



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
FACULDADE DE FARMÁCIA
MESTRADO EM CIÊNCIA DE ALIMENTOS**

VALTERNEY LIMA DEUS

**Influência dos métodos de secagem nas propriedades
antioxidantes de cacau (*Theobroma cacao L.*)**

Salvador - Ba
2015

VALTERNEY LIMA DEUS

**Influência dos métodos de secagem nas propriedades
antioxidantes de cacau (*Theobroma cacao L.*)**

Orientadora: Prof^a Dr^a Eliete da Silva Bispo

Co-orientador: Prof^a Dr^a. Maria Spínola Miranda

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

Salvador - Ba
2015

Sistema de Bibliotecas da UFBA

D486 Deus, Valterney Lima .
Influência dos métodos de secagem nas propriedades antioxidantes de cacau (*Theobroma cacao L.*) / Valterney Lima Deus. - 2015.
45 f.: il.

Inclui tabelas.

Orientadora: Profª. Drª. Eliete da Silva Bispo.

Co-orientador: Profª. Drª. Maria Spínola Miranda.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal da Bahia, Faculdade de Farmácia, Salvador, 2015.

1. Cacau – Aspectos gerais. 2. Secagem. 3. Antioxidantes - Atividades. 4. Fenóis – Compostos - Cacau. 5. Fermentação. 6. Cacau - Bahia I. Bispo, Eliete da Silva. II. Miranda, Maria Spínola. III. Universidade Federal da Bahia. Faculdade de Farmácia. IV. Título.

CDD -
CDU – 633.74



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

TERMO DE APROVAÇÃO

VALTERNEY LIMA DEUS

INFLUÊNCIA DOS MÉTODOS DE SECAGEM NAS PROPRIEDADES ANTIOXIDANTES 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 30 de abril de 2015.

BANCA EXAMINADORA

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

Dr^a. Ana Maria Pinto dos Santos
Universidade Federal da Bahia

Dr. Sérgio Eduardo Soares
Universidade Federal da Bahia

Dedico

**A Deus;
A minha família;
Aos meus amigos.**

*“O Senhor Soberano é a minha
força; ele faz os meus pés como
os do cervo; ele me habilita a
andar em lugares altos.”*

Habacuque 3:19

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus pela vida, saúde e a oportunidade de ter chegado até aqui;

À minha família, que é a melhor do mundo, principalmente a minha mãe que é a pessoa mais espetacular que já conheci;

À Professora Dr^a. Eliete da Silva Bispo pela orientação, compreensão, ensinamentos e acima de tudo, pela amizade que ela me presenteou. Hoje, tenho orgulho de ser não só um orientado, mas um filho dessa mulher incrível;

À minha linda namorada Alaine Nascimento, que sempre foi fundamental nas minhas conquistas;

Ao Prof^o Dr. Sérgio Eduardo Soares, exemplo de ética, inteligência, pela colaboração nas análises dos resultados;

Ao Prof^o Dr. Ederlan de Souza Ferreira, pela dedicação nas análises, humildade e paciência na transmissão do conhecimento que muito me agregou;

Aos colegas de turma do mestrado, principalmente Adriana Coelho e Cláudia Figueiredo pela sincera amizade;

À CAPES pelo apoio financeiro;

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

À professora Dr^a. Mara Spínola Miranda, que além de minha co-orientadora, sempre foi para mim um exemplo de humanidade e competência;

Aos técnicos da UFBA, Luciane, Railda, Jaff, e Maria de Fátima pelo apoio e colaboração no desenvolvimento das atividades;

Aos meus amigos, que são extremamente importantes em minha vida;

Aos companheiros do DEPAD que sempre estão ao meu lado;

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

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	9
OBJETIVOS	12
OBJETIVO GERAL	12
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	12
CAPÍTULO 1	
REFERENCIAL TEÓRICO	
1. CACAU – ASPECTOS GERAIS	12
1.1 PRODUÇÃO DE CACAU NO MUNDO.....	14
1.2 PRODUÇÃO DE CACAU NO BRASIL.....	15
2.0 PRÉ-PROCESSAMENTO DO CACAU	16
2.1 COLHEITA.....	16
2.2 QUEBRA.....	17
2.3 FERMENTAÇÃO.....	17
2.4 SECAGEM	18
2.4.1 TIPOS DE SECAGEM.....	19
2.4.2 COMPOSTOS FENÓLICOS E A SECAGEM.....	23
2.5 ARMAZENAMENTO.....	24
2.6 TORRAÇÃO.....	24
3.0 OBTENÇÃO DO CHOCOLATE	25
4.0 POLIFENÓIS DO CACAU E A SAÚDE	26
5.0 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E MÉTODOS DE MEDIDA DA ATIVIDADE	31
REFERÊNCIAS	35
ARTIGO	44

RESUMO

A Região Sul do Estado da Bahia é a principal produtora de cacau do Brasil e essa atividade é responsável pelo sustento de grande parte de sua população. As sementes de cacau (*Theobroma cacao* L.) são extremamente ricas em compostos fenólicos, esses compostos são apontados hoje em dia como responsáveis pela prevenção de doenças coronárias, diminuição do colesterol sérico, auxiliares do sistema imunológico, entre outros. No pré-processamento do cacau, durante a etapa fermentação ocorrem importantes reações bioquímicas, principalmente pela diminuição do pH, aumento de temperatura e atuação de certas enzimas presentes no fruto ou produzidas pelos microrganismos que participam desta etapa. Na secagem, que tem como objetivo essencial interromper a fermentação e reduzir a umidade das amêndoas, as enzimas presentes oriundas da fermentação, promovem as reações químicas de cura, estabilizando o sabor e a cor característicos do chocolate. Durante a secagem, ocorre a redução do teor de polifenóis. Esse fato é atribuído à reação de escurecimento enzimático causado pela polifenoloxidase que, nessa etapa, encontra condições ideais para a sua atividade, seguida de escurecimento não enzimático decorrente da polimerização das quinonas resultantes e da acumulação de compostos insolúveis. A depender da metodologia de secagem aplicada às amêndoas, existem diferenças na perda de compostos fenólicos e talvez na atividade antioxidante. A secagem do cacau pode ser realizada de forma natural, direto ao sol ou de forma artificial, com fontes de calor artificiais. A perda de atividade antioxidante é um fato de grande importância para a produção de cacau, pois, na atualidade a sociedade tem buscado cada vez mais alimentos com propriedades benéficas à saúde. Portanto, a produção de cacau com qualidade superior irá melhorar não só a saúde dos apreciadores de chocolate, como também a qualidade de vida da população das regiões produtoras de cacau, pois, o cacau rico em antioxidantes é muito mais competitivo no mercado.

Palavras-chave: Atividade antioxidante, secagem, alimento funcional, fenólicos

ABSTRACT

The southern state of Bahia is the main cocoa-producing region of Brazil and this activity is responsible for the support of much of its population. The cocoa beans (*Theobroma cacao* L.) are extremely rich in phenolic compounds, such compounds are currently identified as responsible for the prevention of coronary heart disease, decreased serum cholesterol, helpers of the immune system, among others. In the pre-processing of cocoa, during the fermentation step occur important biochemical reactions, mainly due to the decreased pH, increased temperature and activity of certain enzymes present in the fruit or produced by the microorganisms involved in this step. Drying, which aims to stop fermentation and reduce the humidity of almonds, the enzymes derived from the fermentation, promote chemical reactions of healing, stabilizing the flavor and the characteristic color of chocolate. During drying, there is reduction of the polyphenol content. This fact is attributed to the enzymatic browning reaction caused by polyphenol that, at this stage, find ideal conditions for their activity, followed by non-enzymatic browning resulting from the polymerization of the resulting quinones and accumulation of insoluble compounds. Depending on the drying methodology applied almonds, there are differences in the loss of phenolic compounds and possibly antioxidant activity. The drying of cocoa can be performed in a natural way, through the sun or artificial way, with artificial heat sources. The loss of antioxidant activity is a fact of great importance for cocoa production because, currently the company has sought more and more foods with beneficial properties to health. Therefore, cocoa production with superior quality will improve not only the health of chocolate lovers, as well as the population's quality of life of cocoa growing regions because the rich cocoa antioxidants is much more competitive.

Keywords: Antioxidant activity, drying, functional food, phenolic

INTRODUÇÃO

O cacau é uma planta provavelmente originada da Bacia Amazônica e cultivada nas regiões tropicais do mundo. O interesse de cultivo desta espécie está no aproveitamento de suas sementes (amêndoas) para produção de manteiga de cacau e chocolate (ALVES e BRAGAGNOLO, 2002).

O sabor do chocolate é único e exclusivo, obtido somente de sementes fermentadas, secas e torradas de cacau, não podendo ser sintetizado artificialmente. O desenvolvimento desse sabor é influenciado pela constituição genética das sementes, processamento pós-colheita (fermentação e secagem) e torração. O sabor de chocolate é desenvolvido na etapa de fermentação e torração. O genótipo, variedade do cacau, influencia tanto a qualidade quanto a intensidade do sabor do chocolate, pois possivelmente determina a quantidade de precursores do sabor formados na etapa da fermentação (POSSIGNOLO, 2010).

As etapas de pré-processamento do cacau (colheita, fermentação e secagem) são importantes na garantia da qualidade das amêndoas. Para Lagunes-Galvez et al. (2007) a fermentação é uma das etapas da pós-colheita que mais afetam a qualidade dos produtos obtidos a partir do cacau. E na secagem, as enzimas presentes oriundas da fermentação, promovem as reações químicas de cura, estabilizando o sabor e a cor característicos do chocolate (OETTERER, 2006).

A secagem tem como principal objetivo interromper a fermentação e reduzir a umidade das amêndoas de cacau, tornando-as mais estáveis ao armazenamento. Tal etapa deve ser iniciada imediatamente após a fermentação e deve ser adequadamente conduzida para evitar o desenvolvimento de fungos toxigênicos, que podem afetar o desenvolvimento do sabor característico de chocolate, além de causarem danos à saúde. Durante a secagem, a redução do teor de polifenóis é atribuída à reação de escurecimento enzimático causada pela polifenoloxidase que, nessa etapa, encontra condições ideais para sua atividade, seguida de escurecimento não enzimático decorrente da polimerização das quinonas resultantes e da acumulação de compostos insolúveis (HANSEN et al., 1998).

Já no processamento do cacau para a produção do chocolate, a torração é um tratamento térmico fundamental na obtenção das características de qualidade do produto final, pois ocorrem reações químicas que fazem com que os precursores do sabor (aminoácidos livres e açúcares redutores) desenvolvidos durante a

fermentação, sejam convertidos em produtos responsáveis pelo sabor típico do chocolate. Segundo Queiroz e Garcia (1999), durante a torração ocorrem: desenvolvimento do aroma e cor típica de chocolate, principalmente pela reação de *Maillard*; redução dos teores de ácidos voláteis, principalmente o ácido acético; inativação das enzimas capazes de degradar a manteiga de cacau; redução do teor de umidade das amêndoas, de 8% para 2% aproximadamente, e mudança da textura dos cotilédones (COHEN et al., 2009).

Durante a torração, a reação de *Maillard* desempenha um papel importante na formação do sabor de cacau. Os aminoácidos livres, que são produzidos durante a fermentação através da proteólise oriunda da atividade de enzimas proteolíticas e os açúcares redutores que também são formados na fermentação, por meio da hidrólise da sacarose pela ação da invertase, são precursores de amins aromáticas (NOOR-SOFFALINA et al., 2009).

Através da reação de *Maillard*, todos os precursores de aroma de cacau interagem para produzir componentes de sabor, como álcoois, éteres, furanos, tiazoles, piroles, ácidos, ésteres, aldeídos, iminas, amins, oxazolas, pirazinas e pirróis (MISNAWI et al., 2005). Aldeídos e pirazinas estão entre os componentes mais formados durante a torração (RAMLI et al., 2006).

A conchagem é a etapa que assegura 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. Já a temperagem é necessária para induzir a cristalização da manteiga de cacau em uma forma estável na massa de chocolate líquida (REINECCIUS, 2006; AFOAKWA et al., 2008).

Sulistyowati e Misnawi (2008) estudaram a atividade antioxidante de chocolate em função da concentração de álcali e da temperatura de conchagem. Os resultados demonstraram que ambos influenciaram o teor final total de polifenóis, sendo que o aumento da concentração do álcali e da temperatura de conchagem reduziu gradualmente as concentrações finais de polifenóis. Houve uma relação significativa entre a concentração do álcali e a temperatura de conchagem na concentração dos polifenóis.

Todos esses estudos e o crescente interesse em aumentar a quantidade de compostos fenólicos nos derivados de cacau são reflexos de uma tendência mundial.

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

A quantidade de compostos fenólicos presentes no cacau e, conseqüentemente, em chocolates, depende não apenas de características genéticas, mas também de outros fatores, como clima (temperatura e umidade), propriedades químicas do solo, região de cultivo (JALIL e ISMAIL, 2008). Em geral, as características de amargor e adstringência do cacau e de produtos derivados são atribuídas aos compostos fenólicos, embora a literatura reporte outros fatores, como a presença de certos aminoácidos e a complexação de peptídeos com metilxantinas, que também contribuem para o amargor e a adstringência (van DER GREEF et al., 1987 *apud* BRITO, 2000; PICKENHAGEN et al., 1975).

Efraim et al. (2010) verificou que existem diferenças na perda de compostos fenólicos totais nas amêndoas a depender da metodologia de secagem aplicada. Muitas das reações bioquímicas iniciadas na fermentação continuam durante a secagem, permitindo a redução do amargor, da adstringência e da acidez das amêndoas, além do escurecimento dos cotilédones, contribuindo com a formação dos precursores de sabor desejáveis de chocolate (BECKETT, 2009). A secagem ao sol permite a obtenção de produtos com melhor qualidade sensorial em relação à secagem realizada de forma artificial (FABORODE et al., 1995; EFRAIM et al., 2010).

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

Em dias de chuva ou quando o espaço disponível nas barcaças não é suficiente para comportar o volume de produção, tem-se como alternativa a secagem artificial. No Brasil, em lugares onde a colheita coincide com épocas chuvosas, a secagem artificial é extremamente importante (LAJUS, 1982). As barcaças com cobertura também têm sido alternativas para secagem, evitando que as amêndoas sejam molhadas por chuvas rápidas que ocorrem esporadicamente em todas as estações do ano e por de versas vezes inesperadamente.

Neste contexto, abre-se a perspectiva do estudo de diferentes metodologias de secagem de cacau (*Theobroma cacao* L.) verificando sua influencia no desenvolvimento do teor da atividade antioxidante das amêndoas.

OBJETIVO GERAL

Avaliar o comportamento das metodologias de secagem de cacau no desenvolvimento dos compostos fenólicos e sua atividade antioxidante.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Determinar os teores dos compostos fenólicos empregando a cromatografia líquida de alta eficiência

Determinar os teores das metilxantinas empregando a cromatografia líquida de alta eficiência

Determinar a atividade antioxidante através dos métodos: DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity), FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) e β -caroteno/ácido linoleico

Correlacionar a quantidade de polifenóis e atividades antioxidantes com as metodologias de secagem utilizadas no experimento.

REFERENCIAL TEÓRICO

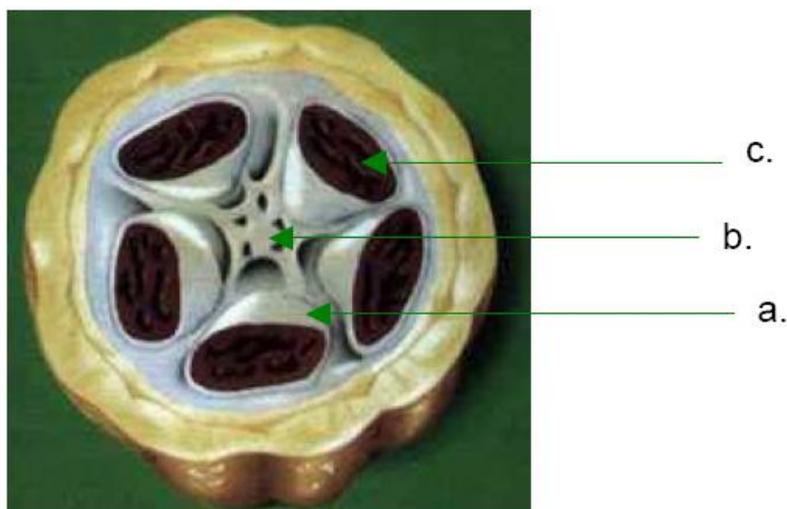
1.0 Cacau – Aspectos Gerais

O cacau é uma planta da família *Sterculiaceae*, gênero *Theobroma*, espécie *Theobroma cacao* L. originada na Bacia Amazônica e cultivada nas regiões tropicais do mundo. O interesse de cultivo desta espécie está no aproveitamento de suas sementes para produção de derivados de cacau (ALVES, 2002). No início do século XVII o cacau foi citado pela primeira vez na literatura botânica por Charles de L'Écluse que o descreveu com o nome de *Cacao fructus*, porém, em 1737 foi classificado por Linneu como *Theobroma fructus* para em 1753 ser modificado para *Theobroma cacao*, denominação que permanece ainda hoje. É uma planta típica dos trópicos úmidos, e é cultivada em regiões onde o clima apresenta pequenas variações durante o ano, em

especial em termos de temperatura, radiação solar e comprimento do dia (SILVA NETO et al., 2001).

O cacaeiro é uma planta perene, visto que seu ciclo produtivo poder ultrapassar os 100 anos, ideal em torno de 35 anos, com início da produção econômica a partir dos seis anos após o plantio. Desenvolve-se em solo com níveis de fertilidade e características díspares, tais como os de mata, capoeira, sistemas de consorciamento com outros cultivos ou até pastagem. Por ser uma planta típica do trópico úmido, o cacaeiro possui como ambientação edafoclimática ideal um solo de fertilidade média/alta, bem drenado e com profundidade de 1,5 metros além de um clima estável, com pequena variação de temperatura, radiação solar e comprimento do dia (PARENTE, 2008). A Figura 1 mostra um corte transversal de um fruto de cacau.

Figura 1. Corte transversal de um fruto de cacau - a: polpa mucilaginosa; b: placenta; c: cotilédone



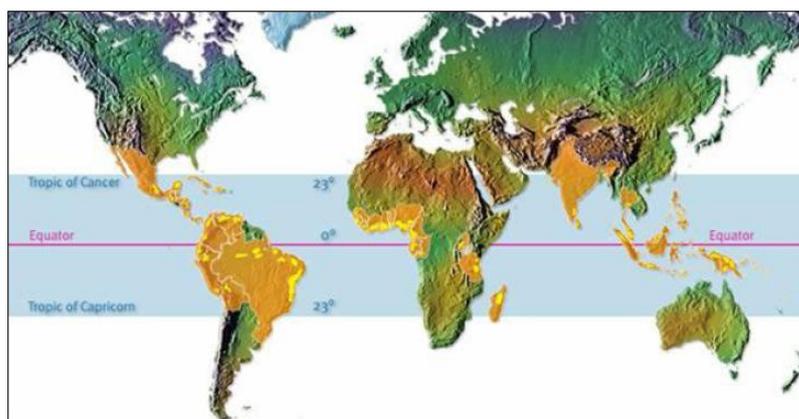
Fonte: EFRAIM, 2004.

O cacau é quase sempre cultivado nos trópicos, por pequenos agricultores em países do terceiro mundo (Figura 2). Seu cultivo estende-se da Colômbia, para a Venezuela, América Central e México. Ao dispersar-se ao longo do rio Amazonas, alcança também as Guianas. Saindo das Américas e com cerca de 70% da produção mundial proveniente da África Ocidental, principalmente da Costa do Marfim (40%), Gana (20%), Nigéria (5%) e Camarões (5%). O Brasil, até a chegada da vassoura de bruxa (*Moniliophthora perniciosa*) em 1989, era o segundo maior

produtor de cacau do mundo caindo posições depois do aparecimento desta doença.

Hoje o Brasil ocupa a sexta posição no ranque mundial de produção de cacau e com um ótimo valor de mercado de seus produtos (ICCO, 2013).

Figura 2. Zona de cultivo do cacau na cor laranja.



Fonte: SAINATO et al., 2004.

1.1 Produção de cacau no mundo

O cacau tem importância econômica no contexto internacional por ser um *commodity* de participação relevante no comércio mundial de produtos agrícolas tanto em importações quanto exportações (GUYTON, 2003). De acordo com o *International Cocoa Organization* (ICCO, 2012), os maiores produtores mundiais de cacau (Tabela 1) são a Costa do Marfim seguida por Gana, Indonésia, Nigéria, Camarões, Brasil, Equador e Papua Nova Guiné. A estimativa de produção mundial para o período 2012/2013 foi de 4.003 milhões de toneladas (ICCO, 2013).

Tabela 1: Maiores produtores mundiais de cacau.

Países	Produção de Cacau ton/ ano
Costa do Marfim	1.350.000
Gana	970.000
Indonésia	500.000
Nigéria	210.000
Camarões	200.000
Brasil	180.000
Equador	150.000
Papua Nova Guiné	48.000

Fonte: Annual Report 2011/2012 (ICCO, 2012).

1.2 Produção de cacau no Brasil

No Brasil, a produção tem grande destaque na região Nordeste, principalmente na Bahia. O Sudeste da Bahia, onde se concentra a produção de cacau no estado, foi o responsável, no ano de 2004, por cerca de 80% da produção nacional. Os principais municípios produtores de cacau da região são Itabuna e Ilhéus (CEPLAC, 2005).

A Bahia é o maior produtor de cacau no Brasil, com 64% do total produzido, seguido por Pará (25%), Rondônia (8%) e Espírito Santo (3%) (MARTINI, 2004; LOPES, 2011).

Segundo dados do IBGE, em 2011 o Brasil produziu 24,6 mil toneladas de cacau em amêndoa, sendo as regiões Norte/Nordeste responsáveis por mais de 97% dessa produção. Neste mesmo ano o Nordeste produziu 156,570 mil toneladas de amêndoa do fruto, respondendo a Bahia 100% da produção regional e cerca de 63% da nacional (IBGE, 2012).

Tabela 2: Maiores produtores de cacau do Brasil.

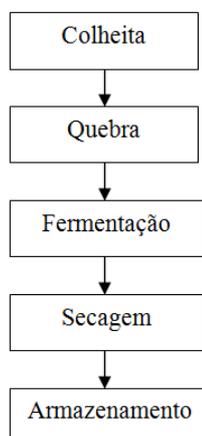
Estado	Produção de Cacau ton/ ano
Bahia	148.200
Pará	59.500
Rondônia	17.400
Espírito Santo	6.100
Amazonas	3.200
Mato Grosso	647
Minas Gerais	128

Fonte: Anuário do Cacau, 2012.

2.0 Pré Processamento do cacau

A qualidade dos grãos de cacau depende de muitos fatores como a variedade do cacaueiro, manejo agrônômico, fatores do solo, condições climáticas, e a tecnologia pós-colheita. Desta forma, a qualidade dos grãos de cacau, sabor e aroma, dependerão das habilidades e bons cuidados tomados pelos técnicos responsáveis. Por causa disso, é necessária a avaliação dos parâmetros físicos, químicos e organolépticos que permitem determinar a qualidade em relação à variedade e ao meio ambiente (BRUNETTO et al., 2007).

As etapas para o beneficiamento do cacau são evidenciadas no fluxograma a seguir:

Figura 3. Fluxograma de Beneficiamento do cacau

Fonte: Adaptado BECKETT, 1994

2.1 Colheita

O desenvolvimento do fruto, desde a fecundação até a maturação, demanda o tempo de cerca de seis meses. Na prática, a maturidade é reconhecida, em geral pela mudança da cor do cacau. Por ocasião da colheita, é essencial colher apenas frutos maduros, pois somente estes possuem açúcar e outros substratos em quantidade adequada para uma boa fermentação (LOPES, 2000; CRUZ, 2002).

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

2.2 Quebra

Após a colheita, os frutos devem ser quebrados e deles retiradas as sementes com a polpa aderida, que serão submetidas à fermentação. O período entre a quebra e o início da fermentação não deve ser superior a 24 horas para que não ocorram reações químicas indesejáveis. Sementes provenientes de quebras em dias diferentes não devem ser fermentadas juntas, pois isso conduz a uma fermentação desigual (BECKETT, 1994).

2.3 Fermentação

A fermentação apresenta duas fases. A primeira etapa é desenvolvida principalmente por leveduras. Há uma diminuição do pH, que em conjunto com o aumento da temperatura (45-50°C) são responsáveis pela morte do gérmen, ou seja, elimina o poder de germinação da semente, a partir desse momento, os grãos passam a se denominar amêndoas (CRUZ, 2002; AFOAKWA, 2010).

A morte da semente resulta em mudanças de estruturas subcelulares que são importantes para a produção de precursores do sabor, como a hidrólise das proteínas, originando aminoácidos livres. A geração de precursores de sabor é um importante resultado da fermentação. Amêndoas mal fermentadas ou sementes não fermentadas apresentam uma coloração marrom-violeta ou de madeira acinzentada, que permanece no chocolate e desenvolve sabor aparente de chocolate (BECKETT, 1994).

Na segunda fase da fermentação ocorre uma condensação oxidativa. Tem

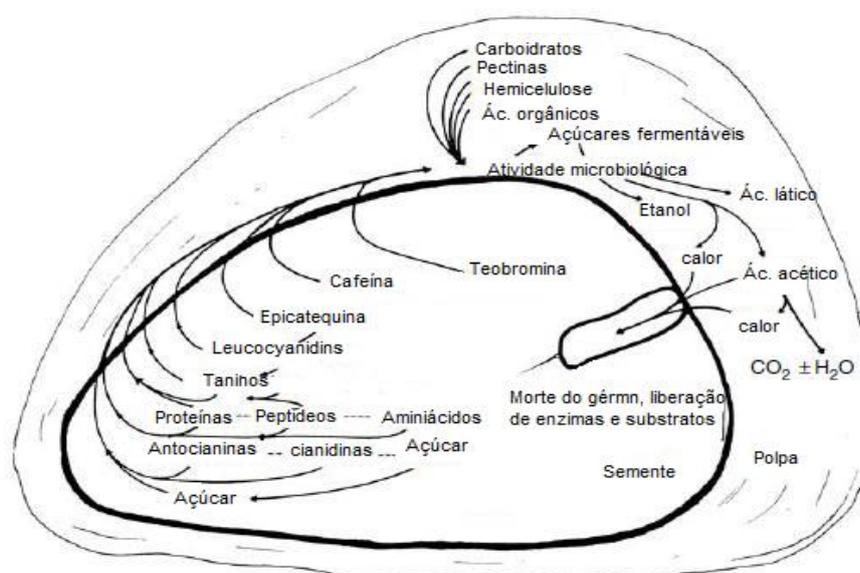
como principal característica a redução da adstringência e amargor devido à oxidação dos compostos fenólicos, formando complexos com proteínas e peptídeos, traduzindo-se, entre outras, na transformação da cor púrpura a marrom dos cotilédones, com o aumento da concentração de ácido acético e oxidação das antocianinas (CRUZ, 2002).

Uma amêndoa de cacau bem fermentada apresenta cotilédones de coloração marrom. Quando há mistura de coloração marrom com violeta, roxo ou púrpura, a amêndoa é classificada como parcialmente fermentada. Caso esta apresente coloração de violeta a púrpura, em grande parte de sua extensão, é considerada como mal fermentada (COHEN; JACKIX; SOUSA, 2004).

A fermentação é um procedimento importante para reduzir a acidez, adstringência e amargor em sementes de cacau. É também um passo fundamental na formação de açúcares redutores e aminoácidos, que são os precursores da reação de Maillard durante a torração (HUANG; BARRINGER, 2010).

A Figura 04 ilustra as reações que ocorrem em sementes de cacau durante a sua fermentação.

Figura 04: Mudanças químicas e bioquímicas dentro da semente do cacau durante a fermentação.



Fonte: LOPEZ, 1986, citado por BECKETT, 2009.

2.4 Secagem

A etapa de secagem (Figura 05) deve ser iniciada imediatamente após a fermentação e não deve ser lenta ou mal conduzida para evitar o desenvolvimento de fungos que podem conferir sabor desagradável ao produto final ou produzir toxinas prejudiciais à saúde (CRESPO, 1985). Por outro lado, não deve ser efetuada com rapidez em demasia, com o emprego de temperaturas elevadas, para evitar a migração de manteiga de cacau para a testa (película que envolve a amêndoa) e afetar o desenvolvimento do sabor característico de chocolate. Muitas das reações bioquímicas iniciadas na fermentação continuam na secagem (ROHAN; STEWART, 1967; LOPEZ; QUESNEL, 1973).

A secagem é realizada até as amêndoas atingirem o teor de água de 7 a 8% (b.u), podendo durar de 2 a 10 dias dependendo do método utilizado ou das condições climáticas (PEREIRA, 20013).

Figura 05. Secagem do cacau



Fonte: Lajedo do Ouro

Durante a etapa de secagem, que tem como objetivo reduzir a umidade das amêndoas, tornando-as estáveis ao armazenamento, verifica-se a continuidade das reações de oxidação iniciadas na fermentação levando à redução do amargor, da adstringência e da acidez das amêndoas e ao escurecimento dos cotilédones, contribuindo com a formação dos precursores de sabor desejáveis de chocolate (BECKETT, 1994).

2.4.1 Tipos de secagem:

Secagem natural – Utiliza como fonte de energia a luz solar. É realizada em barcaças, terreiros e em estufa solar (PEREIRA, 2013).

- Tradicional - Secagem direta ao sol. Uso de barcaça com lastro fixo de madeira e cobertura móvel.
- Em terreiro – Esparrama-se as amêndoas em pisos e a secagem ocorre pela ação direta dos raios solares.
- Em estufa – Lastro fixo ou móvel, construído de madeira ou aço inoxidável. A cobertura é fixa e geralmente construída de plástico, porém, é raro encontrar algumas coberturas construídas com outros materiais.

A secagem natural é mais prolongada que a secagem artificial e proporciona uma melhor eliminação do ácido acético e de outros compostos voláteis, resultando em amêndoas com menor amargor e acidez. As amêndoas de cacau são expostas diretamente ao sol em instalações de fácil manejo e que permitem uma secagem adequada (MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, 2011).

Dependendo das condições climáticas, a secagem natural ocorre no período médio de 8 a 10 dias. Não devendo ultrapassar o 12º dia, pois, daí em diante o cacau começa a perder suas características de sabor e aroma, prejudicando o produto final (MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, 2011).

Secagem artificial – Utiliza-se para secagem outras fontes de calor que não a do sol. Pode ser realizada em secadores com coberturas móveis, estufas ou casas de secagem com chaminé.

São exemplos de secadores artificiais: Secador Tubular, Plataforma CEPEC, Secadores rotativos Pinhalense, Secador Zaccaria, Secador Burareiro 2x2 m com fornalha de alvenaria, Secador Burareiro 2x2 m com fornalha de ferro, Secador Burareiro 3 x 3 m com fornalha de ferro (PEREIRA, 2013).

Os secadores citados, segundo Cunha e Serôdio (1991), eles operam acoplados a uma fornalha com sistema de aquecimento indireto do ar de secagem para evitar a contaminação das amêndoas de cacau com fumaça.

A secagem por meio de secadores acoplados a fornalhas tem a vantagem de reduzir o tempo de secagem, viabilizar a secagem em regiões úmidas, em períodos de chuvas e reduzir a interferência de condições climáticas sobre a qualidade do cacau quando comparada com a secagem solar e de convecção natural. Porém, se mal conduzida, pode comprometer a qualidade das amêndoas em relação à desigualdade de secagem ou comprometer os atributos sensoriais característicos das amêndoas de cacau pela impregnação de odores provenientes dos diferentes tipos de combustíveis usados para o aquecimento das fornalhas (PEREIRA, 2013).

A utilização de fornalhas a lenha com sistema de aquecimento indireto é um método comum na maioria das propriedades pré-processadoras de cacau. Estas fornalhas são destinadas a produtos agrícolas que requerem temperatura controlada e não muito alta durante a secagem (CUNHA; SERÔDIO, 1991). A temperatura ideal da massa de amêndoas de cacau deve ser mantida em temperatura entre 35 e 40°C (EFRAIM, 2004).

Uma boa secagem não é aquela realizada em menos tempo, mas aquela que permite produzir amêndoas de qualidade. Uma secagem muito rápida resulta em perdas excessivas de peso, com quebra das amêndoas e fragmentação das partes superficiais. Uma secagem bem conduzida é realizada em torno de 50 horas (MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, 2011).

Na secagem artificial, deve-se manter as entradas de ar da câmara sempre desobstruídas. Para melhor aproveitamento do fluxo de calor do secador, manter as janelas opostas à direção do vento dominante abertas, permitindo uma boa circulação do ar quente de baixo para cima, passando pelo lastro e saindo pelas janelas, acelerando assim, o processo de secagem e manter o cinzeiro e a chaminé sempre limpos (MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, 2011).

A secagem direta ao sol é o método mais utilizado, especialmente nas regiões do Oeste Africano e da América Latina, por causa das condições sócio-econômicas e também porque muito ainda não se sabe sobre a secagem artificial. Nos países asiáticos produtores, onde secadores artificiais são mais prontamente adotados, existem problemas com a má qualidade do cacau devido à sua elevada acidez (WOOD; LASS, 1985).

Ainda não estão definidas quais condições são ideais para a secagem artificial de cacau em relação à qualidade aceitável das amêndoas resultantes. Num trabalho de

pesquisa, Duncan et al. (1989) fizeram alusão aos efeitos de secagem sob temperatura controlada e fluxo de ar. Eles concluíram que um processo de duas fases no qual as amêndoas são ventiladas primeiro em condições ambientes até cerca de 20% de umidade em base úmida (b.u), seguido por secagem a 60 °C, até 7,5 % de umidade, traz características ao cacau que se aproxima as das amostras naturalmente secas ao sol. Enquanto que a secagem contínua a 60 °C resulta em amêndoas de fraca qualidade.

Em um outro trabalho (FABORODE; OMOTADE, 1994), confirmaram a similaridade do processo tradicional de secagem sol a um tipo de secagem com período de repouso, concluindo que um processo de descanso intermitente, ocasionado pelo anoitecer, ajuda na realização das reações bioquímica de degradação e escurecimento que ocorrem durante a secagem.

No Brasil, a secagem é realizada predominantemente em plataformas de madeira, denominadas barcaças, onde as sementes são espalhadas e frequentemente revolvidas para propiciar uniformização e redução da umidade e para a remoção de compostos indesejáveis formados durante a fermentação, como por exemplo o ácido acético (GARCIA, 1985).

Em dias de chuva ou quando o espaço disponível nas barcaças não é suficiente para comportar o volume de produção, tem-se como alternativa a secagem artificial. Em lugares onde a colheita coincide com épocas chuvosas, a secagem artificial é extremamente importante (LAJUS, 1982).

De acordo com Passos et al. (1984), o tipo de secagem influencia a acidez das amêndoas, sendo que, na secagem natural, a perda da acidez, tanto volátil quanto total, é maior em comparação com a secagem realizada por processos artificiais.

A secagem artificial, geralmente mais rápida, pode gerar alguns problemas. As enzimas do interior das sementes se inativam rapidamente por falta de umidade antes que diversas reações não tenham sido concluídas. Até certo ponto, isso pode ser resolvido se for assegurado que as reações químicas ocorreram durante os primeiros dias da secagem. O segundo problema é que a fumaça pode penetrar no interior das sementes resultando em um sabor desagradável no chocolate, pois, a consequência dessa contaminação não pode ser eliminada no processamento do chocolate. Essa é a razão porque o cacau de algumas áreas tem menor demanda e conseqüentemente preços mais baixos (BECKETT, 1994).

Jinap, Thien e Yap (1994) avaliaram o efeito da secagem na acidez e no teor de ácidos graxos voláteis em amêndoas de cacau, não sendo observadas, por equipe de provadores treinada, diferenças sensoriais significativas entre os produtos obtidos da secagem natural e artificial. De acordo com Faborode, Favier e Ajayi (1995), a secagem natural, ao sol, permite que se obtenham produtos de melhor qualidade sensorial. São escassos os trabalhos que tenham avaliado a influência do tipo de secagem sobre a perda de compostos fenólicos. Na figura 06 vemos alguns modelos de secadores de cacau.

Figura 06. Secadores de cacau



Fonte: Próprio autor

2.4.2 Compostos fenólicos e a secagem

Seja qual for o processo, as condições de secagem podem favorecer fenômenos oxidativos que contribuem, em conjunto com a polimerização, as reações que formam novos compostos, implicando na redução de notas sensoriais negativas e o desenvolvimento da cor “marrom” peculiar do chocolate. Como o efeito dos compostos fenólicos, é importante perceber que na secagem há uma redução dos percentuais de epicatequina e catequina, dependendo do processo adotado (de BRITO, et al 2000.; PAYNE, et al. 2010).

É escassa na literatura informações sobre o efeito da fermentação e secagem no perfil das procianidinas, na polimerização de monómeros a oligómeros e polímeros, e

também em algumas propriedades funcionais, tais como a diminuição da atividade antioxidante (AIKPOKPODION; DONGO, 2010).

Durante a etapa de secagem, ocorre à diminuição do teor de polifenóis, atribuída ao escurecimento enzimático causado pela enzima polifenoloxidase, que, nessa etapa, encontra condições ideais para sua atividade. Posteriormente, ocorre o escurecimento não enzimático decorrente da polimerização de quinonas formadas durante a fermentação e da acumulação de compostos insolúveis (BRITO, 2000).

Kyi et al. (2005) determinaram a cinética da reação de oxidação de polifenóis em amêndoas de cacau durante a secagem em temperaturas variando entre 40 e 60 °C e em umidades entre 50 e 80%. Os autores verificaram que, quanto maior a temperatura e a umidade, maior a oxidação dos polifenóis presentes no cacau.

A diminuição do teor de compostos fenólicos totais durante as etapas de fermentação e secagem está relacionada à formação do sabor desejável do chocolate; ou seja, a degradação dos compostos fenólicos, seja por complexação com as proteínas ou por modificação bioquímica, é uma das responsáveis pelo desenvolvimento do sabor desejável do chocolate (HANSEN; DEL OLMO; BURRI, 1998; EFRAIM, 2004).

2.5 Armazenamento

Além da importância das etapas de fermentação e secagem à qualidade dos produtos obtidos, as condições de estocagem das amêndoas devem ser observadas, evitando-se o armazenamento de grandes volumes em ambientes com elevada umidade e pouca circulação de ar, uma vez que as amêndoas de cacau são higroscópicas e seu ganho de umidade pode levar ao desenvolvimento de fungos e outros microrganismos indesejáveis (BECKETT, 1994).

Esta etapa assume importância devido ao longo tempo em que o cacau pode permanecer armazenado. Começa na fazenda produtora em sacos de aniagem de 60 kg por cerca de 30 dias, fica nas cooperativas vários meses e nos armazéns dos portos por cerca de 15 dias. A amêndoa armazenada deve ter 7% de umidade e estar em equilíbrio com a umidade relativa do ar (70%) (OETERRER, 2006). Segundo Serra (2004) as instalações destinadas ao armazenamento do cacau devem possuir luminosidade e aeração adequadas.

2.6 Torração

As amêndoas fermentadas e secas são submetidas à etapa de limpeza para remoção de sujidades mais grosseiras. Em seguida podem ser submetidas diretamente à torração ou quebradas em pequenos fragmentos, denominados *nibs*, que devem ser separados da testa e do gérmen previamente à torração. A torração é fundamental na obtenção das características de qualidade do chocolate (KLEINERT, 1994). Em condições ótimas, há o desenvolvimento máximo do potencial aromático da amêndoa (ZAMALLOA, 1994).

Segundo Brito (2000), as condições de torração dependem de vários fatores: origem e tipo de amêndoa, período de colheita, tratamentos anteriores à torração, umidade, tamanho das amêndoas e dos *nibs*. Após a torração, o material deve ser moído para a obtenção da massa de cacau, também conhecida como líquor, a qual é prensada obtendo-se, assim, a manteiga de cacau e a torta, sendo que esta última origina o cacau em pó natural. Esses produtos são as principais matérias-primas utilizadas na fabricação de chocolates e produtos à base de cacau.

2.7 Obtenção do chocolate

O chocolate pode ser definido como uma suspensão de partículas sólidas (açúcar, sólidos de cacau e sólidos de leite) em uma fase gordurosa contínua, que também contribui para o aroma, sabor, cor, além de promover forma ao produto final (VISSOTO, et al., 1999). O processo tradicional de fabricação envolve as seguintes etapas: mistura dos ingredientes, refino, conchagem, temperagem, moldagem, resfriamento, desmoldagem e embalagem. A mistura consiste na homogeneização dos ingredientes em pó (açúcar, leite em pó) com os ingredientes líquidos e semi- líquidos (manteiga de cacau e líquor de cacau fundidos), por tempo suficiente para os transformarem em uma massa plástica, adequada para o refino. Essa etapa é feita, em geral, em equipamentos encamisados a 40°C para garantir que a manteiga de cacau permaneça fundida (EFRAIM, 2004).

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

Durante a conchagem, ocorre a volatilização de compostos indesejáveis

formados durante a fermentação das sementes de cacau (por exemplo ácido acético), a diminuição da umidade proveniente dos ingredientes e a formação de aromas desejáveis por reações como a de *Maillard*.

Nesta etapa, são necessários o cisalhamento, a agitação e o aquecimento da massa entre 50 e 70°C, dependendo do tipo de chocolate desejado (ao leite, branco ou amargo). Quanto maior o tempo de conchagem, maior é a formação do sabor desejável do chocolate. Por isso, no método tradicional, esta etapa pode levar de 8 a 96 horas, dependendo do tipo de produto que se deseja e do equipamento utilizado (BECKETT, 1994).

A qualidade do chocolate é avaliada por meio de suas características químicas, físicas, físico- químicas e sensoriais (BECKETT, 1994).

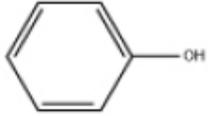
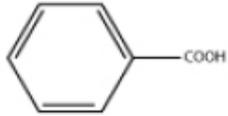
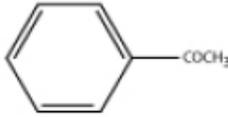
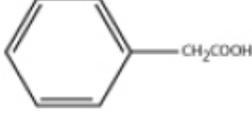
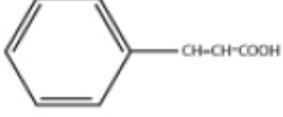
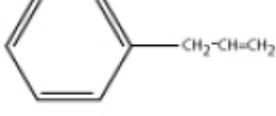
3.0 Polifenóis do cacau e a Saúde

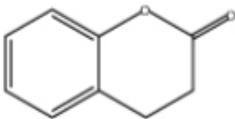
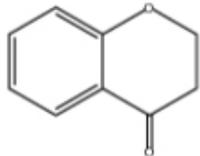
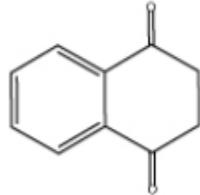
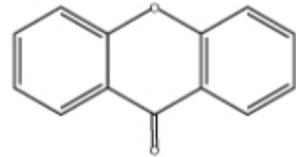
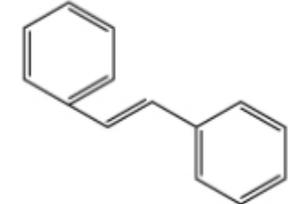
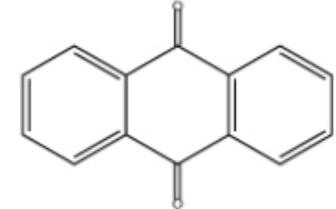
Os polifenóis são uma classe de compostos fenólicos que ocorrem em frutas, vegetais, sementes, flores, bebidas e alguns alimentos industrializados, como componente de um ingrediente natural que foi adicionado. Constituem um dos mais numerosos e largamente distribuídos grupos de substâncias do reino das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

Polifenóis são micronutrientes presentes nas plantas e na nossa dieta, sendo o chocolate uma boa fonte. Estas substâncias são metabólitos secundários das plantas e estão envolvidas na proteção contra radiação UV e ataque de patógenos (MANACH, 2004). É sabido do papel de polifenóis na prevenção de várias doenças associadas com estresse oxidativo, como câncer, doenças cardiovasculares e neurodegenerativas. Estas moléculas modulam a atividade de uma grande gama de enzimas e receptores celulares (MIDDLETON, 2000), são sequestradores de radicais livres (BORS, 1994) e quelam metais de transição (KORKINA; AFANAS'EV, 1997). Além da atividade antioxidante, polifenóis tem diversas outras atividades biológicas ainda não entendidas (MANACH, 2004).

Os polifenóis podem ser divididos em pelo menos 10 diferentes classes de compostos, dependendo de sua estrutura básica. A figura 7 ilustra a estrutura química básica dos principais compostos polifenólicos.

Figura 7: Ilustração da estrutura química básica dos principais compostos polifenólicos.

Classe	Esqueleto básico	Estrutura básica
Fenóis simples	C_6	
Benzoquinonas	C_6	
Ácidos fenólicos	$C_6 - C_1$	
Acetofenonas	$C_6 - C_2$	
Ácidos fenilacéticos	$C_6 - C_2$	
Ácidos hidroxicinâmicos	$C_6 - C_3$	
Fenilpropanonas	$C_6 - C_3$	

Classe	Esqueleto básico	Estrutura básica
Coumarinas, isocoumarinas	$C_6 - C_3$	
Cromonos	$C_6 - C_3$	
Naftoquinonas	$C_6 - C_4$	
Xantonas	$C_6 - C_1 - C_6$	
Stilbenos	$C_6 - C_2 - C_6$	
Antraquinonas	$C_6 - C_2 - C_6$	
Flavonóides	$C_6 - C_3 - C_6$	
Lignanas, neolignanas	$(C_6 - C_3)_2$	
Ligninas	$(C_6 - C_3)_n$	

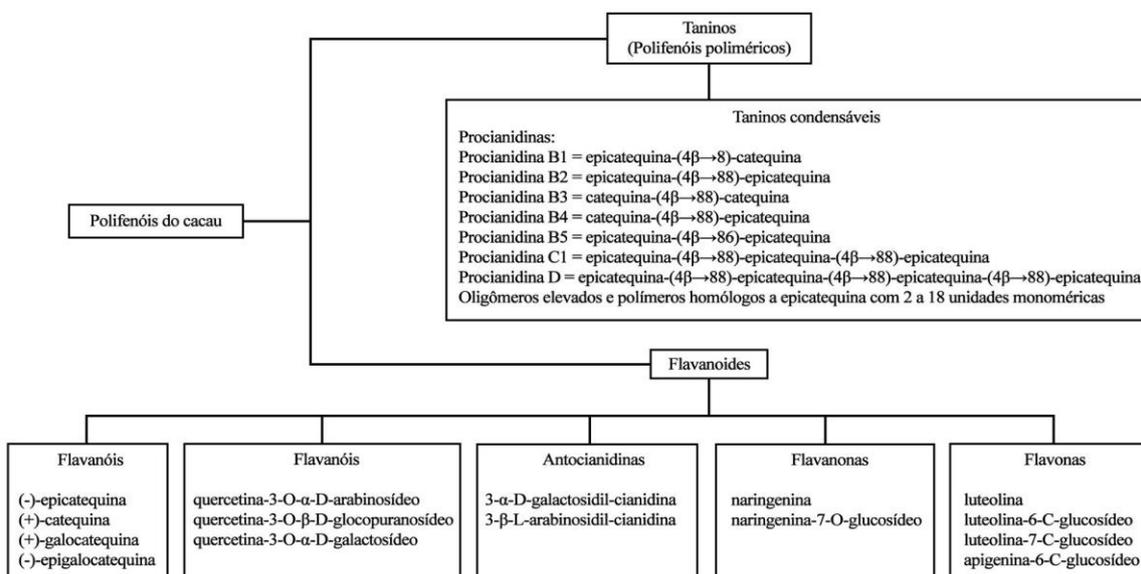
Fonte: BRAVO (1998).

O cacau tem um longo histórico de utilização como alimento e como medicamento (KWIK-URIBE, 2005). Os europeus, no século XVI, utilizavam o cacau e o chocolate (líquido) como veículos de medicamentos, além de serem considerados por si só como medicamentos. Na forma isolada ou em combinação com ervas, plantas e outros suplementos alimentares, o cacau e o chocolate eram utilizados no tratamento de doenças, como desordens digestivas, dores de cabeça, inflamações e insônias (KWIK-URIBE, 2005).

Os teores de polifenóis em cacau podem variar de acordo com a origem geográfica, a variedade da planta, o clima, o tipo de solo e a região de plantio (fatores agrônômicos e ambientais). As diferentes etapas da transformação do cacau em chocolate também podem influenciar no teor de polifenóis dos produtos finais (fatores de processo) (RAMIREZ-SANCHEZ et al., 2010).

Os compostos fenólicos do cacau estão dentro das classes dos taninos e dos flavonóides. Estes estão subdivididos de acordo com a figura 8.

Figura 8. Principais polifenóis encontrados nas sementes de cacau.



Fonte: Porter et al. (1991); Sanbongi et al. (1998); Sanchez- Rabaneda et al. (2003); Counet et al. (2006)

Há um crescente número de estudos que comprovam os benefícios à saúde propiciados pelos flavonoides na prevenção e na atenuação do risco de contração de determinadas doenças.

Mao et al. (2000) demonstraram a elevada atividade antioxidante *in vitro* das procianidinas do cacau, tanto na fase de indução (atuando como antioxidante preventivo), como na fase de propagação (atuando como antioxidante de quebra de cadeias) da peroxidação de lipídios. Os mesmos compostos mostraram-se capazes, ainda, de retardar o ataque de lipídios durante a fase de quebra das reações de pró-oxidação, inibindo totalmente a formação de produtos de degradação. Esses efeitos foram observados mesmo em concentrações submicromoleculares, indicando que as procianidinas do cacau podem atuar como inibidoras de inflamações agudas. Dados apresentados por Steinberg et al. (2003) coletados a partir de outros estudos demonstraram que a capacidade antioxidante das procianidinas de cacau e derivados foi maior em comparação com outros alimentos.

A quantidade de procianidinas no cacau e em seus produtos derivados depende de muitos fatores, como a matéria-prima, a variedade do cacau, a forma de manejo na pós-colheita e no pré-processamento, como fermentação, secagem e torração (WOLLGAST; ANKLAM, 2000; RUSCONI; CONTI, 2010).

Um crescente número de estudos tem evidenciado diversos efeitos benéficos à saúde proporcionados pelos flavonoides, na prevenção e atenuação do risco de determinadas doenças, especialmente em relação à saúde cardiovascular (SANBONGI et al., 1998; WOLLGAST; ANKLAN, 2000; MAO et al., 2000; REIN et al., 2000; STEINBERG; BEARDEN; KEEN, 2003; VINSON et al., 2006), prevenção de cânceres (WEISBURGER; WILLIAMS, 2000), atividade anti-inflamatória (SIES et al., 2005), e melhoria das funções endoteliais e das funções vasculares (GRASSI et al., 2005; HEISS et al., 2007). Grande parte dos benefícios à saúde que vêm sendo comprovados através do consumo de derivados de cacau resulta da presença de procianidinas (WOLLGAST; ANKLAM, 2000; STEINBERG et al., 2003).

As sementes de cacau possuem de 6 a 8% de compostos fenólicos, em peso seco, sendo 60% (+)-catequina, (-)-epicatequina e procianidinas (ZUMBÉ, 1998; BRITO, 2000). Em sementes de cacau não fermentadas *in natura*, a quantidade de (-)-epicatequina é vinte vezes maior que a de (+)-catequina (KWIK-URIBE, 2005), enquanto que, no chocolate, observa-se teor ao redor de seis vezes maior (KEEN, 2001).

De acordo com Schroeter et al. (2006), a epicatequina é o componente ativo do cacau responsável pelos efeitos benéficos à saúde vascular a ele associados.

Em estudos realizados *in vivo* em humanos, as catequinas foram responsáveis pelo aumento da atividade antioxidante, diminuição de malonaldeído e peróxido lipídico no plasma, aumento das concentrações de ascorbato no plasma, diminuição da absorção de ferro não-heme e aumento da resistência do LDL-colesterol à oxidação (WILLIAMSON; MANACH, 2005).

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

4.0 Atividade antioxidante e métodos de medida da atividade

Espécies reativas de oxigênio podem ser uma causa importante de um número de doenças humanas, incluindo câncer e arterosclerose, assim como o processo de envelhecimento (CUTLER, 1991). Deste modo, os mecanismos, tais como antioxidantes, que tem a função de controlar o estresse oxidativo, representam uma grande linha de defesa do estado geral de saúde. O soro humano contém muitos antioxidantes diferente que podem ser importantes para a saúde. Estes incluem a vitamina C, tocoferol, caroteno, ácido úrico, bilirrubina, albumina e outros antioxidantes que parecem ser menos importantes, e, talvez, outros ainda não estão identificados.

Hoje existe um grande interesse no estudo dos antioxidantes devido, principalmente, às descobertas sobre o efeito dos radicais livres no organismo (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006). Radicais livres, ou espécies reativas de oxigênio (ERO) e nitrogênio (ERN), podem ser definidas como moléculas ou fragmentos moleculares que contêm um ou mais elétrons não pareados (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007). O elétron livre favorece a recepção de outras moléculas, o que torna os radicais livres extremamente reativos.

As espécies reativas são produtos do metabolismo celular e desempenham um papel dual, como espécies tanto benéficas quanto prejudiciais aos sistemas biológicos (VALKO et al., 2006; 2007). Os efeitos benéficos ocorrem em concentrações baixas ou moderadas de radicais livres e envolvem funções fisiológicas, tais como a defesa contra

agentes infecciosos e participação nos sistemas de sinalização celular. Já os efeitos danosos decorrem da superprodução de ERO/ERN (VALKO et al., 2007).

Pesquisas sobre antioxidantes aumentaram consideravelmente nos últimos anos, assim como o número de métodos propostos para medir a atividade antioxidante (PRIOR; WU; SCHAICH, 2005). Entretanto, muitos antioxidantes naturais são multifuncionais e sua atividade em alimentos heterogêneos não pode ser avaliada por um único método (FRANKEL; MEYER, 2000).

Na determinação da atividade antioxidante são utilizadas duas abordagens: a direta e a indireta. Quando métodos indiretos são aplicados, estuda-se a habilidade do antioxidante em capturar radicais livres, o que não necessariamente corresponde a real degradação oxidativa, embora em alguns casos a doação de átomos de hidrogênio (ou elétrons) correlacione-se com a atividade antioxidante. Já os métodos diretos baseiam-se no estudo do efeito que um alimento contendo antioxidantes é capaz de induzir na degradação oxidativa de um sistema em análise (ROGINSKI; LISSI, 2005).

O radical orgânico DPPH tem sido amplamente utilizado em estudos para a determinação da atividade antioxidante em alimentos (YAMAGUCHI et al., 1998), constituindo um método simples e rápido, que não requer reagentes caros ou equipamentos sofisticados (BRAND-WILLIAMS; CUVELIER; BERSET, 1995; KOLEVA et al., 2002). Recentemente, aproximadamente 90% dos estudos sobre atividade antioxidante utilizaram este método, em conjunto a outros (MOON; SHIBAMOTO, 2009).

O DPPH é um radical orgânico nitrogenado, livre e estável, comercialmente disponível. O método baseia-se na redução de soluções alcoólicas do radical DPPH• na presença de um antioxidante doador de elétron ou hidrogênio, formando um composto estável. A capacidade antioxidante é proporcional ao desaparecimento do radical DPPH• nas amostras analisadas. No decorrer da reação, a coloração violeta do meio passa a amarela, e a capacidade antioxidante é fácil de ser avaliada pelo monitoramento do decréscimo da absorbância a 517nm (MOON; SHIBAMOTO, 2009).

Apesar das vantagens, este método também apresenta limitações, como o uso de quantidades significativas de reagentes, padrões e amostras; número limitado de análises simultâneas e impossibilidade de avaliação da atividade de antioxidantes hidrofílicos, uma vez que o radical é dissolvido em solventes orgânicos (principalmente alcoóis) e não em meio aquoso (ARNAO, 2000; DUARTE-ALMEIDA et al., 2006).

Os resultados podem ser expressos em porcentagem de atividade antioxidante, micromols de equivalente do padrão utilizado ou como EC50, o qual expressa à quantidade de antioxidante ou amostra necessária para reduzir a concentração inicial de radical livre do meio em 50% (BRAND-WILLIAMS; CUVELIER; BERSET, 1995).

O Índice Oxygen Radical Absorbance Capacity, ou capacidade de absorção dos radicais oxigenados (ORAC), é um método de quantificação das capacidades antioxidantes nas amostras biológicas. Essa metodologia tem sido testada em uma grande variedade de alimentos (OU El al., 2011). Nesse método, verifica-se a capacidade sequestradora das frações hidrofílicas e lipofílicas de um antioxidante frente a um radical peroxila induzido pelo AAPH (2, 2'-azobis (2-methylpropionamidine) dihydrochloride) à 37°C, onde o radical peroxila reage com a fluoresceína formando um produto não fluorescente (PRIOR et al., 2003).

A amostra antioxidante adicionada reage rapidamente com os radicais, doando átomos de hidrogênio e inibindo a perda da intensidade da fluorescência, sendo portanto um método competitivo. A fluoresceína demonstra uma excelente fotoestabilidade, além de não interagir com os antioxidantes (PRIOR et al., 2003).

O método de redução do ferro (FRAP) foi originalmente desenvolvido por Benzie e Strain (1996) para medir o poder de redução no plasma, mas a abordagem foi posteriormente adaptada para uso em antioxidantes de vegetais (PRIOR; WU; SCHAICH, 2005).

Quando um complexo Fe^{3+} - TPTZ (2, 4, 6-tripiridil-s-triazina) é reduzido a Fe^{2+} por um antioxidante em condições ácidas, desenvolve-se uma intensa coloração púrpura com absorção máxima a 593nm (MOON; SHIBAMOTO, 2009). Assim, a capacidade antioxidante pode ser avaliada pelo monitoramento da formação do complexo Fe^{2+} - TPTZ espectrofotometricamente.

Uma das limitações do método é que o sistema deve ser aquoso (MOON; SHIBAMOTO, 2009). Outra desvantagem é que o método não pode detectar compostos que agem por meio da doação de átomos de hidrogênio, particularmente tióis, como a glutatona, e proteínas, o que pode levar a subestimação da capacidade antioxidante (PRIOR; WU; SCHAICH, 2005). Entretanto, essa característica pode ser vantajosa, uma vez que a glutatona é encontrada em altas concentrações em alimentos, porém é degradada no intestino, sendo pouco absorvida pelos humanos (STAHL et al., 2002). Apesar das limitações, constitui-se em um método rápido, simples e que não requer

reagentes caros e equipamentos sofisticados (PRIOR; WU; SCHAICH, 2005; MOON; SHIBAMOTO, 2009).

O método de oxidação do β -caroteno/ácido linoléico avalia a atividade de inibição de radicais livres gerados durante a peroxidação do ácido linoléico. O método está fundamentado em medidas espectrofotométricas da descoloração (oxidação) do β -caroteno induzida pelos produtos de degradação oxidativa do ácido linoléico (MARCO, 1968; MILLER, 1971).

O β -caroteno é o mais abundante dos carotenoides e bastante utilizado em terapias. É quase completamente insolúvel em água, mas facilmente solúvel em ambientes hidrofóbicos e solventes pouco polares. Tem sido reportado nos últimos 30 anos que o β -caroteno exibe alta reatividade com eletrófilos e oxidantes. Muitos estudos têm demonstrado que ele inibe a auto-oxidação de lipídios em tecidos biológicos e produtos alimentícios, porém poucos detalhes da cinética e mecanismo destas reações têm sido revelados (LARSON, 1997). Diversas técnicas têm sido utilizadas para determinar a atividade antioxidante *in vitro*, de forma a permitir uma rápida seleção de substâncias e/ou misturas potencialmente interessantes na prevenção de doenças crônico-degenerativas. Dentre estes métodos destaca-se o sistema de co-oxidação do β -caroteno/ácido linoleico, originalmente descrito por Marco (1968) e modificado por Miller (1971). Este método nos permite avaliar a capacidade de uma determinada substância prevenir a oxidação do β -caroteno, protegendo-o dos radicais livres gerados durante a peroxidação do ácido linoleico.

O método da co-oxidação empregando o sistema β -caroteno/ácido linoleico é um teste simples e sensível, e por não utilizar altas temperaturas permite a determinação da atividade antioxidante de substâncias termossensíveis, porém apresenta alguns inconvenientes. A utilização do meio emulsionado, por exemplo, interfere nos valores de absorvância causando baixa reprodutibilidade, e a interação do β -caroteno com o oxigênio proveniente do meio dificulta a interpretação dos resultados (GADEW et al., 1997).

REFERÊNCIAS

- AFOAKWA, E. O.; PATERSON, A.; FOWLER, M.; RYAN, A. Flavor formation and character in cocoa and chocolate: A critical review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 48, p. 840–857, 2008.
- AIKPOKPODION, P. E.; DONGO, L. N. Effect of fermentation intensity on polyphenols and antioxidant capacity of cocoa beans. **International Journal of Sustainable Crop Production**, v. 5 n. 4, p. 66–70, 2010.
- ALVES, A. B.; BRAGAGNOLO, N. Determinação simultânea de teobromina, teofilina e cafeína em chás por cromatografia líquida de alta eficiência. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 38, n. 2, 2002.
- ARNAO, M. B. Some methodological problems in the determination of antioxidant activity using chromogen radicals: A practical case. **Trends in Food Science and Technology**, 11, 419–421, 2000.
- BECKETT, S. T. **Industrial Chocolate Manufacture and Use**, (2 ed.) London: Black Academic e Professional, p. 407, 1994.
- BECKETT, S. T. **Fabricación y utilización industrial del chocolate**. Zaragoza: Editorial Acribica, p. 432, 1994.
- BECKETT, S. T. **Industrial Chocolate Manufacture and Use**. ed. 4, London: Wiley-Blackwell. p.720, 2009.
- BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. Ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: The FRAP assay. **Analytical Biochemistry**, v. 239, p. 70-76, 1996.
- BORS, W., MICHEL, C.; SARAN, M. Flavonoids antioxidants: rate constants for reactions with oxygen radicals. **Methods Enzymol**, v. 234, p.420-429, 1994.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT- Food Science and Technology**, v. 28, p. 25-30, 1995.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira. Brasília, Melhoria da Qualidade do Cacau, 2011.
- BRAVO, L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance. New York. **Nutrition Reviews**, v. 56, n. 11, p. 317-333, 1998.
- BRITO, E.S. **Estudo de mudanças estruturais e químicas produzidas durante a**

fermentação, secagem e torração de amêndoas de cacau (Theobroma cacao L.) e propostas de tratamento para o melhoramento de sabor. Campinas, 2000. Tese (Doutor em Tecnologia de Alimentos)- Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, 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.

COHEN, K. O.; SOUSA, M. V.; JACKIX, M. N. H. **Determinação de parâmetros reológicos em chocolate ao leite em produtos análogos elaborados com liquor e gordura de cupuaçu.** In: SIMPÓSIO LATINO AMERICANO DE CIÊNCIA DE ALIMENTOS, 8., 2009, Campinas. Anais: ciência de alimentos no mundo globalizado: novos desafios, novas perspectivas. Campinas: Unicamp, 2009

COMISSÃO EXECUTIVA DO PLANO DE RECUPERAÇÃO DA LAVOURA CACAUEIRA. Estatística do cacau na Bahia. Ilhéus: CEPLAC/CENEX, p. 1, 2005.

COUNET, C.; CALLEMIEN, D.; COLLIN, S. Chocolate and cocoa: New sources of trans-resveratrol and trans-piceid. **Food Chemistry**, Barking, v. 98, n. 4, p. 649-657, 2006.

CRESPO, S. Judging the quality of cocoa beans. **The Manufacturing Confectioner**, v. 4, n. 5, p. 59-64, 1985.

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

CULTER, R. G. Human longevity and aging: possible role of reactive oxygen species. **Head Science**, v. 1, p. 621, 1991.

CUNHA, J.; SERÔDIO, R.S. Tecnologia disponível para o beneficiamento e armazenamento do cacau. Ilhéus: CEPLAC-CEPEC, p. 45, 1991.

DAVID, P. J.; BARREIROS, L. B. S. A.; DAVID, M. J. Estresse oxidativo: Relação entre Geração de Espécies Reativas e Defesa do Organismo. **Química Nova**, v. 29, n. 1, p. 113-123, 2006.

DUARTE-ALMEIDA, J. M.; SANTOS, R. J.; GENOVESE, M. I.; LAJOLO, F. M.; **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Brasil, v. 26, p. 446, 2006.

DUNCAN, R. J. E.; GODFREY, G.; YAP, T. N.; PETTIPHER, G. L.; THARUMARAJAH, T. Improvement of Malaysian cocoa bean flavour by modification of harvesting, fermentation and drying methods. **Cocoa Growers' Bulletin**, v. 42, p. 43–57, 1989.

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

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

FABORODE, M. O.; FAVIER, J. F.; AJAYI, O. A. On the Effects of Forced Air Drying on Cocoa Quality. **Journal of food engineering, Newcastle**, n. 25, p. 455-472, 1995.

FABORODE, M. O.; OMOTADE, S. A. Effects of drying and rewetting on some physical properties of cocoa beans. **Journal of Agriculture, Science and Technology**, v. 3, p. 125-131, 1995.

FRANKEL, E. N. e MEYER, A. S. The problems of using one-dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. v. 80, p. 1925-1941, 2000.

GADEW, A.; JOUBERT, E.; HANSMANN, C. F.; *J. Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 45, p. 632, 1997.

GARCIA, J. J. S. **Beneficiamento, armazenamento e padronização do cacau. Sistema de produção do cacau na Amazônia Brasileira**. Belém: CEPLAC, 1985. p. 86-104. (cap. 9).

GRASSI, D.; LIPPI, C.; NECOZIONE, S.; DESIDERI, G, FERRI, C. Short-term administration of dark chocolate is followed by a significant increase in insulin sensitivity and a decrease in blood pressure in healthy persons. **The American Journal of Clinical Nutrition**. v. 8, p. 611–614, 2005.

GUYTON, B. Commodities – Cocoa Review. Issues, trends and performance of the chocolate and confectionery industries, New York, p. 40, 2003.

HALLIWELL B. e GUTTERIDGE J. Biochemistry of oxidative stress. Singapore. **Biochemical Society Transactions**, v. 35, p. 5, 2007.

HANSEN, C. E.; del OLMO, M.; BURRI, C. Enzyme activities in cocoa beans during fermentation. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 77, n. 2, p. 273-281, 1998.

HEISS, C.; FINIS, D.; KLEINBONGARD, P.; HOFFMANN, A.; RASSAF, T.; KELM, M.; SIES, H. Sustained increase in flowmediated dilation after daily intake of high flavanol cocoa drink over one week. **Journal of Cardiovascular Pharmacology**, New York, v. 49, n. 2, p. 74-80, 2007.

HUANG, Y.; BARRINGER, S. A. Alkylpyrazines and Other Volatiles in Cocoa Liquors at pH 5 to 8, by Selected Ion Flow Tube-Mass Spectrometry (SIFT-MS). **Journal of Food Science**, v. 75, n. 1, 2010.

ICCO International Cocoa Organization), Produção Mundial de cacau. Disponível em: <http://www.icco.org/>. Acesso em fev. 2015.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE), **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola 2012**. Disponível em: <ftp://ftp.ibge.gov.br>. Acesso em: fev. de 2015.

IVAN PEREIRA. **Viabilidade da utilização da casca de cacau como combustível no aquecimento de ar para a secagem de amêndoas de cacau. 2013**. Tese (Doctor Scientiae) Faculdade de Engenharia Agrícola, UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA, Viçosa.

JALIL, A.M.M.; ISMAIL, A. Polyphenols in Cocoa and Cocoa Products: Is There a Link between Antioxidant Properties and Health? **Molecules, Malaysia**, n. 13, p. 2190-2219, 2008.

JINAP, S.; THIEN, J.; YAP, T. N. Effect of drying on acidity and volatile fatty acids content of cocoa beans. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 65, n. 1, p. 67-75, 1994.

KLEINERT, J. Cleaning, roasting and winnowing. In: BECKETT, S.T. **Industrial Chocolate Manufacture and Use**, 2ed., p. 55-69. London: Black Academic & Professional, 1994.

KEEN, C. L. Chocolate: food as medicine/medicine as food. New York. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 20, p. 436S-439S, 2001.

KOLEVA, I. I.; VAM BEEK, T. A.; LINSSEN, J. P. H.; de GROOT, A.; EVSTATIEVA, L. N. Screening of plant extracts for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods. **Phytochemical Analysis**, v. 13, p. 8-17, 2002.

KORKINA, L. G.; AFANAS, E. V. Antioxydant and chelating properties of flavonoids. **Antioxydant Disease Mechanisms and Therapy**, 1997.

KWIK-URIBE, C. Potential Health Benefits of Cocoa Flavanols. Princeton. **The Manufacturing Confectioner**, v. 85, n. 10, p. 43-49, 2005.

KYI, T. M.; WAN, W. D.; ABU, M.; MOHD, S.; ABDUL, H. K.; MEOR, M. T. The kinetics of polyphenol degradation during the drying of Malaysian cocoa beans. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 40, p. 323-331, 2005.

LAJUS, B. **Estudo de alguns aspectos da tecnologia do cacau**. 1982. p. 85 Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo USP, São Paulo.

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

- LARSON, R. A. *Naturally Occurring Antioxidants*, New York. **Lewis Publishers**, p. 1, 1997.
- LOPEZ, A.; QUESNEL, V. C. Volatile fatty acid production in cacao fermentation and the effect on chocolate flavour. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 24, n. 3, p. 319-324, 1973.
- LOPES, A. S. **Estudo químico e nutricional de amêndoas de cacau (*Theobroma cacao L.*) e cupuaçu (*Theobroma grandiflorum S.*) em função do processamento**. Campinas, 2000. p. 112. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Engenharia de Alimentos. Universidade Estadual de Campinas, 2000.
- LOPES, U. V.; MONTEIRO, W. R.; PIRES, J. L.; CLEMENT, D.; YAMADA, M. M.; GRAMACHO, K. P. Cacao breeding in Bahia, Brazil - strategies and results. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 1, p. 73-81, 2011.
- LUCCAS, V. **Fracionamento térmico e obtenção de gorduras de cupuaçu alternativas a manteiga de cacau para uso na fabricação de chocolate**. Tese (Doutorado em Engenharia Química). Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas – SP, p. 188, 2001.
- MAO, T. K.; POWELL, J. W.; KEEN, C. L.; SHIMITZ, H. H; HAMMERSTONE, J. F.; GERSHWIN, M. E. The effect of cocoa procyanidins on the transcription and secretion of interleukin 1 β in peripheral blood mononuclear cells. **Life Sciences, Elmsford**, v. 66, n. 15, p. 1377-1386, 2000.
- MANACH, C. Polyphenols: food sources and bioavailability. **The American Journal of Clinical Nutrition**. v. 79, p. 727-47, 2004.
- MARCO, G. A. Rapid method for evaluation of antioxidants. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 45, p. 594- 598, 1968.
- MARTINI, M. H. **Caracterização das sementes de seis espécies de *Theobroma* em relação ao *Theobroma cacao L.*** Tese (Doutorado em Alimentos e Nutrição). Faculdade de Engenharia de Alimentos. Universidade Estadual de Campinas. Campinas – SP, 2004.
- MIDDLETON, E. KANDASWAMI, C. THEOHARIDES, T. C. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. **Pharmacology**. v. 52, p. 673-751, 2000.
- MILLER, H.E. A simplified method for the evaluation of antioxidant. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 48, p. 91, 1971.
- MISNAWI; JINAP, S.; JAMILAH, B.; NAZAMID, S. Changes in polyphenol ability to produce astringency during roasting of cocoa liquor. **Journal of Science of Food and Agriculture**, v. 85, p. 917-924, 2005.

MOON, J. K.; SHIBAMOTO, T. Antioxidant assays for plant and food components. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 57, p. 1655–1666, 2009.

NOOR-SOFFALINA, S S; JINAP, S; NAZAMID, S; NAZIMAH, S A H. Effect of polyphenol and pH on cocoa Maillard-related flavour precursors in a lipidic model system. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 44, p. 168-80, 2009.

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

ORTEGA, N.; ROMERO, M. P.; MACIA, A.; REGUANT, J.; ANGLKES, N.; MORELLO, J.R. Obtention and characterisation of phenolic extracts from different cocoa sources. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 56, p. 9621-9627, 2008.

OU, B.; HUANG, D.; HAMPSCH-WOODILL, M.; FLANAGAN, J. A.; DEEMER, E. K. Analysis of Antioxidant Activities of Common Vegetables Employing Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) and Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) Assays: A Comparative Study. Massachusetts. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, n. 50, p. 3122-3128, 2002.

PARENTE, V.M.; OLIVEIRA. JR.A.R.; COSTA, A.M. **Projeto Potencialidades Regionais Estudo de Viabilidade Econômica – Cacau**. Disponível em: <http://www.suframa.gov.br>. Acesso em: jan. 2015.

PASSOS, F. M. L. et al. Characterization and Distribution of Lactic Acid Bacteria from Traditional Cocoa Bean Fermentations in Bahia. **Journal of Food Science**, v. 49, n. 1, p. 205-208, 1984.

PAYNE, M. J.; HURST, W. J.; MILLER, K. B.; RANK, C.; STUART, D. A. Impact of fermentation, drying, roasting and Dutch processing on epicatechin and catechin content of cocoa beans and cocoa ingredients. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, p. 10518-10527, 2010.

PORTER, L. J.; MA, Z.; CHANG, G. Cacao procyanidins: major flavonoids and identification of some minor metabolites. **Phytochemistry**, New York, v. 30, n. 5, p. 1657-1663, 1991.

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

PRIOR, R. L., HOANG, H., GU, L., WU, X., BACCHIOCCA, M., HOWARD, L., et al. Assays for hydrophilic and lipophilic antioxidant capacity (oxygen radical absorbance capacity (ORAC(FL))) of plasma and other biological and food samples. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 51, p. 3273–3279, 2003.

PRIOR, R. L.; WU, X.; SCHAICH, K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 53, p. 4290-4302, 2005.

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. 280-98, 2006.

RAMIREZ-SANCHEZ, I.; MAYA, L.; CEBALLOS, G.; VILLARREAL, F. Fluorescent detection of (-)-epicatechin in microsamples from cacao seeds and cocoa products: Comparison with FolinCiocalteu method. *Journal of Food Composition and Analysis*, San Diego, v. 23, n. 8, p. 790-793. 2010.

REIN, D.; PAGLIERONI, T. G.; WUN, T.; PEARSON, D. A.; SCHMITZ, H. H.; GOSSELIN, R.; KEEN, C. L. Cocoa inhibits platelet activation and function. *American Journal of Clinical Nutrition*, Bethesda, v. 72, n. 1, p. 30-35, 2000.

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

ROGINSKI, V.; LISSI, E.A. Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. **Food Chemistry**. v. 92, p. 235-254, 2005.

ROHAN, T. A.; STEWART, T. The precursors of chocolate aroma: production of reduction sugars during fermentation of cocoa beans. **Journal of Food Science**, v. 32, n. 4, p. 399-402, 1967.

RUSCONI, M.; CONTI, A. *Theobroma cacao* L., the Food of the Gods: A scientific approach beyond myths and claims. **Pharmacological Research**, v. 61, p. 05–13. 2010.

SANBONGI, C.; OSAKABE, N.; NATSUME, M.; TAKIZAWA, T.; GOMI, S.; OSAWA, T. Antioxidative polyphenols isolated from *Theobromacacao*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Washington, v. 46, n. 2, p. 454-457, 1998.

SANCHEZ-RABANEDA, O.; JAUREGUI, I.; CASALS, C. ANDRÉS LACUEVA, C.; IZQUIERDO-PULIDO, M.; LAMUELA-RAVENTÓS, R. M. Liquid chromatographic/electrospray ionization tandem mass spectrometric study of the phenolic composition of cocoa (*Theobromacacao* L.). *Journal of Mass Spectrometry*, New York, v. 38, n. 1, p. 35-42, 2003.

SCHROETER, H.; HEISS, C.; BALZER, J. (-)-Epicatechin mediates beneficial effects of flavanol-rich cocoa on vascular function in humans. *Proceedings of the National Academy of Sciences (U.S.A)*, v. 103, p. 1024-1029, 2006.

SEBRAE, O mercado do cacau como oportunidade para os pequenos negócios, Brasília: Sebrae, 2014. Disponível em: www.sebrae14.com.br. Acesso em: março/2015.

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

SIES, H.; STAHL, W.; SEVANIAN, A. Nutritional, dietary and post-prandial oxidative stress. **Journal of Nutrition**, v. 135, p. 969-72, 2005.

SILVA NETO, P. J. da, MELO, A. C. G., SANTOS, M.M. dos. Sistema Agroflorestal do Cacaueiro (*Theobroma cacao* L.) e mogno (*Swietenia macrophylla* em Medicilândia, PA. In: Congresso Brasileiro em Sistemas Agroflorestais, 2, Belém. No contexto da qualidade ambiental e competitividade: resumos expandidos. Belém: EMBRAPA – CPATU, p. 107-108, 2008.

STAHL, A.; GIMENO, R. E.; TARTAGLIA, L. A.; LODISH, H. F. Fatty acid transport proteins: a current view of a growing family. **Trends Endocrinology Metabolism**, v. 12, p. 266-273, 2002.

STEINBERG, F. M.; BEARDEN, M. M.; KEEN, C. L. Cocoa and chocolate flavonoids: Implications for cardiovascular health. *Journal of the American Dietetic Association*, Chicago, v. 103, n. 2, p. 215-223, 2003.

SULISTYOWATI; MISNAWI. Effects of alkali concentration and conching temperature on antioxidant activity and physical properties of chocolate. *International Food Research Journal*, Malaysia, v. 15, n. 3, p. 297-304, 2008.

THORTON, P. The USA Chocolate Market – Current and Future. **The Manufacturing Confectioner**, n. 87, n.9, p. 35-40, 2007.

VALKO, M.; RHODES, C. J.; MONCOL, J. et al. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. **Chemico-Biological Interactions**, v. 160, p. 1–40, 2006.

VINSON, J.A. et al. Phenol antioxidant quantity and quality in foods: Fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.49, n.11, p.5315-21, 2001.

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

WEISBURGER, J. H. e WILLIAMS, G. M. The distinction between genotoxic and epigenetic carcinogens and implication for cancer risk. **Toxicology Science**, v. 49, p. 231-246, 2000.

WILLIAMSON, G.; MANACH, C. Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. II. Review of 93 intervention studies. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 81, p. 243S-255S, 2005.

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

WOOD, G.A.R. e LASS, R.A. **Cocoa. 4th ed.** Longman, New York, 1985.

YAMAGUCHI, T.; TAKAMURA, H.; MATOBA, T.; TERAOKA, J. HPLC method for evaluation of the free radical-scavenging activity of foods by using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl. **Bioscience. Biotechnology. Biochemistry**, v. 62, p. 1201– 1204, 1998.

ZUMBÉ, A. Polyphenols in cocoa: are there health benefits? BNF Nutrition Bulletin, London, v. 23, n. 1, p. 94-102, 1998.