, A. P. V.; FRASSON, K.; YAMASHITA, F; BENASSI, M. T. Medida instrumental de cor em sobremesas lácteas de chocolate: uma técnica de baixo custo e versátil utilizando câmara digital. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 6, p. 191-196, 2003.

OSTROWSKA-LIGEZA, E.; GÓRSKA, A.; WIRKOWSKA-WOJDYLA, M.; BRYNS, J.; DOLATOWSKA-ZEBROWSKA, K.; SHAMILOWA, M.; RATUSZ, K. Thermogravimetric characterization of dark and milk chocolates at different processing stages. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, p. 1-9, 2018.

PADILLA, F. C.; LIENDO, R.; QUINTANA, A. Characterization of cocoa butter extracted from hybrid cultivars of *Theobroma cacao* L. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v. 50, p. 200-205, 2000.

PADILHA, V. M.; ROLIM, P. M.; SALGADO, S. M.; LIVERA, A. S.; ANDRADE, S. A. C.; GUERRA, N. B. Perfil sensorial de bolos de chocolate formulados com farinha de yacon (*Smallanthus sonchifolius*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, p. 735-740, 2010.

QUAST, L. B.; LUCCAS, V.; ROTH, T. C. W.; KIECKBUSCH, T. G. Influência da incorporação de gordura de cupuaçu na temperagem da manteiga de cacau. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 10, n. 2, p. 130-136, 2007.

QUAST, L. B.; LUCCAS, V.; DEMIATE, I. M.; SANTOS, R. D.; QUAST, E.; KIECKBUSCH, T. G. Avaliação de propriedades térmicas de manteiga de cacau e gorduras alternativas. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 5, p. 387-397, 2011.

RAEMY, R. Behavior of foods studied by thermal analysis. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 71, p. 273-278, 2003.

SHEPHERD, R. Large scale processing of cocoa beans temperature and acidity trends. **Planter**, v.52, p. 311-322, 1976.

SOUZA, C. O.; LEITE, M. E.; LASEKAN, J.; BAGGS, G.; PINHO, L. S.; DRUZIAN, J. I.; RIBEIRO, T. C. M.; MATTOS, A. P.; MENEZES-FILHO, J. A.; RIBEIRO, H. C. Milk protein-based formulas containing different oils affect fatty acids balance in term infants: A randomized blinded crossover clinical trial. **Lipids in Health and Disease**, v. 16, p.1-11, 2017.

STAPLEY, A. G. F.; TEWKESBURY, H.; FRYER, P. The effects of shear an temperature history on the crystallization of chocolate. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v. 76, p. 677-685, 1999.

SZCZESNIAK, A.S. Texture is a sensory property. **Food Quality and Preference**, v. 13, p. 215-225, 2002.

## **CAPÍTULO III**

---

### **Perfil de compostos voláteis em chocolates monovarietais por GC-MS utilizando a técnica de HS-SPME**

## Perfil de compostos voláteis em chocolates monovarietais por GC-MS utilizando a técnica de HS-SPME

### RESUMO

O chocolate varietal é produzido com amêndoas de cacau oriundas de regiões geográficas e populações (cultivares) específicas, sendo as suas características sensoriais relacionadas com a variedade de cacau utilizada no processamento. A etapa de fermentação do cacau é muito importante para a formação das frações voláteis significativas como álcool e éster, mas também para o desenvolvimento de precursores de sabor do chocolate. Este estudo teve como objetivo identificar o perfil de compostos voláteis em chocolates monovarietais produzidos a partir de diferentes cultivares de cacau (*Theobroma cacao L.*) utilizando a técnica de HS-SPME acoplado a um GC-MS. Foram avaliadas nove amostras de chocolates monovarietais, quanto ao perfil de compostos voláteis. Após a extração dos compostos, as frações voláteis foram analisadas por cromatografia gasosa e espectrometria de massa e as substâncias foram identificadas de forma tentativa. Os resultados obtidos foram submetidos a testes de estatística multivariada. Foram tentativamente identificados setenta e sete compostos voláteis, caracterizados por nove classes químicas como ácidos carboxílicos, álcoois, aldeídos, cetonas, ésteres, hidrocarbonetos, pirazinas e terpenos. A análise de componentes principais (PCA) explicou 65,70% da variância total observada. As amostras PH16, SR1162, TSH1188 e Pará-parazinho foram caracterizadas pelos ésteres; CEPEC2002 por aldeídos, amidas e álcoois; PS1319 por influência dos hidrocarbonetos, cetonas, terpenos e pirazinas negativamente. As pirazinas foram a terceira classe de voláteis majoritárias encontradas. Dentre as pirazinas tentativamente identificadas nesse trabalho, a 2,3-dimetilpirazina; trimetilpirazina; 2-acetil-3,5-dimetilpirazina e tetrametilpirazina foram encontradas em todas as amostras avaliadas. A PCA e a análise hierárquica de agrupamento (HCA) permitiu determinar as diferenças e similaridades dos chocolates em função do perfil de compostos voláteis. Nesse estudo foi possível observar que a qualidade do chocolate varia em função da origem genética de cacau que foi utilizado em seu processamento.

**Palavras-chaves:** Análise multivariada, sabor, pirazinas, odorantes chaves.

## Profile of volatile components in monovarietal chocolates by GC-MS using an HS-SPME technique

### ABSTRACT

Varietal chocolate is produced with cocoa beans from geographical regions and specific populations (cultivars), with sensory characteristics related to the variety of cocoa used in the processing. The fermentation step of cocoa is very important for the formation of significant volatile fractions such as alcohol and ester, but also for the development of chocolate flavor precursors. This study aimed to identify the profile of volatile compounds in monovarietal chocolates produced from different varieties of cocoa (*Theobroma cacao* L.) using the HS-SPME technique coupled to a GC-MS. Nine samples of monovarietal chocolates were evaluated for the profile of volatile compounds. After extraction of the compounds, the volatile fractions were analyzed by gas chromatography and mass spectrometry and the substances were tentatively identified. The results were submitted to multivariate statistical tests. Seventy-seven volatile compounds, characterized by nine chemical classes such as carboxylic acids, alcohols, aldehydes, ketones, esters, hydrocarbons, pyrazines and terpenes have been tentatively identified. Principal component analysis (PCA) explained 65.70% of the total variance observed. Samples PH16, SR1162, TSH1188 and Para-parazinho were characterized by the esters; CEPEC2002 by aldehydes, amides and alcohols; PS1319 by the influence of hydrocarbons, ketones, terpenes and pyrazines negatively. The pyrazines were the third largest class of volatiles found. Among the pyrazines tentatively identified in this work, 2,3-dimethylpyrazine; trimethylpyrazine; 2-acetyl-3,5-dimethylpyrazine and tetramethylpyrazine were found in all samples evaluated. PCA and hierarchical grouping analysis (HCA) allowed to determine the differences and similarities of the chocolates in function of the profile of volatile compounds. In this study it was possible to observe that the quality of the chocolate varies according to the genetic origin of cocoa that was used in its processing.

**Keywords:** Multivariate analysis, flavor, pyrazines, key odorants.

## 1. INTRODUÇÃO

O cacau (*Theobroma cacao L.*) é uma cultura comercial de grande importância devido ao valor de suas amêndoas e por ser a matéria-prima chave para a fabricação de chocolate (KRÄHMER et al., 2015; HO, ZHAO & FLEET, 2015). O fruto varia de tamanho, forma, cor externa e aparência dependendo da variedade. Essas características costumam ser utilizados na classificação do cacau. Com a ocorrência da vassoura de bruxa (*Moniliophthora perniciosa*) nas plantações de cacau da Bahia, houve um grande declínio na produção, surgindo então a necessidade de cultivar variedades resistentes à doença e com maior produtividade (KONGOR et al., 2016).

O chocolate varietal é produzido com amêndoas de cacau oriundas de regiões geográficas e populações (cultivares) específicas (LUNA et al., 2002). O sabor e aroma de chocolate são únicos e exclusivos, obtido apenas de amêndoas fermentadas, secas e torradas, não podendo ser sintetizado artificialmente. A variedade do fruto determina a composição química, especificamente o conteúdo de proteínas, carboidratos e polifenóis, que irá indicar as quantidades e os tipos de precursores formados durante os processos de fermentação e secagem que levam a formação de sabor, influenciando tanto o tipo, como a intensidade (KONGOR et al., 2016).

As etapas mais importantes e responsáveis pela formação dos aromas característicos do cacau são a fermentação, secagem e torração onde os precursores desenvolvidos durante a fermentação interagem para produzir o sabor característico de chocolate, entre eles estão os aldeídos e pirazinas, produzidos a partir de aminoácidos e açúcares através da reação de Maillard e degradação de Strecker (RAMLI et al., 2006; SACCHETTI et al. 2015).

Já foram identificados mais de 110 compostos voláteis do cacau, como aldeídos, cetonas, ésteres, álcoois, pirazinas e pirinas. Entre os compostos identificados, só uma parte foi quantificada, devido a grande complexidade e à dificuldade em analisar todos os compostos existentes através de uma só metodologia analítica (ALMEIDA, 2003; AMSTALDEN et al.; 2001).

Atualmente a técnica mais empregada para análise de voláteis por *headspace* são os métodos modernos, como a microextração em fase sólida (SPME) que pode ser aplicada com sucesso para a caracterização do aroma, por que possui alta sensibilidade, bem como possibilidade de automação e redução do consumo de solventes orgânicos (JELEN et al.; 2012; KAWAGUCHI; NAKAZAWA; TAKATSU, 2013).

O isolamento ou extração dos compostos voláteis utilizando a técnica de HS-SPME, seguido da análise em sistema de cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS) tem sido empregado para caracterizar adequadamente os compostos voláteis presentes em diversos alimentos sem interferência dos componentes da matriz (AUGUSTO et al.; 2000; PINO & QUERIS, 2010).

A indústria cacaeira busca a melhoria da qualidade do chocolate produzido através da análise dos compostos voláteis, que conferem sabor e aroma ao chocolate e afetam a aceitação do produto final. Estes compostos que constituem o sabor característico são influenciados por vários fatores como a variedade do fruto, manejo agrônômico, fatores do solo, condições climáticas e a tecnologia pós-colheita. Desta forma é necessária a avaliação dos compostos químicos que são responsáveis pelas características sensoriais do chocolate e permitem determinar a qualidade em relação à variedade e ao meio ambiente (KONGOR et al., 2016; BRUNETTO et al., 2007).

O estudo dos compostos voláteis do chocolate é uma área bem estabelecida, com aplicações no processo de torra e na diferenciação entre espécies botânicas e origem geográfica. Este estudo teve como objetivo identificar o perfil de compostos voláteis em chocolates monovarietais produzidos a partir de diferentes cultivares de cacau (*Theobroma cacao L.*) utilizando a técnica de HS-SPME acoplado a um GC-MS.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Material**

Para o estudo, foram avaliadas nove amostras de chocolates monovarietais contendo 70% de sólidos de cacau, produzidos a partir de diferentes cultivares de cacau, denominadas PH16, SR162, TSH1188, Cepec 2002, CCN51, Pára-parazinho (Pára), Ipiranga I (Ipi.I), BN34 e PS1319. Essas cultivares de cacau foram utilizados para a elaboração dos chocolates por possuírem características próprias das regiões cacaeiras onde foram cultivadas.

O chocolate foi produzido na em uma fábrica de chocolates localizada em Ilhéus, Região Sul da Bahia. A formulação do chocolate 70%, provenientes das variedades de cacau em estudo, foi realizada utilizando: massa de cacau (66%), açúcar

(29,60%), manteiga de cacau (4,0%) e lecitina (0,4%). As análises foram realizadas em triplicata e os resultados expressos pela média da triplicata e seu desvio padrão.

## 2.2 Isolamento dos compostos voláteis

Foi utilizada uma fibra de 50/30  $\mu\text{m}$  revestida com fase tripla PDMS/CAR/DVB (Supelco, Bellefonte, PA, EUA Ref. 57328-U/ Lot. P343350) devidamente condicionada antes do uso, segundo as recomendações do fabricante de acordo com Ducki et al. (2008). Os voláteis foram extraídos sob as seguintes condições: 2 g da amostra foram acondicionada em tubo vial para *headspace* (40 mL) e selados imediatamente com septos de silicone para que a composição dos compostos permanecesse inalterada. Os tubos foram mantidos em banho-maria a temperatura constante de 60 °C. Tempo de equilíbrio de 20 minutos, a fibra foi exposta ao *headspace* durante 40 minutos. Após a amostragem, foi feita a dessorção da fibra no modo *splitless* durante 5 minutos, a temperatura de injeção de 250 °C (revestimento SPME com um diâmetro interno de 0.75 mm).

## 2.3 Condições cromatográficas GC-MS

As análises foram conduzidas em um sistema Agilent Technologies 7820A acoplado com um detector de massas (GC-MS). Foi utilizada uma coluna capilar DB-Wax (30 m x 0,25 mm x 0,25  $\mu\text{m}$ ). O forno foi condicionado a uma temperatura inicial de 50 °C por 1 min., aumentando 3 °C  $\text{min}^{-1}$ , até atingir até 240 °C, permanecendo por 5 minutos. O gás de arraste foi o hélio a 1 mL  $\text{min}^{-1}$ . O detector de massas operou com energia de ionização 70 e-V, temperatura de interface de 230 °C, temperatura do quadripolo de 150 °C e temperatura de fonte dos íons 230 °C.

## 2.4 Determinação do índice de retenção linear - IRL

Foi injetada (1  $\mu\text{L}$ ) de uma solução de hidrocarbonetos alifáticos ( $\text{C}_{11}$ - $\text{C}_{26}$ ) no GC-MS sob as mesmas condições descritas no item (2.3) e utilizada para calcular o índice de retenção linear (IRL) de cada composto presente na amostra. O IRL de cada componente foi calculado conforme a Equação 1 descrita por Zellner et al., (2008).

$$IRL = 100_n + 100 \left\{ \frac{t_{R(x)} - t_{R(cn)}}{t_{R(cn+1)} - t_{R(cn)}} \right\} \quad (\text{Eq.1})$$

Em que:

IRL = índice de retenção linear;



$n$  = número de carbonos;

$t_{R (cn)}$  = Tempo de retenção do  $n$ -alcano que antecede o analito;

$t_{R (x)}$  = Tempo de retenção do analito;

$t_{R (cn+1)}$  = Tempo de retenção do  $n$ -alcano que sucede o analito.

## 2.5 Identificação dos compostos

Os compostos voláteis foram identificados de forma tentativa utilizando o programa Data Analysis, onde foi realizada a comparação dos espectros de massa da substância com os espectros da base de dados referência do National Institute of Standards and Technology (NIST), com nível de similaridade (NS) maior que 750 e com o seu IRL calculado para cada composto, auxiliada pela comparação dos IRL dos compostos nas colunas DB-Wax com aqueles descritos na literatura para colunas de mesma polaridade e variação máxima de  $\pm 10$ .

## 2.6 Condições cromatográficas GC-FID

Para a obtenção das áreas dos picos dos compostos voláteis, sem a necessidade de cálculos dos fatores de correções para as respostas do detector de massas, as amostras foram injetadas também em um sistema Agilent Technologies 6890N acoplado com um detector de ionização de chama (GC-FID). Foi utilizada uma coluna capilar DB-Wax (30 m x 0,25 mm x 0,25  $\mu$ m). Com temperatura inicial de 50 °C por 1 min., aumentando 3 °C  $\text{min}^{-1}$ , até atingir até 240 °C por 5 min. A temperatura de injeção foi 250 °C, modo *splitless*. O gás hidrogênio foi utilizado como gás de arraste a 1,0 mL  $\text{min}^{-1}$ . Para os gases de chama, utilizou-se 30 mL  $\text{min}^{-1}$  para o hidrogênio e a 300 mL  $\text{min}^{-1}$  para o ar sintético. As injeções foram realizadas em triplicatas. Os compostos foram semi-quantificados por meio do cálculo da relativa (%).

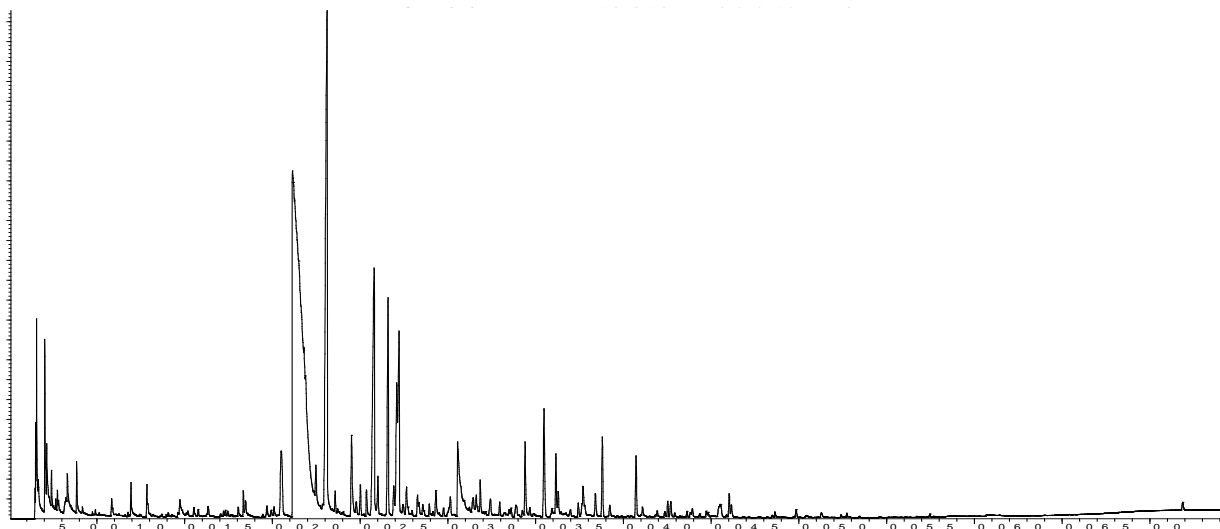
## 2.7 Análise multivariada dos compostos voláteis

A discriminação entre as amostras foi realizada pela análise de componentes principais (PCA) e análise hierárquica de agrupamento (HCA) das áreas cromatográficas absolutas dos compostos individuais identificados, obtidas por HS-SPME-GC-MS. As análises estatísticas foram realizadas utilizando o programa estatístico *Minitab v. 17*.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Perfil de compostos voláteis em chocolates monovarietais

A Figura 1 exibe o perfil cromatográfico dos compostos voláteis presentes em uma das amostras.



**Figura 1** – Perfil cromatográfico do HS-SPME do chocolate monovarietal PH16 por GC-MS em coluna DB-WAX.

Com a técnica de HS-SPME foram obtidos cromatogramas com 268 picos, em média, e selecionados aqueles com boa resolução cromatográfica e que apresentaram espectros de massas passíveis de análise. Conforme Arruda et al., (2011) as informações excedentes foram considerados ruídos analíticos, sendo associados a compostos presentes em baixas concentrações, cuja inclusão pode acarretar em erros de interpretação.

A identificação tentativa dos compostos foi realizada comparando seus espectros de massa com a Biblioteca NIST (NS mínima de 75%), seguidos de seu índice de retenção linear (IRL). Os compostos tentativamente identificados (TI) são descritos na Tabela 1, seguidos de suas áreas relativas.

Um total de setenta e sete compostos foram TI nas diferentes amostras de chocolates monovarietais, agrupados em nove classes químicas principais, como álcoois (18), ésteres (16), pirazinas (12), cetonas (11), aldeídos (4), amidas (4), ácidos carboxílicos (4), hidrocarbonetos (4) e terpenos (4) com maior predominância de álcoois, ésteres, pirazinas e cetonas. Vinte e um compostos foram TI apenas pela biblioteca do espectro de massas, devido a impossibilidade de comparar o IRL calculado com o IRL citado pela literatura.

**Tabela 1** – Compostos voláteis tentativamente identificados no *headspace* das amostras de chocolates monovarietais por espectrometria de massas e pelo índice de retenção linear

Nº PICO	COMPOSTOS	Match NS	IRL-Lit	IRL-Cal	t <sub>r</sub>	SR16 2 AR%	TSH1188 AR%	CEPEC AR%	BN34 AR%	PH16 AR%	PS1319 AR%	PARÁ AR%	CCN51 AR%	IPLI AR%
<b>ÁCIDOS CARBOXÍLICOS</b>														
28	Ácido acético <sup>a</sup>	981	1425	1423	16,0	47,2	38,6	34,3	50,9	47,5	64,5	53,0	56,4	55,4
64	Ácido 2-metilpropanóico <sup>a</sup>	905	1571	1572	21,7	Nd	3,1	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	0,1	0,2
67	Ácido 3-metilbutanóico <sup>a</sup>	917	1680	1673	25,5	4,1	0,1	0,6	0,3	0,2	0,8	2,8	1,9	2,1
<b>ALCÓOIS</b>														
31	2-Heptanol <sup>a</sup>	936	1321	1326	12,3	Nd	0,2	Nd	Nd	Nd	0,3	Nd	0,2	0,6
65	1-Hexanol, 2-etil- <sup>a</sup>	887	1499	1494	18,8	Nd	Nd	Nd	0,5	Nd	0,2	0,3	Nd	Nd
50	2-Nonanol <sup>a</sup>	869	1530	1526	20,1	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	0,8	Nd	0,5	0,5
43	2,3-Butanodiol,[S-(R*,R*)] <sup>a</sup>	943	1581	1583	20,83	0,3	0,3	1,8	2,2	2,2	0,5	1,8	0,2	1,1
52	1,2-Propanodiol <sup>a</sup>	909	1600	1594	22,6	0,5	Nd	3,4	2,1	0,2	Nd	Nd	Nd	Nd
69	2-Furametanol <sup>a</sup>	864	1661	1661	25,1	0,4	Nd	0,3	0,2	0,4	1,0	3,8	0,9	0,6
108	Linalool 3,7-oxide, trans- <sup>b</sup>	901	ne	1764	28,9	Nd	0,3	Nd	0,2	Nd	Nd	0,4	Nd	Nd
118	2-Metoxifenol <sup>a</sup>	850	1859	1852	32,0	0,4	0,2	0,2	0,1	0,5	Nd	Nd	Nd	Nd
125	2-Feniletanol <sup>a</sup>	936	1903	1905	33,8	0,2	1,1	0,6	0,3	0,2	0,1	1,2	3,1	0,3
145	Etanol,2-fenoxi- <sup>a</sup>	911	2130	2132	41,1	0,2	Nd	0,2	0,2	0,1	0,1	0,2	0,1	0,2
<b>ALDEÍDOS</b>														
90	Benzenoacetaldeído <sup>b</sup>	893	ne	1918	34,2	0,2	0,1	0,1	0,1	0,3	0,8	0,5	0,1	0,1
93	1H-pirrole-2-carboxaldeído <sup>a</sup>	856	2014	2013	37,3	0,2	1,2	0,3	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd
98	5-Metil-2-fenil-2-hexenal <sup>a</sup>	892	2060	2064	38,9	0,4	Nd	0,1	Nd	Nd	0,9	0,2	0,1	0,2
<b>AMIDAS</b>														
104	Acetamida <sup>a</sup>	850	1764	1763	28,8	0,2	Nd	7,4	0,2	3,3	0,3	0,2	0,7	0,2
95	2-Pirrolidinona <sup>a</sup>	947	2020	2024	37,7	0,1	0,2	1,1	0,2	0,3	0,4	0,2	0,4	0,1
100	Aminomaleimida <sup>b</sup>	862	ne	2130	41,0	0,1	0,4	0,7	0,3	0,2	Nd	Nd	Nd	Nd
<b>CETONAS</b>														

3	Acetoina <sup>a</sup>	861	1282	1283	10,8	0,1	0,1	0,1	Nd	0,2	1,0	0,3	0,2	0,1
33	2-Acetoxi-3-butanona <sup>a</sup>	853	1389	1383	14,5	0,4	0,1	0,1	Nd	Nd	0,2	0,3	0,1	0,1
37	2-Nonanona <sup>a</sup>	953	1387	1385	14,6	Nd	Nd	Nd	0,4	0,1	1,0	0,2	1,2	1,1
45	Acetofenona <sup>a</sup>	937	1639	1639	24,3	0,2	0,2	0,3	0,3	0,4	0,2	0,4	0,1	3,0
91	Etanona,1-(1H-pirrol-2-il) <sup>a</sup>	957	1971	1963	35,7	1,8	0,3	0,1	0,3	0,5	0,2	1,1	1,0	0,2
96	Furaneol <sup>a</sup>	862	2030	2030	37,9	0,2	Nd	Nd	Nd	Nd	0,2	0,9	0,2	1,0
103	Piranona <sup>b</sup>	903	ne	2257	44,8	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	0,2	0,3	0,2	0,3

### ÉSTERES

13	Acetato-3-metil-1-butanol <sup>a</sup>	894	1121	1120	5,84	0,1	2,4	Nd	0,4	0,1	Nd	0,1	0,1	2,3
27	Acetato, 2-heptanol <sup>a</sup>	890	1266	1266	10,2	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	0,3	Nd	0,4	0,5
42	2,3-Butanodiol, diacetato <sup>a</sup>	918	1532	1526	20,0	0,1	0,7	0,2	0,4	0,5	0,1	0,5	0,5	0,4
48	1,2-Propanodiol, 2-acetato <sup>a</sup>	894	1579	1576	21,9	0,2	1,2	2,4	Nd	7,9	Nd	Nd	Nd	Nd
71	Metil benzenoacetato <sup>a</sup>	896	1749	1753	28,4	0,1	0,1	0,4	0,2	0,4	Nd	Nd	0,2	0,2
70	Ácido benzenoacético, éster etílico <sup>a</sup>	859	1778	1779	29,4	0,2	Nd	Nd	0,2	Nd	0,2	0,2	0,3	0,3
83	Ácido benzoico, éster pent-2-ilo <sup>b</sup>	874	ne	1832	31,2	2,5	0,2	0,2	0,5	1,1	0,1	0,2	0,1	0,1
80	Ácido acético, éster 2-feniletílico <sup>a</sup>	936	1811	1808	30,5	0,2	0,2	0,2	0,2	0,1	0,5	1,7	8,3	2,1
88	Texanol <sup>b</sup>	912	ne	1865	32,4	Nd	Nd	Nd	0,2	0,1	Nd	Nd	1,9	1,0
94	DL-Pantolactona <sup>a</sup>	944	2029	2019	37,5	0,8	0,6	0,2	0,8	0,8	0,2	0,2	0,4	0,7

### HIDROCARBONETOS

21	Estireno <sup>a</sup>	845	1254	1252	9,73	Nd	Nd	Nd	0,2	0,4	0,1	Nd	0,1	0,2
18	1,2,4-Trimetilbenzeno <sup>a</sup>	866	1274	1276	10,5	0,2	Nd	Nd	0,1	0,1	Nd	2,3	0,5	0,3

### PIRAZINAS

17	Metilpirazina <sup>a</sup>	860	1265	1268	10,2	0,1	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd
22	2,5-Dimetilpirazina <sup>a</sup>	903	1328	1324	12,3	0,1	0,2	0,1	Nd	Nd	Nd	Nd	1,1	Nd
23	2,6-Dimetilpirazina <sup>a</sup>	870	1335	1330	12,5	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	Nd	Nd	0,1	Nd
25	2,3-Dimetilpirazina <sup>a</sup>	911	1353	1346	13,0	0,4	2,8	0,2	0,1	0,2	0,1	0,2	0,2	0,1
29	2-Etil-6-metilpirazina <sup>a</sup>	855	1395	1395	14,9	1,4	0,1	0,4	0,4	0,1	Nd	0,1	0,3	0,1
32	Trimetilpirazina <sup>a</sup>	902	1409	1411	15,6	7,1	1,2	3,0	1,7	1,8	1,1	2,4	1,1	1,5
35	2,3-dimetil-5-etilpirazina <sup>a</sup>	887	1452	1461	17,5	0,5	0,1	1,2	0,3	0,3	0,5	1,0	Nd	0,2

44	2-Etil-3,5-dimetilpirazina <sup>a</sup>	876	1464	1464	17,4	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	0,2	Nd
36	Tetrametilpirazina <sup>a</sup>	936	1483	1477	18,2	13,3	16,9	14,6	10,2	11,9	7,4	12,3	4,7	13,5
47	2-Metil-3-5-dimetilpirazina <sup>a</sup>	856	1497	1493	18,7	3,1	0,2	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	0,2	0,2
40	2,3,5-Trimetil-6-etilpirazin <sup>a</sup>	878	1519	1514	19,5	1,1	0,2	0,2	0,2	Nd	0,3	0,5	Nd	0,5
<b>TERPENOS</b>														
15	D-Limoneno <sup>a</sup>	935	1198	1196	7,89	0,1	0,2	0,1	0,2	0,3	0,1	0,3	0,3	0,3
46	Linalool <sup>a</sup>	874	1549	1552	21,0	0,1	0,6	Nd	0,6	0,3	3,9	0,3	1,6	0,1
19	$\beta$ -Mirceno <sup>a</sup>	858	1152	1158	6,87	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	0,1	Nd	0,4	0,4

\*Áreas relativa dos picos, obtidas por GC-FID, usando coluna DB-WAX. Resultados apresentados como médias das triplicatas.

<sup>a</sup>Compostos voláteis tentativamente identificados por espectrometria de massas e índice de retenção linear;

<sup>b</sup>Compostos voláteis tentativamente identificados por espectrometria de massas;

IRL-Lit= índice de retenção linear da literatura obtidos em colunas DB-WAX.

IRL-cal=índice de retenção linear calculado obtidos em coluna DB-WAX.

$\Delta$ = diferença entre os índices de retenção da literatura e calculado:  $IRL_{lit} - IRL_{cal}$ .

ne=  $IRL_{cal}$ . não comparado com  $IRL_{lit}$ .

- = não detectado.

AR(%)= área relativa percentual.

Comparando os compostos TI nesse estudo com as classificações de odor da literatura (Tabela 1 – Cap. I), é possível observar que o sabor das amostras de chocolates avaliadas, possuem diversos constituintes com odor frutado e floral. No grupo das pirazinas, de acordo com a literatura, a percepção sensorial está associada a chocolate doce, nozes e nozes torradas.

Entre os ácidos carboxílicos, o ácido propanóico foi detectado apenas na amostra CEPEC2002 e segundo Rodriguez-Campos et al. (2011) confere odor indesejável ao chocolate, relacionado à pungência e rancidez. O ácido acético e o ácido 3-metil-butanóico foram TI em todas as amostras analisadas. Conforme reportado por Sampaio et al. (2011) esses compostos conferem notas negativas de aroma, relacionadas a um odor repulsivo, de vinagre, fedida e amargo.

Com relação aos álcoois encontrados, o álcool benzílico foi TI nas amostras SR162, CEPEC2002, BN34, PS1319 e Pára-parazinho. Counet et al. (2002) ao avaliar o perfil de compostos voláteis por GC-O em chocolates escuros, associou esse composto a um sabor floral, balsâmico e de rosas. E até o momento de sua pesquisa, esse composto teria sido descrito apenas em chocolate ao leite. Outros álcoois também são responsáveis pela produção de odor com notas desejáveis, como o álcool feniletílico (floral); 2-nonanol (notas frutadas e laranja cítrica); 1-Hexanol, 2-etil (citrus, floral e doce) e 2,3-Butanodiol (frutado) esses compostos foram encontrados em algumas amostras e são apontados na literatura como sendo compostos desejáveis para produtos de cacau de alta qualidade (DUCKI et al., 2008; RODRIGUEZ-CAMPOS et al., 2011; KIM et al., 2001; ORUNA-CONCHA et al., 2002). O 2-Metoxifenol foi encontrado nas amostras SR162, TSH1188, CEPEC2002, BN34 e PH16. Segundo Rodriguez-Campos et al. (2011) esse composto confere odor repulsivo e indesejável.

Dos aldeídos encontrados, o benzenoacetaldeído foi TI em todas amostras avaliadas. Frauendorfer e Schieberle (2008) observaram que esse composto é formado a partir da ocorrência da degradação de Strecker e está associada ao sabor frutado. Aldeídos estão freqüentemente relacionados à degradação de lipídios e de acordo com sua concentração, introduzem notas agradáveis (florais e frutadas) ou desagradáveis à matriz (BRYANT & MCCLUNG, 2011).

Da classe das cetonas, a 2-Heptanona; 2-Nonanona; 4-hidroxi-2-butanona; Acetofenona e Etanona,1-(1H-pirrol-2-il) foram TI. Esses compostos têm sido associados a notas frutadas, doce, baunilha, caramelo, nozes, avelã e chocolate torrado (PINO et al.,

2005; COUNET et al., 2002). A acetoina foi encontrada em todas as amostras, exceto na BN34. Esse composto confere notas indesejáveis ao chocolate, relacionadas ao um odor de manteiga rançosa (RODRIGUEZ-CAMPOS et al., 2011). Menezes et al. (2016) ao avaliar o perfil de voláteis em chocolates monovarietais contendo 70% de sólidos de cacau, produzidos na região de Ilhéus, identificou a acetoina em todas as amostras, e verificou a produção dessa a partir dos precursores piruvato e butanodiol durante a fermentação alcoólica. A acetoina também é precursora da tetrametilpirazina um dos compostos de maior importância para o sabor do chocolate (RODRIGUEZ-CAMPOS et al., 2011). De acordo com Serra-Bonvehí (2005), altas concentrações de cetonas são favoráveis para a obtenção de cacau de qualidade, apresentando notas frutadas e florais. Esses compostos, também foram relatados por outros autores como sendo, os principais identificados em polpa e grãos de cacau fermentados (HO et al., 2014).

Os principais ésteres foram 1-butanol-3-metil-acetato (notas frutadas, doce e banana madura) encontrado em todas as amostras, exceto CEPEC2002 e PS1319; Metil benzoacetato (amêndoas torradas) também encontrado em todas as amostras, exceto PS1319 e Pára-parazinho; 1,2-Propanodiol,1-acetato (floral) encontrado apenas no SR162, TSH1188, CEPEC2002 e PH16; Ácido acético,2-feniletílico-éster (cereais torrados) TI em todas as amostras. Estes compostos são importantes constituintes do perfil volátil de muitas frutas (FUHRMANN & GROSCH, 2002; JATI & SARI, 2011). Os ésteres estão correlacionados com notas de sabor frutado formados através da síntese microbiana e de grande importância no sabor do chocolate, além de ser considerado como o segundo grupo mais importante de compostos voláteis após as pirazinas (JINAP et al., 1998). A produção de éster pode ser correlacionada com o metabolismo da levedura durante o processo de fermentação, que produz os principais aromas de cacau, com notas de sabor floral, frutado e mel (FRAUENDORFER & SCHIEBERLE, 2008).

Na classe dos hidrocarbonetos, foram TI 1,3-dimetilbenzeno; estireno; benzociclobuteno e 1,2,5-trimetilbenzeno. Esses compostos exibem notas florais, balsamo e doce (JATI & SARI, 2011).

Os compostos heterocíclicos nitrogenados também derivados da reação de Maillard, como as pirazinas, conferem os melhores atributos sensoriais e aroma característico ao chocolate e foram a terceira classe de voláteis majoritários encontradas. Dentre as pirazinas TI nesse trabalho, a 2,3-dimetilpirazina; trimetilpirazina; 2-acetil-3,5-dimetilpirazina e tetrametilpirazina foram encontradas em todas as amostras avaliadas. A

tetrametilpirazina é a pirazina mais abundante nas amostras estudadas. Ela é responsável por atribuir aroma doce e forte, e pode representar um índice útil para a avaliação da qualidade do produto e do processo (PEREGO et al., 2004). Menezes et al. (2016) identificaram cinco pirazinas em todas as amostras de chocolates monovarietais: 2,3,5-trimetilpirazina; 2,3,5,6-tetrametilpirazina; 2-metilpirazina exceto para (CEPEC2004); 2,3-dimetilpirazina e 2,5-dimetil-3-etilpirazina (apenas na variedade CEPEC2004). A tetrametilpirazina e a trimetilpirazina são as pirazinas mais importantes e exibem notas de cacau, frutadas e de nozes (RAMLI et al., 2006). Rodriguez-Campos et al. (2011) identificaram três pirazinas em amostras de cacau fermentadas e torradas (tetrametilpirazina, trimetilpirazina e 2,3-dimetilpirazina). Esses autores relataram que a tetrametilpirazina constitui cerca de 90% das pirazinas totais. No presente estudo a 2-etil-3,5-dimetilpirazina foi encontrada apenas na amostra CCN51, esse composto de acordo com Afoakwa (2012) exibe notas indesejáveis para o sabor, relacionadas com queimado e terra.

Também foram encontrados terpenos como D-limoneno com notas cítricas, laranja e doce;  $\beta$ -mirceno notas amadeiradas e de cenoura; trans- $\beta$ -ocimene notas florais e de erva doce e linalool com odor floral, cítrico, erva doce e madeirado (CHOI, 2003). O linalool tem grande impacto no aroma do chocolate e é encontrado em concentração maior em cacau do tipo fino, contribuindo com aroma floral (LIMA, 2012).

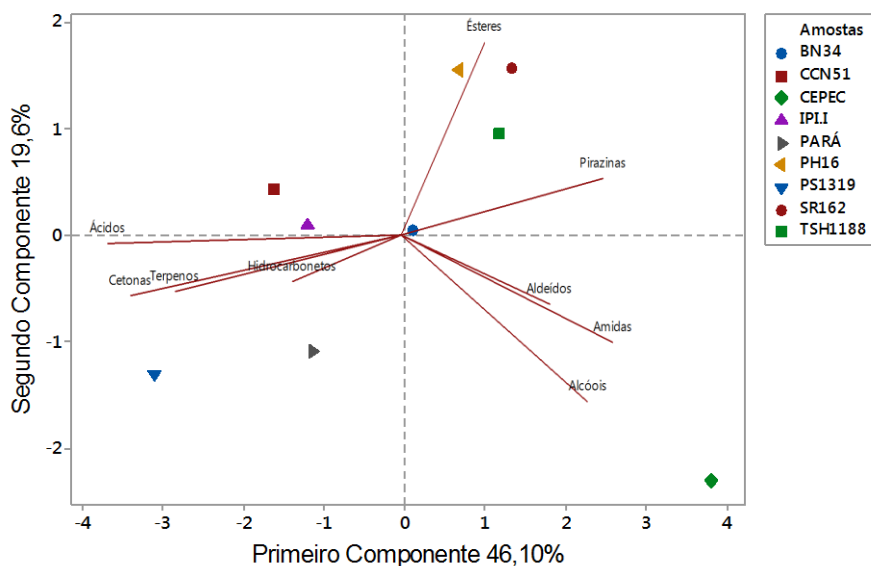
### **3.2 Análise multivariada**

A Figura 2 ilustra os resultados de escores dos primeiros componentes principais, PC1 e PC2, que explicaram respectivamente 46,10% e 19,60% e demonstraram a variância armazenada em cada componente principal expressa pelos autovalores da matriz padronizada. Verificou-se no presente estudo que os dois componentes principais em conjunto explicaram 65,70% da variância total observada entre as amostras. As amostras estão localizadas nas mesmas direções dos vetores que as caracterizam e que descreveram com maior intensidade suas características.

As amostras PH16, SR1162, TSH1188 e Pará-parazinho foram caracterizadas pelos ésteres; CEPEC2002 por aldeídos, amidas e álcoois; PS1319 por influência dos hidrocarbonetos, cetonas, terpenos e pirazinas.

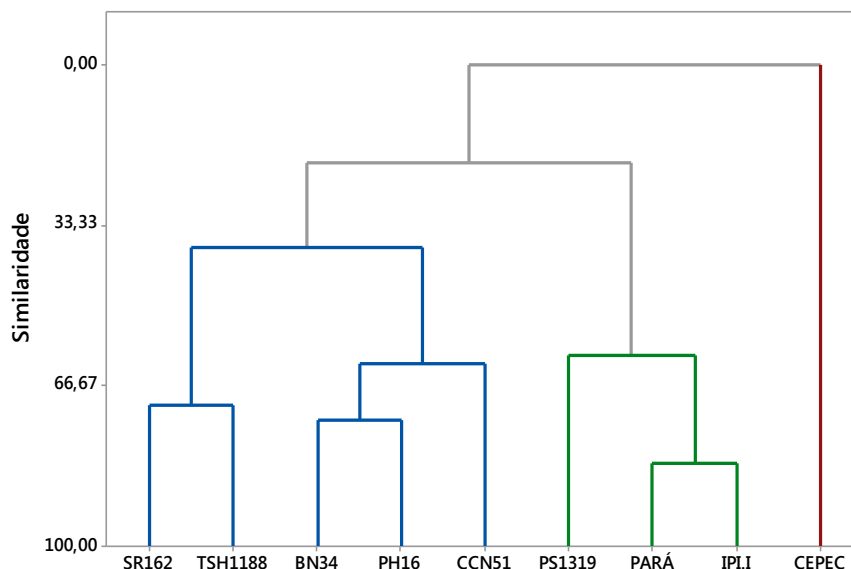


A Figura 2 apresenta os resultados da análise de componentes principais (PCA) nas amostras de chocolates monovarietais.



**Figura 2** – Score e carga fatorial da análise de componentes principais dos compostos voláteis em chocolates monovarietais

Na Figura 3 é apresentado o dendograma de similaridade obtido a partir da HCA para diferentes amostras de chocolates monovarietais, de acordo com as características consideradas, quanto menor a distância entre dois locais, mais similares eles serão. Dessa forma, verifica-se a formação de três grupos distintos.



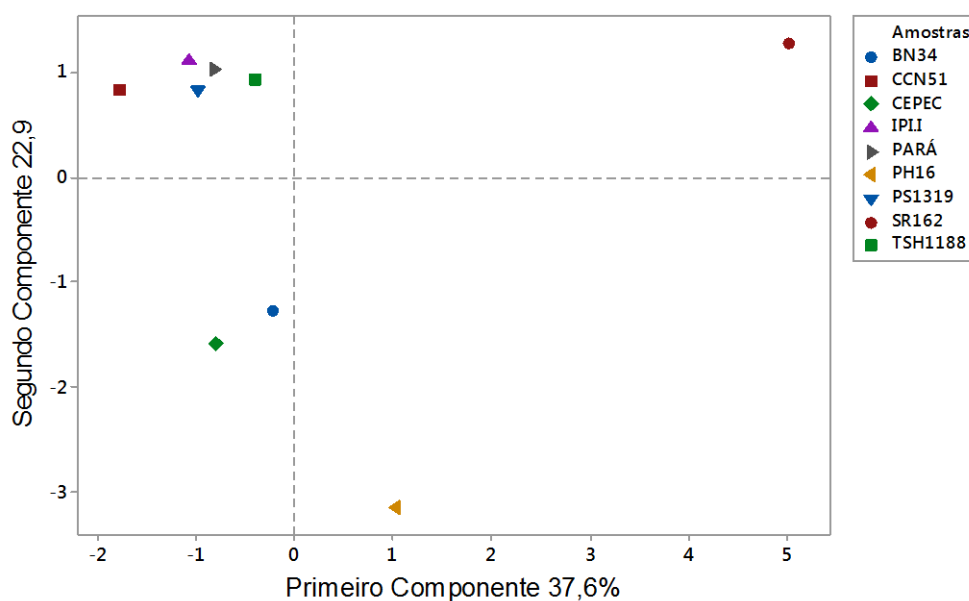
**Figura 3** – Análise de agrupamento hierárquico das amostras de chocolates monovarietais quanto ao perfil de compostos voláteis

As amostras SR162, BN34, PH16, TSH1188 e CCN51 são mais similares entre si. Assim como PS1319, Pará-parazinho e Ipiranga I. Já o chocolate da variedade

CEPEC2002 foi a última a se agrupar, quando comparada com as demais, provavelmente devido as diferenças quanto as variáveis que compõem a fração volátil da amostra. Virgens et al. (2018) ao avaliar os atributos sensoriais de chocolates monovarietais com 70% de sólidos de cacau, produzidos na região Sul da Bahia, encontrou similaridade entre as amostras SR162 e BN34; e PH16 e TSH1188. Já o chocolate da variedade CEPEC2002 apresentou características sensoriais intermediárias entre as outras amostras. No presente estudo, foi possível observar que as amostras SR162 e BN34 possuem baixa similaridade, quando agrupadas pelos constituintes de sua fração volátil.

A fim de verificar o impacto dos compostos voláteis para o sabor, foi também realizada a PCA e HCA nas amostras para cada uma das diferentes classes químicas.

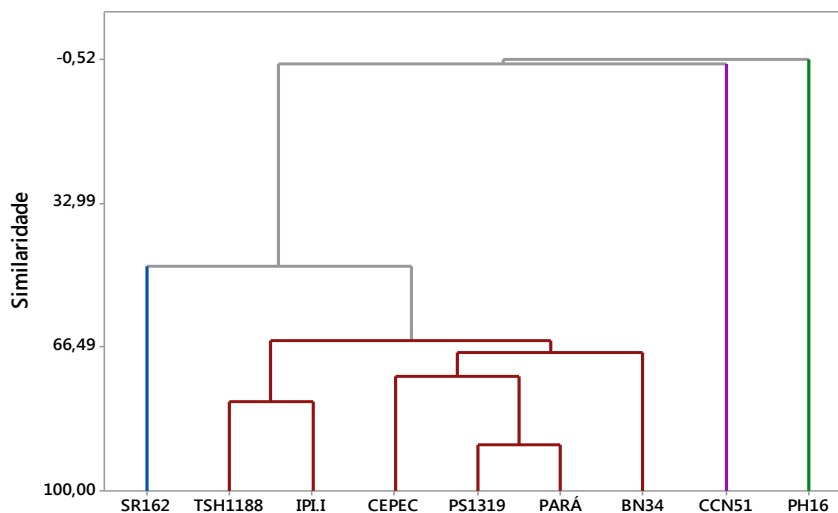
A Figura 4 ilustra os resultados de scores dos primeiros componentes principais, PC1 e PC2 sob influência dos ésteres. Verificou-se que os dois componentes principais em conjunto explicaram 60,50% da variância total observada entre as amostras.



**Figura 4** – Score da análise de componentes principais dos chocolates sob influência dos ésteres

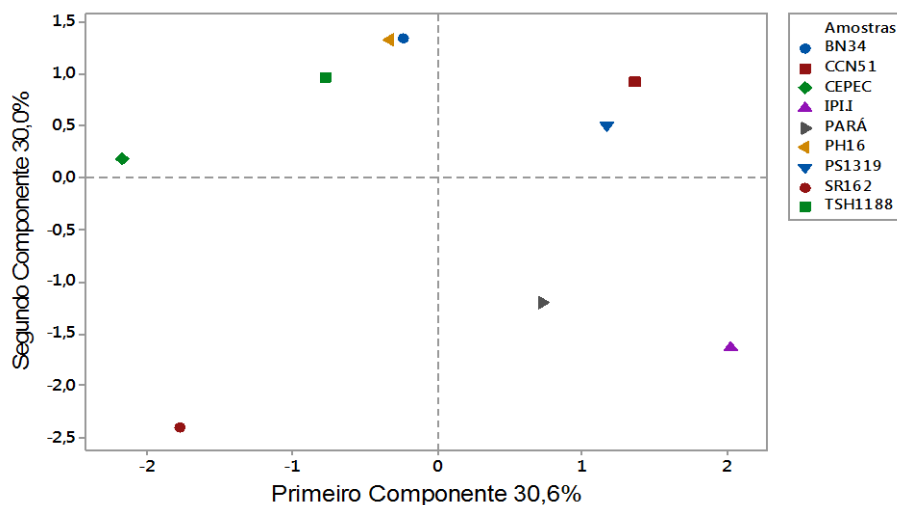
As amostras CEPEC2002 e BN34 tiveram sua variância explicada pelos ésteres ftalato de diisobutilo e metil benzenoacetato. Já SR162 teve maior influência do ácido decanóico, éster metílico e 2,3-butanodiol diacetato. Os ésteres texanol; ácido acético 2-feniletílico éster e 1-butanol,3-metil-acetato explicaram a separação das amostras CCN51, Ipiranga I, PS1319, Pára-parazinho e TSH1188. Os ésteres são formados através de reações enzimáticas entre ácidos e álcoois correspondentes.

Na Figura 5 é apresentado o dendograma de similaridade obtido a partir da HCA. Verifica-se que a análise hierárquica apresentou quatro grupos distintos, em função da similaridade pela influência dos ésteres.



**Figura 5** – Análise de agrupamento hierárquico das amostras de chocolates monovarietais quanto a influência dos ésteres

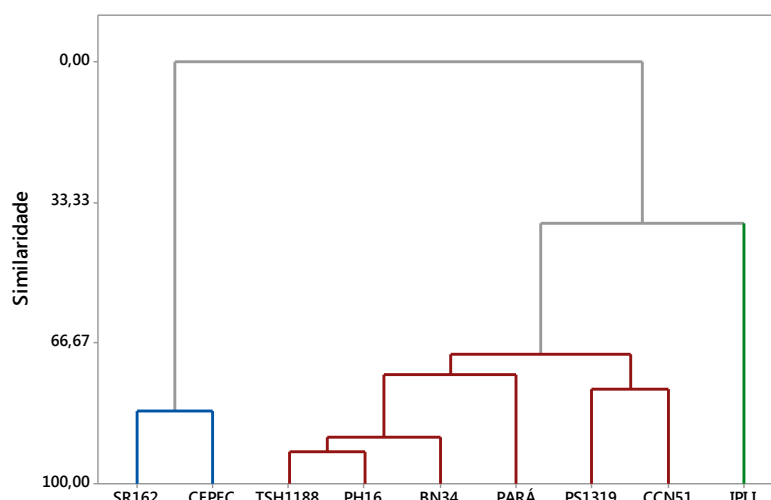
As PCA e HCA não foram efetivas para a discriminação das amostras em função dos álcoois, levado em consideração a grande quantidade de variáveis não-correlacionadas a ser avaliada. Com relação as pirazinas, aldeídos, terpenos e amidas, as amostras possuem características similares, não apresentando diferenças pronunciadas no gráfico de *scores*. A Figura 6 ilustra os resultados de *scores* dos primeiros componentes principais, PC1 e PC2 na discriminação das amostras em função das cetonas. Verificou-se que os dois componentes principais em conjunto explicaram 60,6% da variância total observada entre as amostras.



**Figura 6** – Score da análise de componentes principais dos chocolates sob influência das cetonas

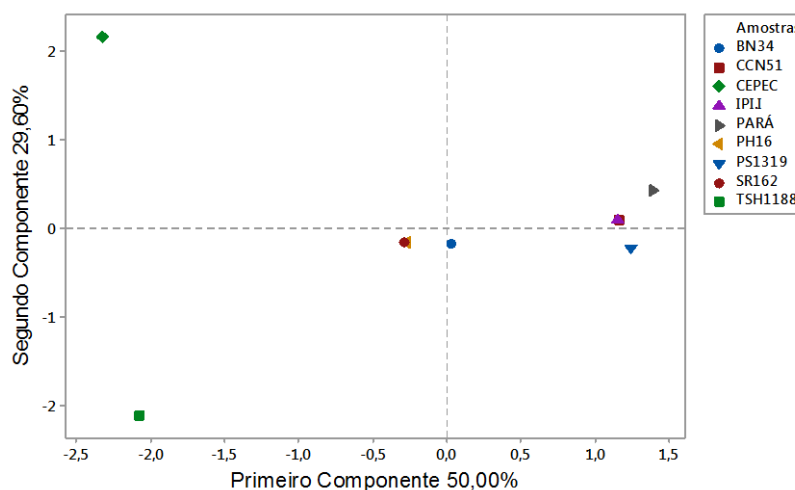
As amostras TSH1188, BN34 e PH16 tiveram sua variância explicada pela acetofenona e furaneol de forma inversa. A CCN51 e PS1319 tiveram maior influência da acetoina; etanona,1-(1H-pirrol-2-il) e 2-nonanona. As cetonas 4-hidroxi-2-butanona e 2-acetoxi-3-butanona explicaram a discriminação da amostra SR162. As amostras Pará-parazinho e Ipiranga I tiveram sua separação influenciada pela acetofenona e furaneol.

Na Figura 7 é apresentado o dendograma de similaridade obtido a partir da HCA. Verifica-se que a análise hierárquica apresentou três grupos distintos, em função da similaridade pela influência dos ésteres.



**Figura 7** – Análise de agrupamento hierárquico das amostras de chocolates monovarietais quanto a influência das cetonas

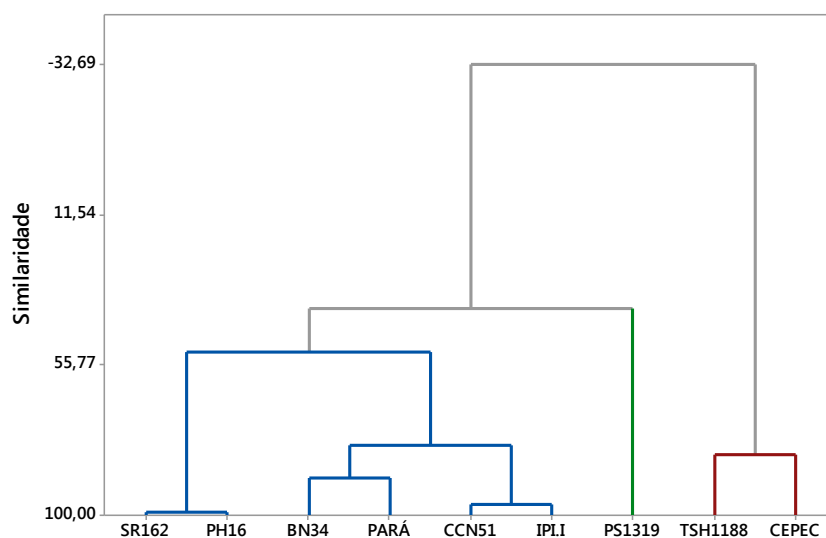
A Figura 8 ilustra os resultados de escores dos primeiros componentes principais, PC1 e PC2, sob influência dos ácidos carboxílicos. Verificou-se que os dois componentes principais em conjunto explicaram 79,60% da variância total observada entre as amostras.



**Figura 8** – Score da análise de componentes principais dos chocolates sob influência dos ácidos carboxílicos

A amostra CEPEC2002 foi discriminada sob influência do ácido propanóico. Já as amostras Pará-parazinho, Ipiranga I, CCN51 e PS1319 foram influenciados pelo ácido butanóico, 3-metil e ácido acético. TSH1188 teve sua variância explicada pelo ácido 2-metil-propanóico. A SR162 e PH16 foram explicadas de forma inversa pelo ácido butanóico,3-metil de forma.

Na Figura 9 é apresentado o dendograma de similaridade obtido a partir da HCA. Verifica-se que a análise hierárquica apresentou três grupos distintos, em função da similaridade pela influência dos ácidos carboxílicos.



**Figura 9** – Análise de agrupamento hierárquico das amostras de chocolates monovarietais quanto a influência dos ácidos carboxílicos

#### 4. CONCLUSÃO

A técnica de HS-SPME-CG-MS é uma ferramenta eficiente para a caracterização da natureza complexa dos chocolates monovarietais. Foi possível identificar de forma tentativa o perfil de compostos voláteis nas amostras analisadas. Sendo caracterizada por uma grande variedade de compostos voláteis pertencentes a diferentes classes químicas, como: ésteres, álcoois, pirazinas e cetonas.

A análise de componentes principais (PCA) e hierárquica de agrupamento (HCA) permitiu determinar as diferenças e similaridades dos chocolates em função do perfil de compostos voláteis. A trimetilpirazina e tetrametilpirazina foram TI nesse estudo, e foram as pirazinas marjoritárias, encontradas em todas as amostras. Essas pirazinas conferem notas de cacau, frutadas e de nozes atribuindo características sensoriais desejáveis para o sabor dos chocolates. Com base no perfil volátil a amostra SR162 se

destaca por possuir maior presença de pirazinas. Já as amostras PS1319 e CCN51 apresentam maior teor de ácido acético quando comparadas com as demais. Por conta disso, pode-se dizer que a amostra SR162 possui um perfil aromático mais desejável. Os resultados encontrados nesse estudo sugerem que a qualidade do chocolate varia de acordo com a origem genética de cacau que foi utilizado em seu processamento, portanto, diferentes características sensoriais e químicas serão transferidas para o produto final.

## 5. AGRADECIMENTOS

À FAPESB (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia) pelo apoio financeiro e concessão da bolsa de estudos e ao LAROMA – UFRJ pela contribuição na realização desse trabalho.

## 6. REFERÊNCIAS

AFOAKWA, E. O. **Chocolate and cocoa, taste and quality**. Enciclopédia Kirk-Othmer Chem Technol p. 1-19, 2012.

ALMEIDA, M. H. G. Efeito da tecnologia pós-colheita na fracção volátil do flavour a cacau. Estudo de uma fermentação em São Tomé e Príncipe. **Anais do Instituto Superior de Agronomia**, p. 25-39, 2003.

AMSTALDEN, L. C.; LEITE, F.; MENEZES, H. C. Identificação e quantificação de voláteis de café através de cromatografia gasosa de alta resolução/espectrometria de massa empregando um amostrador automático de “headspace”. **Ciência Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 21, p.123-128, 2001.

ARRUDA, N. P.; HOVELL A. M. C.; REZENDE, C. M.; FREITAS, S. P.; COURI, S. C.; BIZZO, H. R. Discriminação entre estádios de maturação e tipos de processamento de pós-colheita de cafés arábica por microextração em fase sólida e análise de componentes principais. **Química Nova**, v. 34, p. 819-824, 2011.

AUGUSTO, F.; VALENTE, A. L. P.; TADA, E. S.; RIVELLINO, S. R. Screening of Brazilian fruit aromas using solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 873, p.117-127, 2000.

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

BRYANT, R. J.; MCCLUNG, A. M. Volatile profiles of aromatic and non-aromatic rice cultivars using SPME/GC–MS. **Food Chemistry**, v.124, p. 501-513, 2011.

- CHOI, H.-S. Character impact odorants of citrus hallabong [(C. unshiu Marcov x C. sinensis Osbeck) x C. reticulata Blanco] cold-pressed peel oil. **Journal Agriculture and Food Chemical**, v.51, p.2687-2692, 2003.
- COUNET, C.; CALLEMIEN, D.; OUWERX, C.; COLLIN, S. Use of gas chromatography-olfactometry to identify key odorant compounds in dark chocolate. Comparison of sample before and after conching. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 2385-2391, 2002.
- DUCKI, S.; MIRALLES-GARCIA, J.; ZUMBÉ, A.; TORNERO, A.; STOREY, D. M. Evaluation of solid-phase micro-extraction coupled to gas chromatography-mass spectrometry for the headspace analysis of volatile compounds in cocoa products. **Talanta**, v. 74, p. 1166-1174, 2008.
- FRAUENDORFER, F.; SCHIEBERLE, P. Changes in key aroma compounds of Criollo cocoa beans during roasting. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 10244-10251, 2008.
- FUHRMANN, E.; GROSCH, W. Character impact odorants of the apple cultivars Elstar and Cox orange. **Nahrung/Food**, v.46, p.187-193, 2002.
- HO, V. T. T.; ZHAO, J.; FLEET, G. The effect of lactic acid bacteria on cocoa bean fermentation. **International Journal of Food Microbiology**, v. 205, p. 54–67, 2015.
- HO, V. T.; ZHAO, J.; and FLEET, G. Yeasts are essential for cocoa bean fermentation. **International Journal of Food Microbiology**, v.174, p.72-87, 2014.
- JATI, M.; SARI, A. B. T. Analisis of pirazine and volatile compounds in cocoa beans using solid phase microextraction. **Pelita Perkebunan (a coffee and cocoa Research Journal)**, v. 17, p. 24-35, 2011.
- JELEN, H. H.; MAJCHER, M.; DZIADAS, M. Microextraction techniques in the analysis of food flavor compounds: A review. **Analytica Chimica Acta**, v.738, p.13–26, 2012.
- JINAP, S.; ROSLI, W. I. W.; RUSSLY, A. R.; NORDIN, L. M. Effect of roasting time and temperature on volatile component profiles during nib roasting of cocoa beans (*Theobroma cacao*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.77, p.441-448, 1998.
- KAWAGUCHI, M.; ITO, R.; NAKAZAWA, H.; TAKATSU, A. Application of stir-bar sorptive extraction to food analysis. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 45, p. 280-293, 2013.
- KIM, T. H.; SHIN, J. H.; BAEK, H. H.; and LEE, H. J. Volatile flavour compounds in suspension culture of *Agastache rugosa* Kuntze (Korean mint). **Journal Science and Food Agriculture**, v.81, p.569-575, 2001.
- KONGOR, J. E.; HINNEH, M.; WALLE, D. V.; AFOAKWA, E. O.; BOECKX, P. DEWETTINCK, K. Factors influencing quality variation in cocoa (*Theobroma cacao*) bean flavour profile — A review. **Food Research International**, v. 82, p. 44-52, 2016.

KRÄHMER, A.; ENGEL, A.; KADOW, D.; ALI, N.; UMAHARAN, P., KROH, L. W., & SCHULZ, H. Fast and neat — Determination of biochemical quality parameters in cocoa using near infrared spectroscopy. **Food Chemistry**, v. 181, p. 152–159, 2015.

LIMA, L. **Microbial ecology of the cocoa chain**.(PhD Thesis). Wageningen University, Netherlands, p.312, 2012.

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

MENEZES, A. G. T.; BATISTA, N. N.; RAMOS, C. L.; SILVA, A. R. A. E.; EFRAIM, P.; PINHEIRO, A. C. M.; SCHWAN, R. F. Investigation of chocolate produced from four different Brazilian varieties of cocoa (*Theobroma cacao L.*) inoculated with *Saccharomyces cerevisiae*. **Food Research International**, v. 81, p. 83-90, 2016.

ORUNA-CONCHA, M. J.; BAKKER, J.; AMES, J. M. Comparison of the volatile components of two cultivars of potato cooked by boiling, conventional baking and microwave baking. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.82, p.1080-1087, 2002.

PEREGO, P.; FABIANO, B.; CAVICCHIOLI, M.; BORGUI, M. D. Cocoa quality and processing: A study by solid-phase microextraction and gas chromatography analysis of methylpyrazines. **Food and Bioproducts Processing**, v. 84, p. 291-297, 2004.

PINO, J. A.; MESA, J.; MUNOZ, Y.; MARTI, M. P.; MARBOT, R. Volatile components from mango (*Mangifera indica L.*) cultivars. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.53, p.2213 - 2223, 2005.

PINO, J.A; QUERIS, O. Analisis of volatile compounds of pineapple wine using solid-phase microextraction techniques. **Food Chemistry**, v.122, p.1241–1246. 2010.

RAMLI, N.; HASSAN, O.; SAID, M.; SAMSUDIN, W.; IDRIS, N. A. Influence of roasting conditions on volatile flavor of roasted Malaysian cocoa beans. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 30, p. 280-298, 2006.

RODRIGUEZ-CAMPOS, J.; ESCALONA-BUENDÍA, H. B.; OROZCO-AVILA, I.; LUGO-CERVANTES, E.; JARAMILLO-FLORES, M. E. Dynamics of volatile and non-volatile compounds in cocoa (*Theobroma cacao L.*) during fermentation and drying process using principal components analysis. **Food Research International**, v.44, p.250-258, 2011.

SACCHETTI, G.; IOANNONE, F.; GREGORIO, M.; 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, 2015.

SAMPAIO, K.L.; GARRUTI, D.S.; FRANCO, M.R.B.; JANZANTTI, N.S.; DA SILVA, M.A.A.P. Aroma volatiles recovered in the water phase of cashew apple (*Anacardium occidentale L.*) juice during concentration. **Journal of the Science of Food Agriculture**, v.91, p. 1801-1809, 2011.



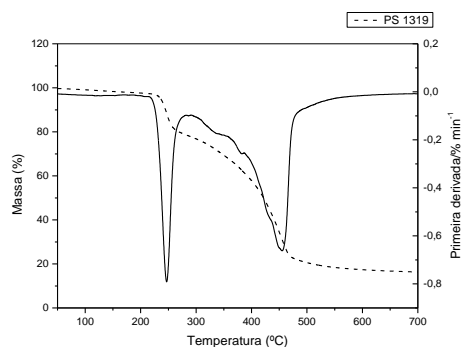
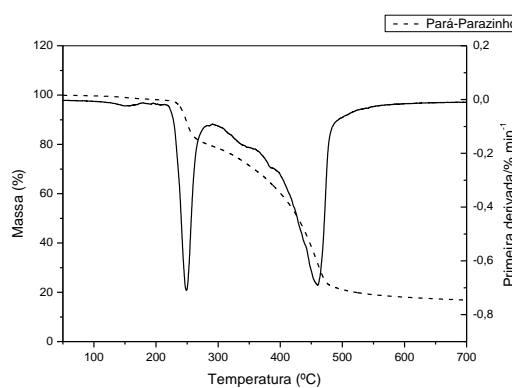
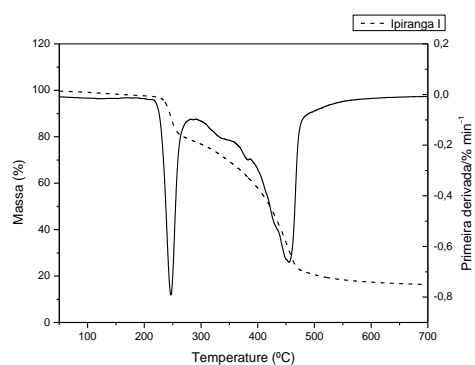
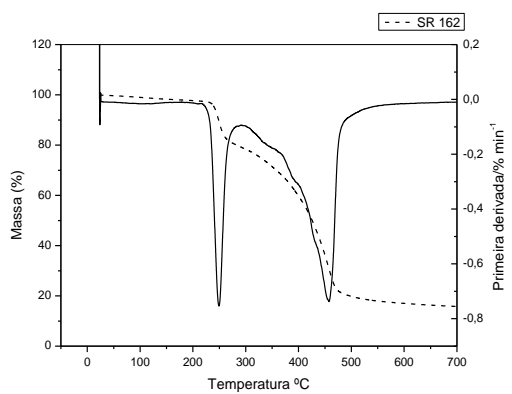
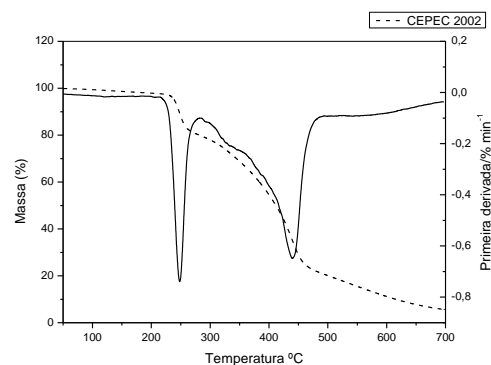
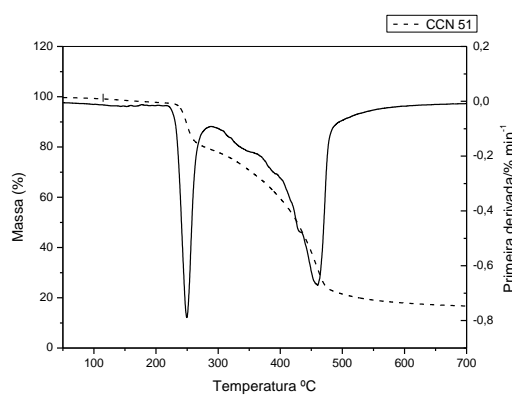
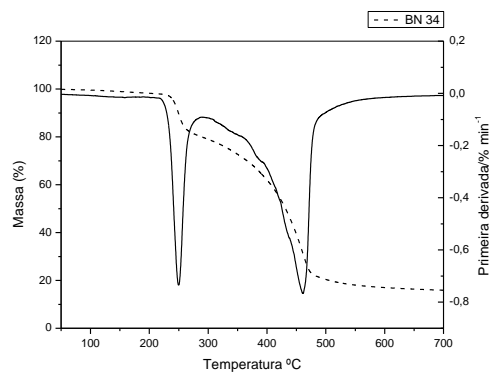
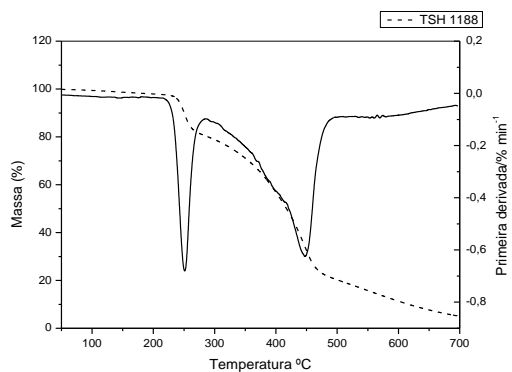
SERRA-BONVEHÍ, J. Investigation of aromatic compounds in roasted cocoa powder. **European Food Research and Technology**, v. 221, p. 19–29, 2005.

VIRGENS, I. A.; SANTANA, L. R. R.; SOARES, S. E.; FERREIRA, A. C. R.; BISPO, E. S. Application of different sensory methods to assess the quality of dark chocolate produced from cocoa varieties grown in the south region of Bahia-Brazil. **Food Science and Technology**, 2018.

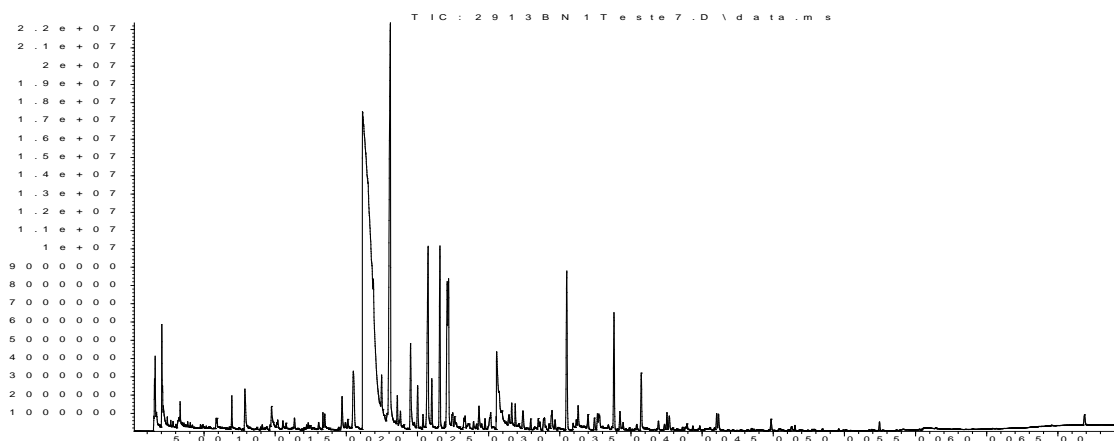
ZELLNER, B.A.; BICCHI, C.; DUGO, P.; RUBIOLO, P.; DUGO, G.; MONDELLO, L. Linear retention indices in gas chromatographic analysis: a review. **Flavour and Fragrance Journal**, v.23, p. 297-314, 2008.

## **APÊNDICES**

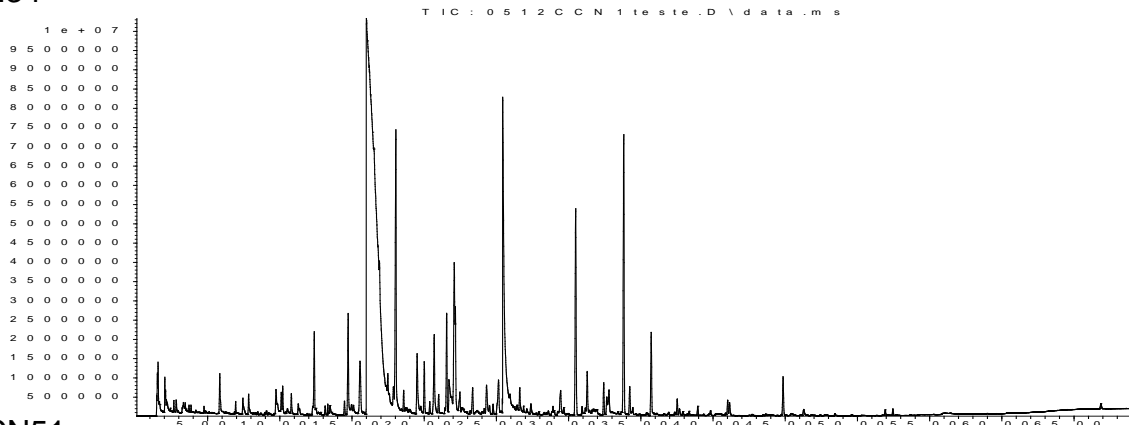
## APÊNDICE A – Curvas TG e DTG dos chocolates monovarietais



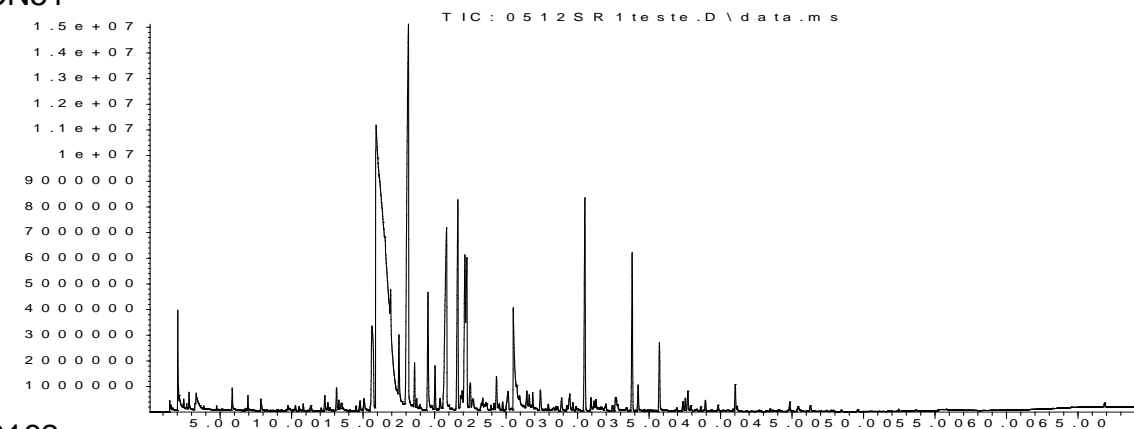
## APÊNDICE B – Cromatogramas dos compostos voláteis dos chocolates por CG-MS



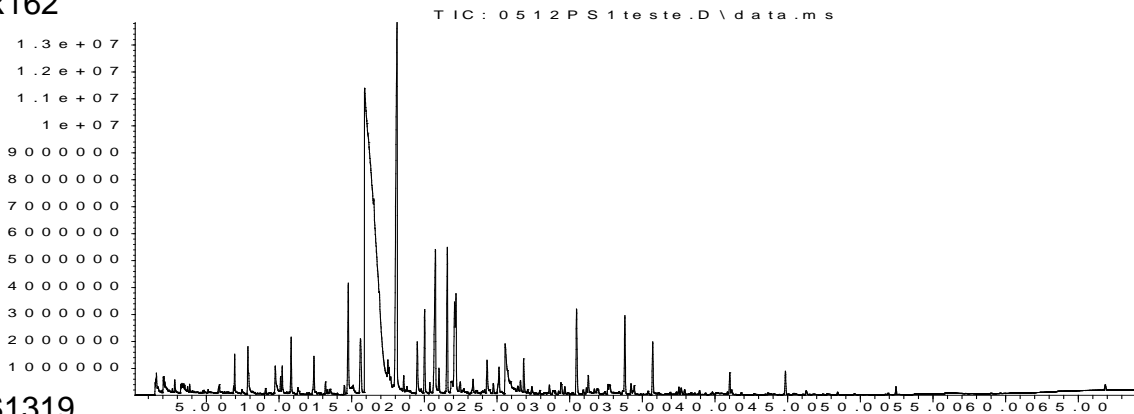
BN34



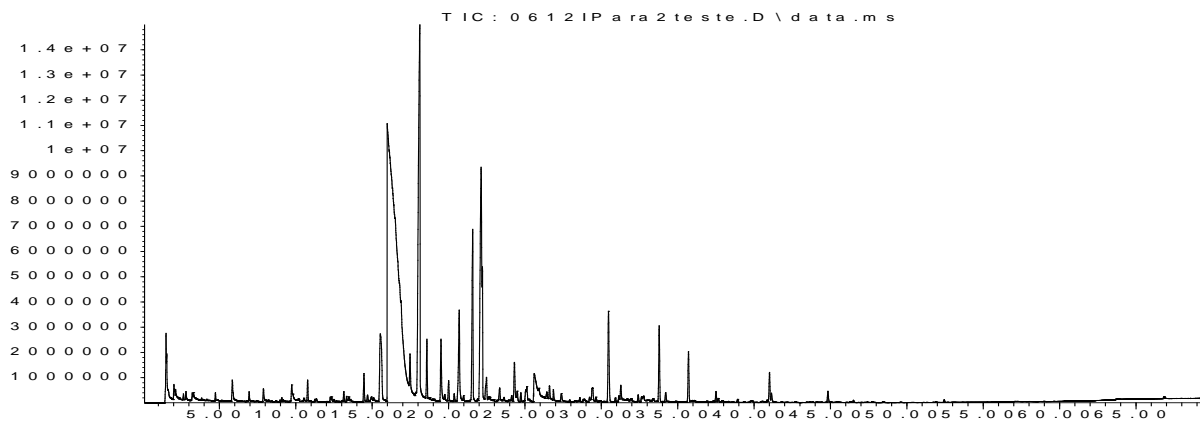
CCN51



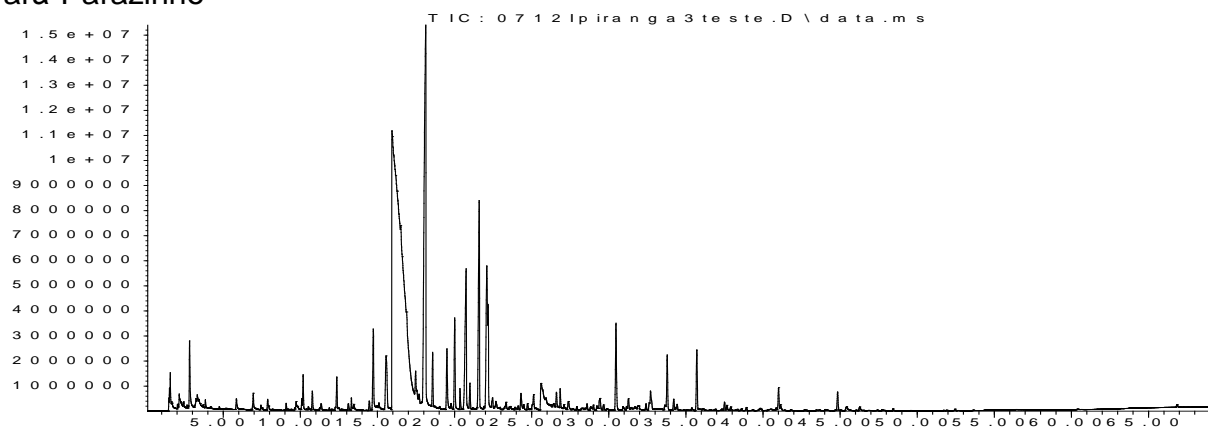
SR162



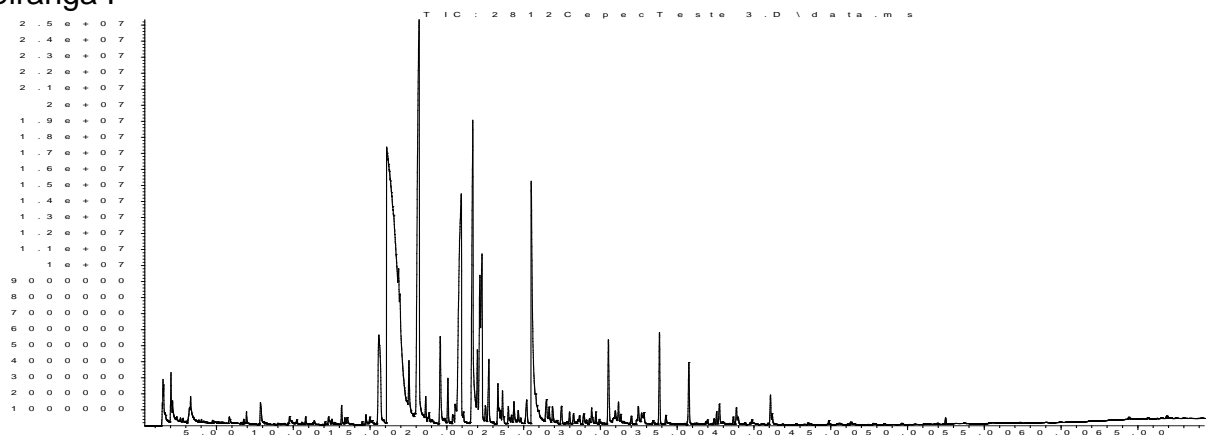
PS1319



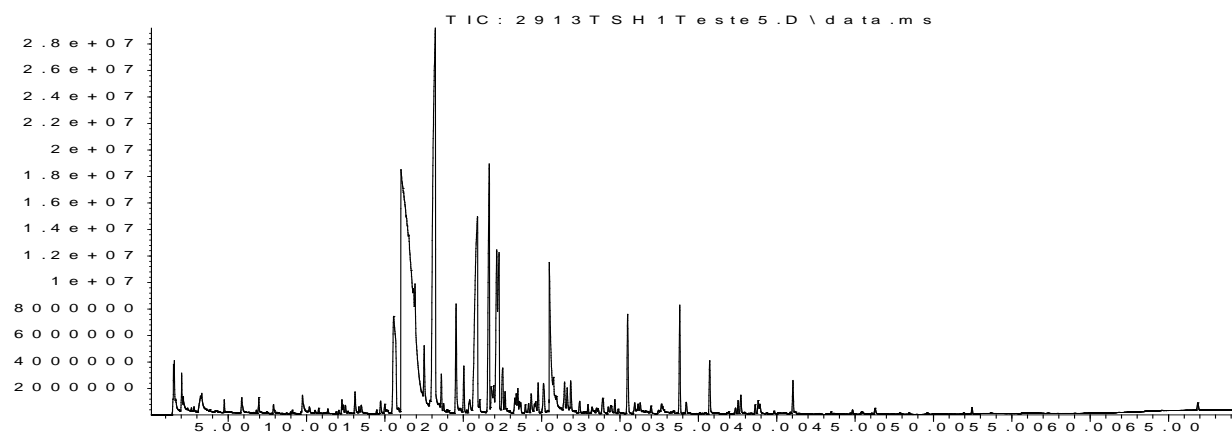
Pará-Parazinho



Ipiranga I



CEPEC2002



TSH1188