

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS**

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E AVALIAÇÃO DE METIL
PIRAZINAS NO DESENVOLVIMENTO DO SABOR, EM DEZ
CULTIVARES DE CACAU (*Theobroma cacao L*) PRODUZIDOS NO ESTADO
DE SÃO PAULO**

Parecer

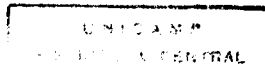
*Este exemplar corresponde a redação final
da tese defendida por Walter Alejandro Za-
malloa Cuba e aprovada pela Comissão
Julgadora em 16.05.94.*

WALTER ALEJANDRO ZAMALLOA CUBA ^{11/14}
Engenheiro Químico

PROF. Dr. NELSON HORACIO PEZOA GARCIA ^{11/14}
Orientador

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

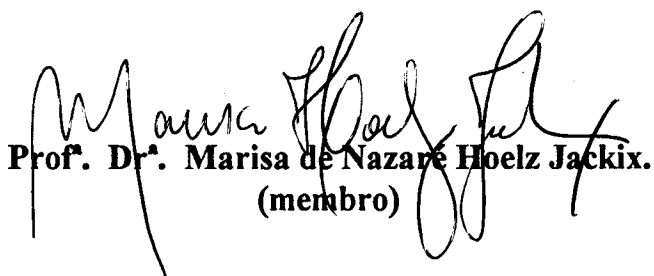
CAMPINAS 1994



BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Nelson Horacio Pezoa García
(orientador)



Prof. Dr.ª. Marisa de Nazare Hoelz Jackix.
(membro)



Prof. Dr.ª. Maria Regina Bueno Franco
(membro)



Prof. Dr.ª. Maria Aparecida A. P. da Silva
(membro)

Campinas, 16 de maio 1994.

**Quando objetivamos ideais
na dura luta da vida,
onde a vontade, o interesse e a integridade
moral primam como valores no homem,
somente graças ao esforço e ao apoio das
pessoas, bem como ao nosso próprio esforço
é que lograremos atingi-los.**

Dedico este trabalho

**A meu pai Carlos (*In memoriam*), minha
homenagem, por tudo que representou em vida,
exemplo de luta e amor.**

**À minha querida mãe Julia pelo amor
e dedicação incansável. Aos meus irmãos,
Zoila, Vilda, Humberto, Daniel e Hortensia,
pelo amor e compreensão em todos os momentos.
A Rosario minha esposa, a meus filhos Giuliana e Joseph
com muito amor pela dura espera e a meu tio Miguel Angel,
exemplo de bondade e trabalho**

**Ao amigo Angelo Bianchi (*In memoriam*)
exemplo de colaboração**

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Horacio Pezoa García, pela orientação desta tese, pelos conhecimentos e experiências transferidas e cujo apoio pessoal e amizade foram imprescindíveis na procura dos objetivos que em comum almejamos.

À Faculdade de Engenharia de Alimentos da UNICAMP, pela boa acolhida e pelas facilidades oferecidas

À Universidade Nacional do Altiplano-Puno-Perú e Faculdade de Engenharia Química pela licença concedida

Ao CAPES e FAEP pelo apoio financeiro

À Seção de Plantas Tropicais do IAC, na pessoa de seu Chefe Dr. Fausto Coral, pelo fornecimento dos frutos de cacau.

À Eng^a. Agr^a Maria Luiza Tucci, por sua amizade muito especial, incentivando nas horas difíceis desta pesquisa, colaborando com experiência e inteligência.

Aos professores Nilo Rodriguez e Gil Serra, que me auxiliaram na execução deste trabalho em diferentes etapas.

Aos professores da Banca Examinadora pelas valiosas correções e sugestões

Aos colegas do Perú, Antonio Pasquel, Elí Espinoza, Carlos Prentice, Vicente Garibay e Victor Mayhara pela amizade e incentivo no decorrer deste trabalho.

Aos Amigos Ricardo Borher, Fabio Marson, Carlos Anjos e Paulo Germano pelo apoio em momentos fundamentais e pela amizade.

Aos professores da FEA, Ramon Hinojosa, Hilary Menezes, Maria Helena Damasio, Maria Angela Meirelles, Morris Montgomery, Roberto Moretti, Emilio Contreras, Enrique Ortega e Carlos Gaspareto pela boa amizade e colaboração.

Aos amigos do laboratório de Frutas, e Hortaliças "grande família": Ana Koon, Ivana, Edilene, Ilana, Patrícia, Niurka, Flávia, Regina Noronha; Rosemar, César, Fernando, Anderson, Joaquim, Horacio Jr. e Dona Natalina pelo incentivo amigo muito importante.

Aos amigos funcionários: Ariovaldo Astini, Valdecí Pereira, Marcio Oliveira, Alice Shiosawa, Ana Maria, Ana Lourdes, Fátima Costa, Fatima Valentino, Edson, Gilson, e Nilo, pela amizade, apoio e colaboração na utilização da equipe e do material de laboratório.

À Marlene, Susy, Marcos e Marçal da secretaria do DTA/FEA, Creuza, Toninho, Cláudia, Geraldo e José Carlos da Biblioteca da FEA, pela gentileza e atenção.

Todos os que tornaram possível o cumprimento deste objetivo, estejam certos da minha estima e do meu agradecimento mais profundo.

2.5.1. Cromatografia gasosa	42
2.6. Avaliação sensorial	43
2.6.1. Relação de sabor e prova de corte na análise sensorial	44
3. MATERIAL E MÉTODOS	48
3.1. Material	48
3.1.1. Frutos de cacau	48
3.1.2. Equipamentos e Aparelhos	49
3.1.3. Reagentes	50
3.2. Métodos	50
3.2.1. Caracterização física dos frutos e sementes	50
3.2.2. Fermentação	50
3.2.2.1. Determinação de sólidos solúveis (Brix)	52
3.2.2.2. Controle da temperatura da massa de sementes de cacau durante a fermentação	52
3.2.3. Secagem das amêndoas de cacau	52
3.2.4. Características físicas das amêndoas	52
3.2.4.1. Massa de 100 amêndoas	52
3.2.4.2. Número de amêndoas em 100 gramas	52
3.2.4.3. Densidade aparente	52
3.2.4.4. Composição em frações da amêndoa	52
3.2.5. Análises físico-químicas das amêndoas	53
3.2.5.1. Prova de corte ("cut test")	53
3.2.5.2. Índice de permanganato de potássio (I.P.)(KMnO ₄)	53
3.2.5.3. Índice de fermentação (I.F.)(por espectrofotometria).....	53
3.2.6. Preparo dos nibs	54
3.2.7. Características físicas e químicas dos nibs	54
3.2.7.1. Teor de umidade	54
3.2.7.2. pH	54
3.2.7.3. Acidez titulável total	54
3.2.7.4. Teor de proteína	54
3.2.7.5. Teor de gordura	54
3.2.7.6. Teor de cinzas	54
3.2.7.7. Teor de fibras	54
3.2.7.8. Teor de teobromina e cafeína	54
3.2.8. Torrefação	54
3.2.8.1. Determinação do tempo de torrefação	55
3.2.9. Extração dos voláteis e identificação e dosagem de alguns dos constituintes das amêndoas fermentadas e torradas	55
3.2.9.1. Extração pela adaptação de um micro-extractor de tipo Likens e Nickerson	55

3.2.9.2. Equipamento de extração com CO ₂ pressurizado	57
3.2.9.2.1. Acondicionamento da coluna com polímero para concentração de voláteis	58
3.2.9.2.2. Extração com CO ₂ pressurizado e concentração em polímero	59
3.2.9.3. Separação, identificação e dosagem de alquilpirazinas por cromatografia gasosa	60
3.2.10. Avaliação sensorial do sabor	61
3.2.10.1. Determinação do tempo de torrefação	61
3.2.10.2. Avaliação sensorial dos dez clones	61
3.2.10.2.1 Preparo da amostra	61
3.2.10.2.2. Seleção e treinamento de provadores	62
3.2.10.2.3. Realização dos testes	63
3.2.11. Análises Estatísticas	64
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	66
4.1. Características físicas de 10 clones de cacau "in natura", produzidos no Estado de São Paulo.....	66
4.1.1. Fruto	66
4.1.2. Semente	67
4.2. Parâmetros relativos a fermentação e ao cacau fermentado.....	69
4.2.1. Parâmetros determinados durante a fermentação	69
4.2.1.1. Sólidos solúveis na polpa (°Brix)	69
4.2.1.2. Temperatura da massa em fermentação	70
4.2.2. Características físicas das amêndoas fermentadas	70
4.2.2.1. Umidade	70
4.2.2.2. Densidade aparente	70
4.2.2.3. Massa média por amêndoa	72
4.2.2.4. Número de amêndoas em 100 gramas	73
4.2.2.5. Frações da amêndoa	73
4.2.3. Classificação das amêndoas fermentadas	74
4.2.3.1. Classificação, pela prova de corte ("cut test")	74
4.2.3.2. Classificação pelo índice de permanganato e índice de fermentação	75
4.2.4. Valores médios de pH e acidez titulável total das amêndoas fermentadas	76
4.3. Torrefação e características do cacau torrado	78
4.3.1. Variação da temperatura durante a torrefação dos nibs	78
4.3.2. Tempo de torrefação	79
4.3.3. Composição química dos nibs torrados	79
4.3.3.1. Composição centesimal dos nibs	79
4.3.3.2. Alcalóides	81

4.3.4. Análise sensorial dos dez clones	82
4.3.5. Componentes voláteis do cacau	84
4.3.5.1. Evolução do teor de pirazinas de amêndoas torradas de 5 clones de cacau, em diferentes tempos e extraídas por arraste de vapor e concentradas em micro-extrator.	88
4.3.5.2. Teor de pirazinas de amêndoas torradas de 5 clones de cacau, extraídas com CO ₂ pressurizado e concentradas em polímero porapak Q	89
4.4. CONCLUSÕES	94
5.0. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	96
6.0. ANEXOS	108

LISTA DE TABELAS

	Página
1. Produção Mundial de cacau em amêndoas 1990/1991 e 1991/1992.....	6
2. Área colhida, quantidade e rendimento médio do cacau no Brasil.e principais estados produtores 1988-1989.....	8
3. Composição química da polpa mucilaginosa de frutos produzidos na Costa do Marfim, Nigéria e Malásia (g/100g polpa fresca).	11
4. Concentração de carboidratos, proteínas e compostos nitrogenados da polpa mucilaginosa de frutos produzidos na Costa do Marfim, Nigéria e Malásia.....	12
5. Valores médios dos açúcares componentes do mel de cacau (% em relação de materia seca).	12
6. Valores do pH da polpa e sementes durante a fermentação do cacau..	13
7. Composição química dos nibs e testa de cacau	26
8. Componentes voláteis do aroma de cacau.....	34
9 Avaliação da qualidade das amêndoas através da prova de corte	46
10. Atributos usados na caracterização de qualidade do sabor de chocolate.	47
11. Dados relativos aos clones estudados	48
12. Valores biométricos dos frutos "in natura"de 10 clones de cacau da coleção da Estação Experimental Pariquera-Açú do IAC (S.P.).....	67
13. Valores biométricos das sementes de 10 clones de cacau da coleção da Estação Experimental Pariquera-Açú do IAC (S.P.).....	68
14. Valores de sólidos solúveis (°Brix) da polpa durante a fermentação	69

15. Características físicas das amêndoas (valores médios de 100 amêndoas .	72
16. Valores médios das massas das frações da amêndoa expressos em porcentagem.....	73
17. Valores médios do teste da prova de corte, da porcentagem da cor marrom e violeta..	75
18. Valores médios de índice de permanganato (I.P.) e índice de fermentação das amêndoas de 10 clones.....	76
19. Valores médios do pH e acidez titulável total das amêndoas dos 10 clones.....	77
20. Valores médios do teste de preferência de aroma característico de nibs torrados em função do tempo.	79
21. Composição química dos nibs torrados , em g por 100 g de produto	80
22. Valores médios de teobromina e cafeína nos nibs torrados	82
23. Análise sensorial dos atributos aroma e sabor dos nibs de dez clones de cacau torrados a 145°C por 14 minutos.....	83
24. Valores médios de pirazinas de 5 clones de cacau fermentados e torrados a 145°C por 12, 14 e 16 minutos, extraídas por arraste de vapor, utilizando um micro extractor.(em mg/kg).....	91
25. Comparação de valores médios de pirazinas de 5 clones torrados a 145°C por 14 minutos, extraídas por arraste de vapor, concentradas em micro-extractor e extraídas com CO ₂ pressurizado, concentradas em polímero porapak Q	93

LISTA DE FIGURAS.

	Página
1. Fluxograma das etapas ocorridas na fermentação do cacau	18
2. Isotherma de absorção para cacau pelo método "static-jar" com soluções de ácido sulfúrico	21
3. Etapas durante a fermentação do cacau e sua relação com o sabor de chocolate.....	23
4. Estrutura da cafeína (1,3,7 trimetilxantina), teobromina (3,7- dimetilxantina)	26
5. Formação de pirazinas.....	29
6. Reação de formação de pirazinas	32
7. Estrutura básica da pirazina	32
8. Micro aparelho de LIKENS & NICKERSON	38
9. Diagrama de fases (pressão por temperatura) de um composto puro	40
10. Fluxograma de processamento industrial dos produtos de cacau e terminologia utilizada nas diferentes etapas do processo.....	51
11. Micro extractor-destilador de tipo Likens & Nickerson acoplado a um destilador por arraste de vapor.....	56
12. Equipamento de extração com CO ₂ pressurizado e concentração em coluna com polímero porapak Q.....	58
13. Ficha de análise sensorial	65
14. Variação da temperatura na massa de sementes, de cacau durante a fermentação.....	71
15. Evolução da temperatura durante a torrefação dos nibs.....	78

16a. Cromatograma dos padrões de pirazinas e padrão interno	85
16b. Cromatograma dos compostos voláteis obtidos por arraste de vapor e concentrados em micro-extrator. Clone IAC 1 torrado a 145°C por 14 minutos	86
16c. Cromatograma dos compostos voláteis obtidos com CO ₂ pressurizado e concentrados em polímero porapak Q. Clone IAC 1 torrado a 145 °C por 14 minutos	87
17. Evolução das metilpirazinas durante a torrefação dos 5 clones de cacau	92

LISTA DE ANEXOS

ANEXO 1. Controle da temperatura da massa de sementes em fermentação nas caixas com diferente volume e número de furos ..	108
ANEXO 2. Temperatura registrada na massa de sementes de cacau durante a fermentação	109
ANEXO 3. Valores da análise sensorial das amostras torradas a 145°C, por 10,12,14,16 e 18 minutos	110
ANEXO 4. Curva padrão de teobromina e cafeína	111
ANEXO 5. Variação de comprimento de onda entre 460 e 530nm, para determinar o índice de fermentação	112

RESUMO

Foram estudados dez clones de cacau (*Theobroma cacao L*), quanto às suas características físicas, químicas e sensoriais e o comportamento de alguns derivados pirazínicos durante a torrefação. Os cultivares foram procedentes da Estação Experimental de Pariquera-Açú (SP) e pertencem à coleção do Instituto Agrônômico de Campinas. Com o intuito de se conhecer o comportamento desses clones na região de estudo, foram medidas as seguintes características: massa de sementes por fruto, massa média e tamanho das sementes, destacando-se os clones UF 667, UF 668, ICS 60 e UF 613. Dentre os clones estudados oito apresentaram valores de massa média por amêndoa de 1.35-2.21g, apresentando-se portanto bem acima do exigido comercialmente (1.2g). Todos os clones estudados apresentaram altos teores de manteiga de cacau, os quais situam-se entre 51,2 e 57,2% em relação a matéria seca.

Os testes sensoriais realizados com amêndoas desses dez clones, torrados a 145°C por 14 minutos, mostraram que não há diferença significativa ao nível de 5%, em relação ao aroma e sabor global entre os clones estudados, diferindo entretanto com relação ao gosto ácido. Observou-se que as quatro metilpirazinas estudadas já estavam presentes no cacau fermentado, antes da torrefação, porém em média 89% da 2,5-di; 87% da 2,3-di; 92% da 2,3,5-tri e 55% da 2,3,5,6-tetrametilpirazina foram produzidas presumivelmente durante a reação de Maillard, no transcurso da torrefação. O estudo da evolução das alquilpirazinas durante a torrefação, mostrou um comportamento linear crescente da concentração até 14 minutos, tendo sido considerado este o melhor tempo de torrefação pelos testes sensoriais. Imediatamente após esse tempo, foi observada uma queda drástica da concentração da tetrametilpirazina, correspondendo possivelmente ao término do processo.

Para a extração dos compostos do aroma, foram utilizadas duas técnicas, extração em micro-extrator de tipo LIKENS & NICKERSON, modificado por GODEFROOT et alii (1985), utilizando pentano-eter etílico 2:1, como solvente e extração com CO₂ pressurizado seguida por concentração dos voláteis aromáticos em polímero porapak Q. Em ambos casos, os compostos foram separados por cromatografia gasosa, em coluna capilar de sílica fundida fase líquida D.W. Wax, detector de ionização de chama e quantificados, utilizando a 4-etilpiridina como padrão interno.

A técnica de extração dos compostos do aroma por CO₂ pressurizado e concentrado em polímero porapak Q, mostrou vantagem em relação à técnica de arraste de vapor e concentração em micro extrator, apresentando eficiências maiores de extração, que variaram entre 14 e 27%, dependendo da metilpirazina.

SUMMARY

Ten cocoa clones (*Theobroma cacao L*) were studied with respect to their physical, chemical and sensory characteristics and the behavior of some pyrazine derivatives during roasting. The cultivars were obtained from the Experimental Station at Parquera-Áçú (S.P.), being part of the collection belonging to the Campinas Agronomy Institute. With the objective of determining the behavior of these clones in the region under study, the following characteristics were measured: seed mass per fruit, average mass and size of seed. The following gave exceptional results: clones UF 667, UF 668, ICS 60 and UF 613. Of the clones studied eight gave average kernel weights of 1.35-2.21g, well above the commercial requirement (1.2g). All the clones studied presented high levels of cocoa butter, between 51.2 and 57.2% on a dry weight basis.

The sensory evaluation of the beans roasted at 145°C for 14 minutes, showed no significant difference at the 5% level with respect to the aroma and overall flavour amongst the clones studied, with the exception of the acid taste.

The results demonstrated that the four methylpyrazines are already in the raw cocoa beans before roasting, but up to 89% of 2,5-di; 87% of 2,3-di; 92% of 2,3,5-tri and 55% of 2,3,5,6-tetramethylpyrazine were produced, probably by the Maillard reaction, during roasting. The study of the evolution of the alkylpyrazines during roasting showed a linear increase in concentration during the 14 minute roasting period considered best for the organoleptic trial. Immediately after this period a rapid decrease in the concentration of tetramethylpyrazine, possibly caused by the end of the roasting process, was observed.

Two techniques were used for the extraction of aromatic compounds: 1) extraction with a LIKENS & NICKERSON micro-extractor, as modified by GODEFROOT et alii (1985) and using pentane:ethyl ether 2:1, as solvent, and 2) extraction with pressurized CO₂ concentrated on the polymer porapak Q. In both cases the compounds were separated by gas chromatography using a capillary column of melted silica, D.B.Wax liquid phase and a flame ionization detector. Quantification was effected using 4 ethylpyridine as internal standard

The method of aromatic compound extraction with pressurized CO₂ followed by concentration of the extract in porapak Q polymer, showed advantages over the method of steam stripping and concentration in a micro extractor. The extraction with pressurized CO₂ increased the extraction efficiency from 14 to 27% as a function of the type of methylpyrazine.

1. INTRODUÇÃO

O cacau (*Theobroma cacao L.*), pertence à família Esterculiaceae e suas principais variedades são cultivadas na América do Sul, América Central, América do Norte, África, Ásia e Oceania.

O cultivo de cacau representa um importante setor econômico para o Brasil, que é o segundo produtor mundial, com uma produção de 368 mil toneladas em 1991. O maior produtor é a Costa do Marfim, com 822 mil toneladas (IRRC, 1993a). O cacau se enquadra entre os alimentos altamente energéticos e estimulantes, cujo sabor é uma característica muito importante, nas suas matérias primas de alta qualidade como liquor ou massa de cacau, cacau em pó, manteiga de cacau e produtos processados de chocolate e achocolatados.

Além de estar intimamente relacionado à variedade, o sabor é bastante influenciado pelas técnicas de pré-processamento, sendo que o desenvolvimento potencial do sabor depende principalmente dos processos de fermentação e secagem. Esse conjunto de variações irá propiciar um sabor suave ou forte, após a torrefação e as outras etapas posteriores.

Embora os critérios físicos e químicos tais como teor de gordura, proteína, carboidratos, cor, pH, e acidez sejam frequentemente usados como base para avaliar a qualidade das amêndoas secas no círculos comerciais, o critério final de qualidade é o sabor após a torrefação.

O sabor começa a se formar no processo de fermentação, após a morte do germen. Nesta etapa ocorrem reações bioquímicas no interior dos cotilédones, iniciando-se o desenvolvimento dos componentes precursores do sabor de chocolate (ROHAM, 1964; REINECCIUS et alii, 1972a; SCHWAN, et alii, 1990).

Embora um manejo cuidadoso do processo de fermentação aumente consideravelmente a possibilidade de se obter amêndoas de boa qualidade, haverá diferença entre bateladas. Tal situação mostra a necessidade de pesquisas bioquímicas e tecnológicas relacionadas aos fatores que determinam o sabor do cacau. Somente após

uma profunda compreensão de todas as mudanças que ocorrem durante a fermentação, das condições que as governam, bem como dos mecanismos confiáveis para determinação da qualidade da amêndoa processada, podem-se tomar medidas que assegurem uma alta qualidade e uniformidade do produto final (LOPEZ, 1982; VILLENEUVE et alii, 1989)

Além da necessidade de se assegurar uniformidade do sabor, é desejável que se desenvolva o sabor potencial em sua totalidade. Os componentes precursores do sabor, como aminoácidos e açúcares redutores livres, em uma fase subsequente à secagem, participam da síntese das alquilpirazinas, citadas como possíveis indicadores da eficiência do processo de fermentação e torrefação, uma vez que as alquilpirazinas são resultado da ação microbiana durante a fermentação e principalmente da reação de Maillard produzida durante o tratamento térmico (ZAK, 1988; ZIEGLER, 1983; BAUERMEISTER, 1981; SILWAR, 1988; PEZOA, 1989).

As pirazinas são compostos de grande importância no sabor do chocolate, representando 25% dos componentes identificados na fração aromática das amêndoas torradas (BAREL, 1985). Esses componentes aromáticos heterocíclicos aumentam gradualmente com o tempo de torrefação e a diminuição da concentração de algumas pirazinas nas amêndoas é coincidente com o início da sobretorrefação, certamente por volatilização, devido ao aumento da temperatura no final do processo (PEZOA, 1989; MERMET et alii, 1992). Pressupõe-se então a possibilidade de que exista uma concentração ótima de pirazinas durante o processo de torrefação, o que poderia corresponder a um produto de melhor qualidade.

Entretanto, a tetrametilpirazina e outras alquilpirazinas também podem ser de origem microbiana; a tetrametil pirazina é produzida durante a fermentação, pelo *Bacillus subtilis* (ZAK et alii, 1972), e desempenha importante papel no sabor de diversos alimentos fermentados KOSUEGE (citado por GALLOIS, 1984).

Tornam-se assim necessárias maiores informações sobre os efeitos do processo de torrefação sobre as pirazinas, 2,5 e 2,3 di; 2,3,5-tri e 2,3,5,6-tetrametil pirazinas, relacionando-as entre si.

Por outro lado, é necessário pesquisar novas técnicas de análise da fração dos componentes voláteis do cacau, evitando o uso de altas temperaturas durante a extração, uma vez que estas promovem o desenvolvimento dos produtos de interesse

A literatura tem evidenciado a existência de diferenças entre os componentes voláteis do aroma do cacau, tanto entre cultivares como entre regiões do plantio (ROHAM, 1968; REINECCIUS et alii, 1972a; LOPEZ, 1982; BALTES, 1985; PEZOA 1989).

O presente trabalho tem como objetivos:

- 1 -Caracterizar física e quimicamente os frutos, sementes e amêndoas, verificando as diferenças do sabor das amêndoas torradas entre dez clones de cacau cultivados pelo IAC (Instituto Agronômico de Campinas), com a finalidade de contribuir com a seleção dos melhores cultivares para o Estado de São Paulo.
- 2 - Determinar a qualidade das amêndoas fermentadas e torradas, relacionando as características físicas, químicas e organolépticas desses produtos com alguns componentes responsáveis pelo sabor como a 2,5; 2,3-di; 2,3,5-tri; e 2,3,5,6-tetra metil pirazinas.
- 3 -Testar dois métodos de extração de voláteis de amêndoas de cacau; micro destilação proposto por (LIKENS & NICKERSON, 1966) e de extração com CO₂ pressurizado.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. GENERALIDADES

Segundo MINIFIE (1989), o cacauzeiro (*Theobroma cacao L.*) é nativo da floresta Amazônica, onde cresce em condições de sub-bosque com temperaturas elevadas e altas precipitações pluviométricas. O gênero *Theobroma* apresenta cerca de vinte espécies da família *sterculiaceae*, mas a espécie *Theobroma cacao* é a de maior valor comercial. Considera-se que o cacauzeiro disseminou-se naturalmente em direção oeste e norte para a Guiana e o México, e mais tarde para as Ilhas do Caribe. Nesse processo, duas subespécies distintas se desenvolveram, "Criollo" e "Forastero", sendo que posteriormente o "Forastero" deu origem a diversas variedades. Um terceiro grupo, chamado "Trinitario", é essencialmente um cruzamento entre "Criollo" e "Forastero" e não é encontrado na forma selvagem.

No Brasil, introduziram-se sementes de clones, como Forastero Amazônico e híbridos deste e de "Criollo" (SILVA & CARDOSO, 1980).

VELLO & GARCIA (1971) estabeleceram as características das principais variedades de cacau cultivadas na Bahía, quanto a produtividade, dimensões, peso e espessura da casca dos frutos, número e peso das sementes e grau de suscetibilidade a uma das principais doenças do cacau, provocada pelo fungo *Phytophthora palmivora* (podridão parda).

2.1.1. PRODUÇÃO DE CACAU

Segundo a Organização Internacional de Cacau e Chocolate (OICC), (citado no IRCC, 1993a) a produção mundial da temporada 89-90 foi de 2.397 milhões de toneladas e na temporada 90-91 foi de 2.449 milhões de toneladas. Por outro lado, o consumo de 89-90 foi de 2.200 milhões de toneladas e em 90-91 foi de 2.317 milhões com um acréscimo de 117 milhões de toneladas.

A TABELA 1 mostra os países produtores de cacau em nível mundial, sendo que o maior produtor é a Costa do Marfim, com 822.000 toneladas em 90/91. O Brasil é o principal produtor da América, com 368.100 toneladas em 90/91. É importante mencionar que, no mesmo período, a produção da Malásia e da Nigéria foi de 221.000 e de 155.000 toneladas, respectivamente.

2.1.1.1. Déficit da produção mundial de cacau em 1991-1992

GIL & DUFFUS (1992) citado no IRCC (1993b), indicam que, em 1992, houve um déficit anual na produção mundial de cacau de 195.000 toneladas, enquanto que para 93, este deverá cair até 25.000 toneladas. As previsões manifestam que, para a temporada 92-93, a produção mundial será de 2.360 milhões de toneladas, enquanto que o consumo deverá aumentar até 2.380 milhões de toneladas, o que significa um incremento de 2.1% no consumo e um déficit de produção de 20 milhões de toneladas.

Segundo a OICC, o ano cacauero 1991-1992 foi marcado por um déficit de produção de 87.000 toneladas em relação às previsões que foram feitas no começo de 1992, que chegavam a 140.000 toneladas. Esta última estimativa da OICC é muito próxima daquela feita por Gill & Duffus. O déficit registrado é o primeiro desde 1983-1984.

O desequilíbrio entre a oferta e a demanda dos últimos anos continua a exercer um efeito de enfraquecimento dos preços. Em valor real, os preços de lavoura 1991-1992 são os mais baixos já registrados.

TABELA 1. Produção Mundial de cacau em amêndoas 1990/1991 e 1991/1992 (em mil toneladas)

PAIS	1990/1991	1991/1992	PAIS	1990/1991	1991/1992
África			Oceania		
Camarões	115,0	100,0	Papua Nova		
Congo	0,5	0,5	Guiné	33,4	34,0
Costa do Marfim	822,0	740,0	Ilhas Salomão	4,1	4,1
Gabão	1,4	1,5	Vanuti	2,2	2,5
Gana	293,0	240,0	Diversos	0,3	0,3
Guiné Equatorial	5,2	5,2	Total	80,0	40,9
Libéria	2,0	1,0	América Central		
			América do Sul		
Madagascar	2,3	2,8	Bolívia	3,5	3,5
Nigéria	155,0	105,0	Brasil	368,1	295,0
Uganda	0,6	0,6	Colômbia	52,0	50,0
São Tomé e Príncipe	2,5	2,6	Costa Rica	4,0	4,0
Serra Leoa	13,0	9,5	Cuba	2,2	2,2
Tanzânia	2,5	2,0	Rep. Dominicana	42,0	55,0
Togo	9,3	8,0	Equador	111,1	55,0
Zaire	3,4	3,5	Granada	1,2	1,2
Total	1 428,2	1 222,2	Guatemala	0,5	0,5
			Haiti	2,0	2,0
Ásia			Honduras	3,3	3,3
Índia	6,0	6,0	Jamaica	1,8	1,7
Indonésia	145,0	180,0	México	43,0	43,0
Malásia	221,0	225,0	Panama	1,0	1,0
Filipinas	9,0	9,0	Perú	11,0	11,0
Sri-lanka	2,0	2,0	Trinida-Tobago	1,8	1,8
Diversos	0,1	0,1	Venezuela	15,9	16,0
Total	383,1	421,1	Diversos	0,6	0,6
			Total	665,0	586,8
			Total Mundial	2 516,3	2 272,0

Fonte: Boletim Trimestral de Estatística do Cacau, OICC, 1992 (citado em IRCC 1993)

2.1.1.2. Previsões da produção mundial de cacau para 1992-1993

As previsões do Departamento Americano da Agricultura para a produção mundial de cacau para a safra 1992-1993 (outubro-setembro) foram de 2.350 milhões de toneladas, ou seja, 4% a menos que em 1991-1992 e 7% a menos que a lavoura recorde de 1990-1991. Este retrocesso se explica pela queda das cotações mundiais, que desestimulou uma melhora nas técnicas de cultura e desenvolvimento de extensões cultiváveis na maioria dos países produtores.

O déficit da produção em relação ao consumo é previsto em 23.000 toneladas em 1992-1993, contra 94.000 toneladas em 1991-1992.

A Costa do Marfim, primeiro produtor mundial, deverá produzir 780.000 toneladas de cacau, depois de ter produzido 750.000 em 1991-1992; as chuvas abundantes no final da temporada teriam favorecido essa progressão.

As previsões, para os principais países produtores, excluindo a Costa do Marfim, são as seguintes: Brasil, 290.000t (contra 295.000 em 1991-1992); Gana 270.000t (contra 242.000 em 1991-1992); Malásia 200.000t (contra 225.000 em 1991-1992); Indonésia 200.000t (contra 180.000 em 1991-1992), com preços de produção muito competitivos. A Nigéria produzirá 135.000t (contra 105.000 em 1991-1992).

A TABELA. 2 mostra que os estados da Bahia, Espírito Santo, Pará e Rondônia são os principais produtores brasileiros, sendo que a Bahia respondeu em 1989 por 84.2% da produção nacional.

TABELA 2. Área colhida, quantidade e rendimento médio do cacau no Brasil e principais Estados produtores. 1988-1989

Unidades da Federação	Área (ha) 1988	Área (ha)1989	Quantidade (t) 1989	Quantidade (t) 1989	Rendimento (t/ha) 1988	Rendimento (t/ha)1989
Rondônia	8.903	38.384	36.709	24.740	840	644
Acre	263	258	112	76	425	294
Amazonas	2.937	2.946	1.100	717	374	243
Pará	39.254	41.188	23.564	28.669	600	696
Maranhão	102	97	46	48	450	496
Bahia	596.389	551.306	327.562	330.751	549	599
Minas Gerais	159	158	56	64	354	405
Espírito Santo	21.587	22.325	5.439	4.955	251	221
São Paulo	340	352	366	394	1058	1119
Mato Grosso	2.557	2.957	1.498	2.196	585	742
TOTAL	702.490	659.971	392.446	392.610	558	594

Fonte : Anuário Estatístico do Brasil 1991

2.2. PRÉ-PROCESSAMENTO DO CACAU

Os frutos de cacau apresentam grande variabilidade referente às características de cor, dimensões, forma de fruto e das sementes, assim como de manejo pós-colheita.

O pré-processamento se inicia com a abertura dos frutos que permite recuperar as sementes cobertas por uma polpa mucilaginosa. Essas sementes são compostas de um embrião e de dois cotilédones cobertos por um envoltório denominado testa. As sementes, junto com a polpa mucilaginosa são submetidas às operações de fermentação, secagem e armazenamento, dependendo principalmente desse procedimento a qualidade final dos produtos a serem obtidos. (ROHAM, 1964; LOPES, 1974, CROS, 1988; SCHWAN et alii, 1990).

2.2.1. FERMENTAÇÃO

Uma etapa essencial para a obtenção de amêndoa de boa qualidade, consiste numa adequada fermentação natural das sementes de cacau. Com a atividade dos microorganismos envolvidos no processo fermentativo, ocorre a remoção da mucilagem das sementes, morte do embrião e reações bioquímicas no interior dos cotilédones, provocando entre outros fenômenos, o desenvolvimento dos precursores do sabor de chocolate.

No processo de fermentação, consideram-se como fatores importantes o sistema de fermentação, temperatura ambiente e da massa, pH e acidez da polpa e do cotilédone, tempo do processo, revolvimento da massa, microflora e outros (ROHAN, 1964; LOPEZ, 1983; e SCHWAN et alii, 1990).

Os sistemas mais comuns para fermentação são: em montes, caixas, cestos, sacos de lona, gavetas de madeira, etc.

No Brasil, a técnica usual utiliza caixas de madeira de aproximadamente 1 m³ (1 x 1 x 1 m) dispostas em série, denominadas de cochos de fermentação, segundo normas técnicas da CEPLAC. (CEPLAC, 1970).

A temperatura alcançada pela massa é um indicador muito útil para se acompanhar o progresso de uma fermentação. Em boas fermentações comerciais, a temperatura de 45 a 48°C é atingida no espaço de aproximadamente três dias, devendo-se manter nesses níveis por mais alguns dias, (QUESNEL & LOPEZ 1975). A evolução da temperatura da massa, durante a fermentação, depende não somente do grau de aeração, mas também de método de cobertura, frequência dos revolvimentos, temperatura ambiente, além de outros fatores (ROELOFSEN 1958).

Se o aumento da temperatura for muito lento ou se não for alcançada uma temperatura suficientemente alta, o produto obtido será constituído de sementes germinadas e mal fermentadas.

ROHAN (1958), demonstrou que a temperatura se eleva mais rapidamente na parte superior da massa do que em seu centro, sendo essa diferença maior quanto maior o volume da massa.

O potencial energético dos açúcares da polpa é suficiente para elevar a temperatura acima dos valores freqüentemente observados, sendo importante a aeração no controle da temperatura adequada (QUESNEL 1969).

Vários pesquisadores informam que as sementes de cacau morrem entre o segundo e o terceiro dia de fermentação, em consequência da ação do etanol e dos ácidos principalmente acético absorvidos pelos cotilédones, além da temperatura alcançada pela massa naquele período (QUESNEL, 1965; ZAK & KEENEY, 1976).

2.2.1.1. Reações bioquímicas durante a fermentação

VILLENEUVE et alii (1989), mencionam a necessidade de desenvolver mais pesquisas bioquímicas e tecnológicas sobre os fatores que determinam o "flavor" de chocolate, que são variáveis determinantes na qualidade do cacau. Somente após uma profunda compreensão das alterações que ocorrem na fermentação, se poderá adotar medidas apropriadas para assegurar uma qualidade uniforme do produto final.

BRAUDEAU (1970); LOPEZ & QUESNEL (1973); MINIFIE (1989) resumem as transformações físico-químicas constatadas nas sementes de cacau durante a fermentação:

a) Fermentação da polpa mucilaginosa. A substância mucilaginosa que envolve as sementes de cacau, de cor branca, rica em açúcares e com baixo pH, propicia o desenvolvimento de microorganismos. A atividade microbiana provoca aumento de temperatura, que contribui para a morte da semente. A partir daí é que as condições no interior dos cotilédones se tornam propícias às reações bioquímicas, que culminarão com a síntese dos precursores do aroma.

A composição da polpa é importante, visto que é a partir dos açúcares nela contidos que se inicia o processo fermentativo (LOPEZ, 1979). Os dados analíticos da

TABELA 3 e 4 se referem à composição química e concentração de carboidratos, proteínas e compostos nitrogenados da polpa mucilaginosa e a TABELA 5 se refere aos açúcares.

TABELA 3. Composição química da polpa mucilaginosa de frutos produzidos na Costa do Marfim, Nigéria e Malásia (g/100 g polpa fresca)

	Costa do Marfim	Nigéria	Malásia
Água	82.60	82.50	85.90
Mono e dissacarídeos	11.15	13.05	11.06
Polímeros da parede celular	02.81	ND	1.48
Citrato	01.31	0.79	0.29
Proteína, peptídeos e aminoácidos	0.74	0.64	0.65
Gordura	0.45	0.75	0.35
Metais		0.22	ND
Vitaminas(compostos simples)	0.24	ND	ND
Etanol		0.10	0.20

Fonte: (PETTIPHER, 1985)

ND. não determinado

TABELA 4. Concentração de carboidratos, proteínas e compostos nitrogenados da polpa mucilagínosa de frutos produzidos na Costa do Marfim, Nigéria e Malásia, (g/100 g massa de polpa fresca).

	Costa do Marfim	Nigéria	Malásia
Sacarose	4.35	1.92	1.35
Glicose	3.00	5.06	4.90
Frutose	3.80	6.07	5.35
Nitrogênio total	0.11	0.11	ND
Aminoácidos livres	0.15	0.11	0.21
Proteínas/peptídeos	0.57	0.51	0.43
Amónia	0.02	0.02	0.01

Fonte: (PETTIPHER, 1985)

ND: não determinado

TABELA 5. Valores médios dos açúcares componentes do mel de cacau (% em relação de matéria seca).

Açúcar	Intervalo entre a colheita e a quebra do fruto	
	0 dia	6 dias
Sacarose	8.50	6.56
Glicose	2.67	4.50
Frutose	2.94	3.62
Sorbose	0.08	0.10
Inositol	0.05	traços
Pentitol	0.01	traços

Fonte: (BERBERT, 1979)

Na fase inicial da fermentação, as leveduras que se desenvolvem na mucilagem da semente de cacau, convertem os açúcares a etanol e CO₂. Com a degradação da mucilagem e a drenagem dos resíduos líquidos o oxigênio começa a

penetrar na massa, favorecendo a multiplicação das bactérias acéticas que oxidam o etanol a ácido acético, desprendendo CO₂.

LOPEZ (1982) e SHEPHERD (1976) citados por DIAS (1987) mostram na TABELA 6 os valores de pH da polpa e sementes de cacau no curso da fermentação desenvolvida no Brasil.

TABELA 6. Valores do pH da polpa e sementes durante a fermentação de cacau.

Especificação	Dias de fermentação							Autor
	0	1	2	3	4	5	6	
pH da polpa	3.80	3.94	3.84	4.15	4.22	4.27	4.34	(2)
pH das sementes	6.42	6.40	5.54	4.81	4.57	4.50	4.44	(2)
pH das sementes	6.39	6.32	5.37	4.49	4.60	4.80	4.74	(1)

Fonte: (1, LOPES, 1982; 2, SHEPHERD, 1976, citados por DIAS, 1987)

O baixo valor para o pH da polpa, verificado no início da fermentação, pode ser atribuído à presença do ácido cítrico. Como resultado do metabolismo dos microorganismos na polpa, o ácido cítrico é substituído pelos ácidos menos dissociados, láctico e acético (o primeiro numa extensão muito limitada). Ao mesmo tempo, verifica-se um aumento gradual no valor do pH da polpa que, nos estádios subseqüentes da fermentação, irá refletir a concentração do ácido acético (DIAS, 1987).

O ácido acético, ao ser absorvido pelos cotilédones, é o principal responsável pela queda no valor do pH observado nos cotilédones, durante a fermentação das sementes de cacau (QUESNEL, 1969) e por tanto da morte do germen e das oxidações importantes, como a das antocianinas presentes.

b) Reações bioquímicas no interior das sementes. Após a morte do germen, se desenvolvem duas importantes reações; aquela que conduz à formação dos precursores de aroma, em particular aminoácidos livres e monossacarídeos (BAREL et alii 1985; PETTIPHER 1986) e aquelas que provocam a diminuição do amargor e da adstringência (CRESPO, 1985). Alguns aminoácidos originados da hidrólise

proteolítica durante a fermentação, complexam-se com constituintes fenólicos (quinonas). Essa combinação é que diminui o amargor e adstringência, características de alguns aminoácidos responsáveis pelo sabor do chocolate (FORSYTH et alii, 1958; KENEY, 1972).

Segundo FORSYTH & QUESNEL (1957), no interior do cotilédone há duas fases definidas e distintas de reações durante a fermentação. Fase I, hidrólise anaeróbica e fase II, condensação oxidativa.

Fase I, Hidrólise Anaeróbica.- O aumento de temperatura (até 45 a 50 °C) e a formação de álcool etílico, seguida de formação de ácido acético, são responsáveis em conjunto pela morte do gérmen e conseqüente perda da capacidade de germinação. Nessa fase existe uma difusão do conteúdo celular, iniciando-se assim uma série de reações relacionadas com as alterações de sabor, aroma e cor da semente, ocorrendo hidrólise das proteínas, originando aminoácidos livres (SCHWAN et alii, 1990; FORSYTH & QUESNEL, 1957). A difusão do suco celular depende das propriedades físico-químicas das substâncias, tamanho das moléculas, solubilidade, temperatura e permeabilidade seletiva das membranas celulares (VILLENEUVE, 1989). A difusão dos ácidos para o interior do cotilédone contribui para que ocorram as reações enzimáticas e propicia uma proteção contra as bactérias putrefativas, evitando prejuízos ao sabor devido à produção de ácidos graxos voláteis C₃ a C₅ (QUESNEL, 1968; HARDY, 1961).

Fase II, Condensação Oxidativa.- Esta fase é posterior à fase anaeróbica hidrolítica e freqüentemente se sobrepõe a ela. A oxidação continua na fase de secagem até que o teor de umidade atinja um ponto mínimo, onde cessa atividade da polifenoloxidase. A polifenoloxidase tem sua atividade máxima em torno de pH 6 e a uma temperatura de 35,5 °C. O fato mais importante dessa fase do processo é a redução da adstringência e amargor devido à oxidação de polifenóis que formam complexos com proteínas e peptídeos (FORSYTH & QUESNEL, 1963). Nesse estudo foi evidenciado que as proteínas se tornaram insolúveis pela formação de complexos proteínas-polifenóis, imediatamente após a morte da semente.

Segundo BRAUDEAU (1970), os tecidos dos cotilédones são formados por dois tipos de células: 1) células com pigmentos compostos de polifenóis (taninos, catequinas, antocianinas, leucoantocianinas) e purinas (teobromina e cafeína); 2) células de reserva, incoloras, que contem gorduras amido, proteínas e enzimas.

Durante a fermentação das sementes de cacau, os polifenóis sofrem intensas modificações, as quais somente se iniciam depois da morte das sementes, quando as substâncias fenólicas e as enzimas são liberadas de seus respectivos locais de armazenamento na célula (MARTELLI, 1981; QUESNEL, 1965)

Interações complexas entre os polifenóis para formar taninos de alto peso molecular e suas interações com proteínas, são importantes para a qualidade das sementes de cacau destinadas à produção de chocolate, (KIN & KEENEY, 1984)

Catequinas e leucocianidinas são parcialmente exudadas através da testa da semente, sendo oxidadas enzimaticamente sob as condições aeróbicas que prevalecem na testa (FORSYTH, 1952; MARTELLI, 1981; ROHAN, 1964).

Existem dois estágios possíveis para a destruição das antocianinas durante o processo fermentativo:

a) morte dos cotilédones com a liberação dos pigmentos das células e

b) imediata hidrólise enzimática desses componentes, resultando na descoloração dos pigmentos violeta dos cotilédones.

A presença de sementes de cacau de cor violeta é característica de um produto mal fermentado e está relacionado com um fraco sabor de chocolate (FORSYTH & QUESNEL, 1957; ROHAN, 1958; LOPEZ & McDONALD, 1981).

provocando a difusão de metabólitos, que atingindo o interior dos cotilédones, podem influenciar a qualidade do produto final (SCHWAN et alii 1990).

FORSYTH & QUESNEL (1963), comentam que, quando o pH supera o valor de 5.0 e os carboidratos começam a escassear como substrato para o desenvolvimento das leveduras, surgem também as bactérias do gênero *Aerobacter*. Estas produzem aminas e amônia a partir de aminoácidos. Assim é muito importante controlar o momento ideal do final da fermentação, para prevenir o aparecimento de odor de putrefação (ROELOFSEN 1958).

O fluxograma a seguir (FIGURA 1) descreve simplificadaamente as reações que ocorrem durante a fermentação.

SEMENTES COM MUCILAGEM

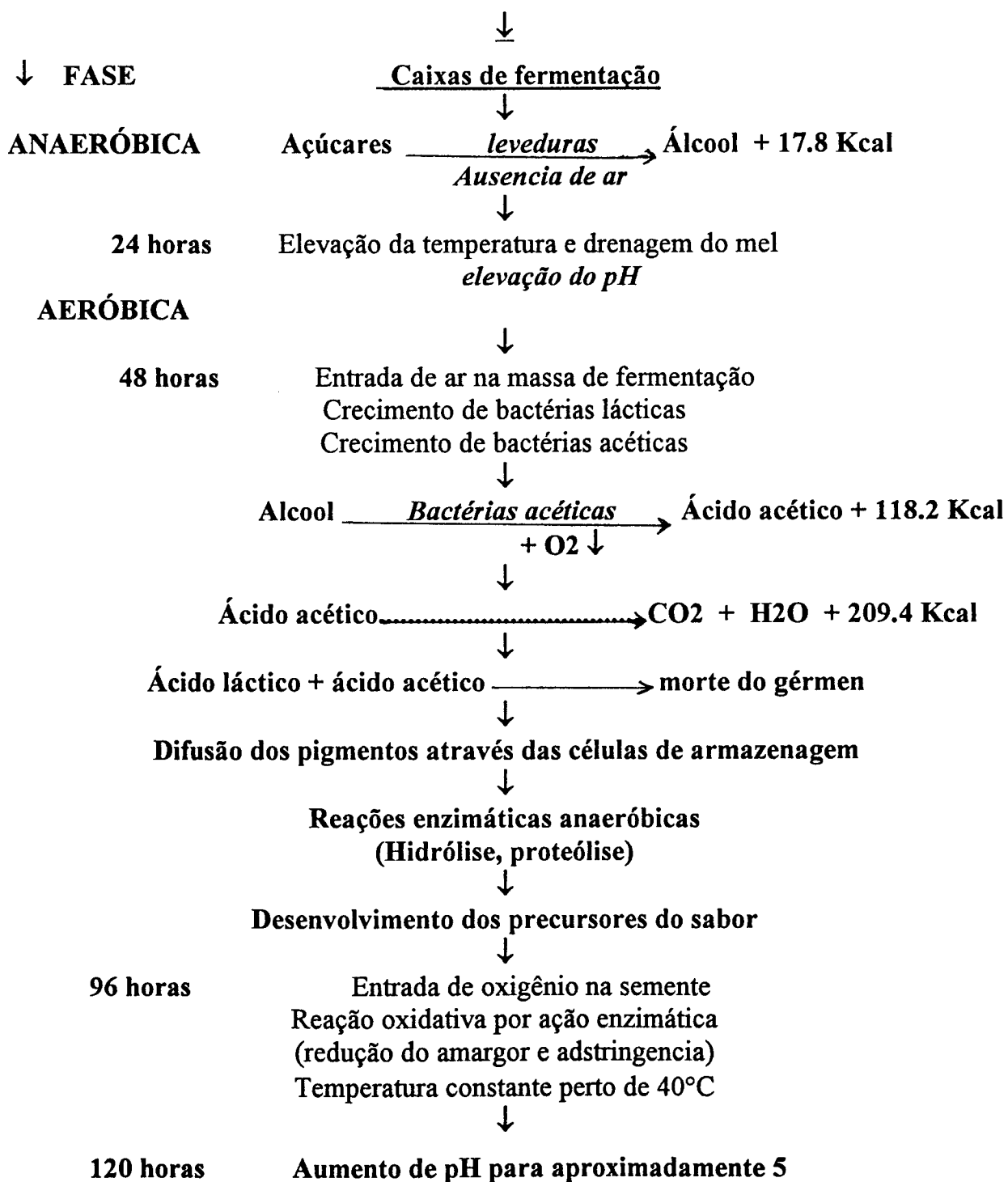


FIGURA 1: Fluxograma das etapas ocorridas na fermentação do cacau (LOPEZ, 1974).

2.2.2. SECAGEM

O processo de secagem tem início imediatamente após a fermentação. Muitas reações continuam durante essa operação e são importantes para a qualidade e sabor do produto final, daí a importância desse processo ser bem conduzido. No início da secagem as amêndoas apresentam 40-50% de umidade, taxa que deve ser reduzida para 6-8% a fim de se conseguir melhor conservação durante o armazenamento, (ROHAN, 1967; LOPEZ & QUESNEL, 1973). O retardamento ou má condução dessa operação acarretará risco de desenvolvimento de fungos. A contaminação com esses micro-organismos confere um desagradável sabor ao produto final. CRESPO (1985) assinalou que com 3% de amêndoas contaminadas por fungos, a pasta de cacau possui gosto desagradável, impossível de se eliminar nos processos posteriores.

A secagem não deve ser realizada de forma demasiadamente rápida, com o emprego de temperaturas elevadas, para evitar a desativação das enzimas responsáveis pelas reações que ocorrem nos estádios iniciais do processo (HARDY, 1961).

É nessa fase do pré-processamento que as sementes de cacau desenvolvem a cor castanha característica, quando as substâncias fenólicas são oxidadas por um sistema polifenoloxidase, que é ativo somente quando o oxigênio tem acesso aos cotilédones (FORSYTH & QUESNEL, 1957b). Quando as sementes são secas na ausência de oxigênio, não desenvolvem a cor marrom característica. (FORSYTH & QUESNEL, 1963).

Segundo PASSOS & LOPEZ (1982), a secagem também influencia a acidez das sementes, e eles notaram que, quando o produto foi seco de forma natural em barcaças, a perda de acidez, tanto a volátil quanto a total, foi maior quando comparada com sementes secas por processos artificiais.

A secagem de sementes de cacau pode ser feita de forma natural, expondo o produto diretamente ao sol ou, artificialmente com o emprego de secadores que utilizam o calor proveniente da queima de madeira ou outros combustíveis, ou ainda, pela combinação dos dois sistemas, colocando as sementes ao sol por um período de um a dois dias seguido de uma secagem complementar por processos artificiais (CUNHA & GHOSH, 1975; MARAVALHAS, 1971; SOBRAL, 1979).

Um outro método relatado por VILLA (1982) é a secagem empregando ar forçado aquecido por coletores solares, visando a redução do tempo, área e mão de obra.

ENRRIQUEZ (1985), citado por GAIBOR & ALDAS (1991), mencionam que as amêndoas são altamente higroscópicas. Com umidade relativa do ar de 75%, alcançam o equilíbrio com um conteúdo de umidade de 8%, podendo-se conservar por aproximadamente 5 meses.

A atividade de água deve ser controlada no produto a fim de evitar prejuízos na qualidade. Dessa forma, IGLESIAS & CHIRIFE (1982), indicam que as isotérmicas de absorção de água no alimento representam a relação de equilíbrio entre a umidade dos alimentos e a atividade de água (a_w), à pressão e temperatura constante. Em equilíbrio, a atividade de água está relacionada com a umidade relativa da atmosfera, segundo a equação:

$$a_w = (p/p_o) = \% \text{ umidade relativa de equilíbrio} / 100$$

Onde p é a pressão de vapor da água contida no alimento, p_o a pressão de vapor da água pura à temperatura T_o , que é a temperatura de equilíbrio do sistema. Para o cacau está representada segundo a curva da FIGURA 2.(IGLESIAS & CHIRIFE, 1982 citado por GAIBOR & ALDAS, 1991).

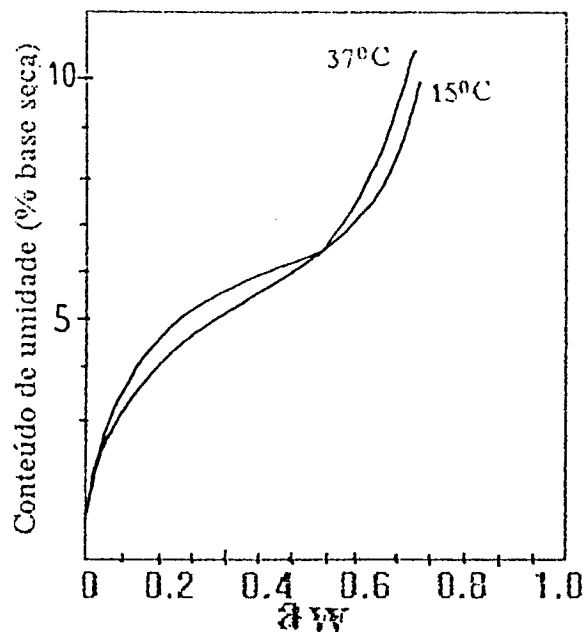


FIGURA 2. Isoterma de absorção para cacau pelo método "static-jar" com soluções de ácido sulfúrico (IGLESIAS & CHERIFE, 1982 citado por GAIBOR & ALDAS, 1991).

2.2.3. PRECURSORES DO SABOR DE CACAU

O primeiro fator que influencia o sabor do cacau é a constituição genética da planta GRIFFIT (1959) citado por LOPEZ (1979).

BRAUDEAU (1970) mostrou que nem as células com pigmentos, nem as células de reserva dos cotilédones frescos contém alguma das substâncias que darão sabor de chocolate. As sementes não fermentadas são incapazes de produzir tal sabor inclusive após o aquecimento, o que confirma que as substâncias aromáticas se originam durante o processo de fermentação.

A profunda modificação da composição bioquímica das sementes durante o curso da fermentação e secagem conduz à formação dos precursores do sabor, de natureza glucídica e amínica (REINECCIUS, 1972a; ROHAN, 1964; MARAVALHAS, 1971; BAREL, 1983; BIEHL & PARSEN, 1982), assim como de outros compostos aromáticos, tais como pirazinas e aldeídos (REINECCIUS, 1972a; ZAK, 1972; ZIEGLER, 1982a).

O estudo da distribuição dos aminoácidos e açúcares redutores livres ROHAN & STEWAR, (1965); MARAVALHAS, (1971); ROHAN & STEWAR, (1967a); REINECCIUS, (1972a) nas diferentes variedades de cacau, mostram que a presença desses precursores é independente da origem das sementes, mas suas respectivas concentrações dependem, entre outros fatores, do tratamento pós-colheita.

Segundo inúmeras pesquisas, aminoácidos e açúcares redutores livres são os principais precursores para a formação de componentes do sabor, que principalmente na fase de torrefação, participam na síntese das pirazinas, componentes esses de grande importância no sabor de chocolate (REINECCIUS et alii, 1972a).

A proteólise durante a fermentação das sementes de cacau é uma atividade biológica importante, visto que os produtos da degradação da proteína (aminoácidos e peptídeos) também contribuem para a formação do sabor de chocolate, BAREL et alii (1983) e ROHAN & STEWART (1967b). A concentração máxima dos aminoácidos é atingida aos quatro dias de fermentação (ROHAN & STEWART, 1967b).

ZAK & KENEY (1976) investigaram em detalhes a fração protéica, que tem grande influência na qualidade do cacau, além dos carboidratos, que contribuem com os açúcares redutores.

Os açúcares redutores são produzidos em parte a partir da sacarose presente na semente não fermentada. Esse açúcar é hidrolisado durante a fermentação, originando glucose e frutose. A concentração ótima dos açúcares redutores na semente é atingida ao mesmo tempo que o desenvolvimento máximo do sabor e coincide aproximadamente com a concentração máxima dos aminoácidos (ROHAN & STEWAR, 1967b).

Segundo BEAUHAIRE (1978), citado por PEZOA (1989) o conteúdo de sacarose diminui rapidamente no curso dos primeiros dias de fermentação e o teor máximo em açúcares redutores é produzido a partir do quarto dia.

ROHAM & STEWAR (1966, 1967a) afirmaram ainda que a fermentação é importante para a formação de precursores do sabor típico de chocolate e que este somente se desenvolve quando as amêndoas de cacau são submetidas à torrefação,

ocorrendo a degradação de aminoácidos e açúcares redutores para formação de compostos voláteis, como as alquilpirazinas.

A complexidade química que ocorre durante a fermentação não está totalmente compreendida, mas certas enzimas do cacau como as glicosidases, proteases e polifenoloxidasas, são ativadas durante o processo. Em geral, as proteínas são hidrolisadas a aminoácidos, glicosidases complexas são divididas, polifenóis são parcialmente transformados, açúcares são hidrolizados, formam-se ácidos voláteis e há difusão das purinas à testa. (SHIVELY & TARKA, 1984).

Essas alterações bioquímicas são mostradas na FIGURA 3, observando-se sua relação com o desenvolvimento do sabor de chocolate.

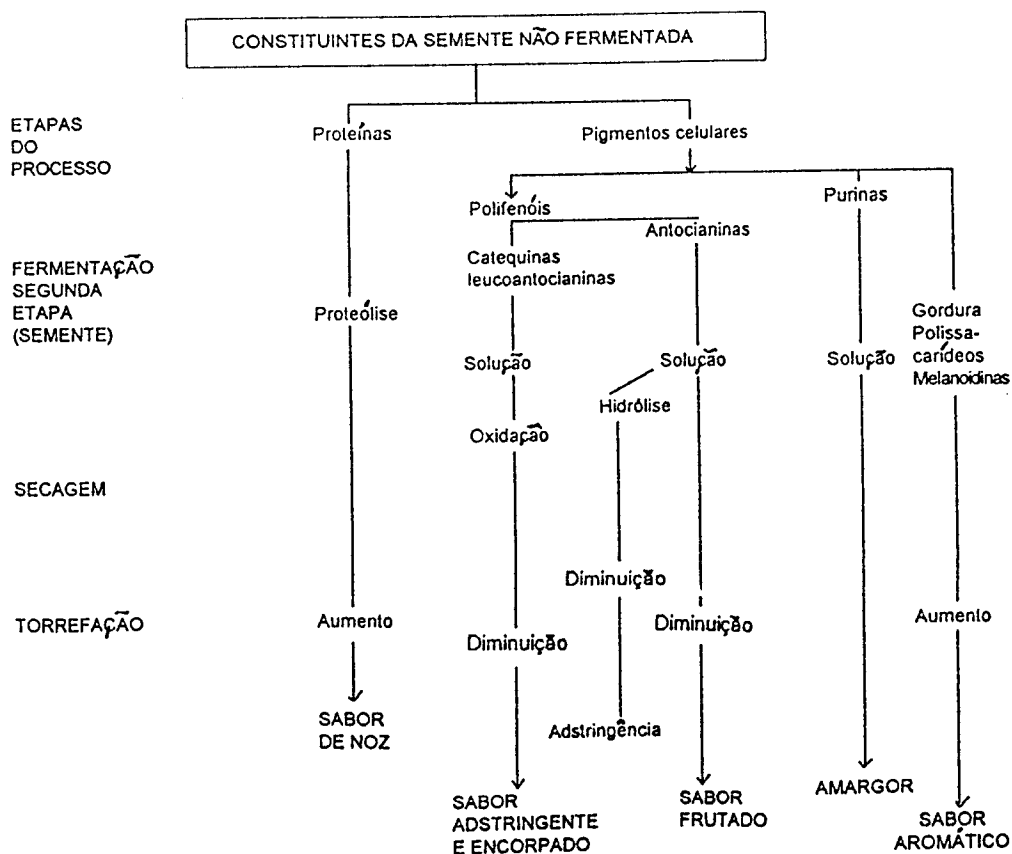


FIGURA 3. Etapas durante a fermentação do cacau e sua relação com o sabor de chocolate.(SHIVELY & TARKA, 1984)

2.2.4. CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DAS AMÊNDOAS

2.2.4.1. Acidez e pH

Segundo QUESNEL (1968) a produção de ácidos está relacionada com a aeração da massa de cacau em fermentação. Apreciáveis reduções na acidez têm sido observadas pelo aumento na frequência de revolvimentos, segundo experimentos realizados por LOPEZ & McDONALD (1982); SCHWAN et alii (1990). O cacau fermentado no Brasil apresenta um produto final com elevado teor de acidez, que pode ser causado pela insuficiência de aeração.

O ácido acético e seus ésteres, retidos no interior das amêndoas depois de secas, são responsáveis pelos sabores de fruta ou de passa de alguns produtos de cacau, porém em excesso, produzem um sabor ácido desagradável que os deprecia, (LOPEZ & McDONALD, 1982). Este é o ácido mais importante relacionado com a acidez elevada do cacau produzido no Brasil, que por consequência sofre restrição de alguns mercados importadores (LOPES, 1983; PASSOS, 1984).

JINAP & DIMICK (1990), estudaram as amêndoas de cacau fermentadas e torradas. Foram analisados o pH, acidez titulável, ácidos voláteis (acético, propiônico, butírico, isobutírico e isoválerico) e ácidos não voláteis (oxálico, cítrico, tartárico, málico, succínico e láctico), considerando duas condições de tempo de torrefação, baixa (150°C, 20 minutos) e alta (150°C, 30 minutos). Quatorze dessas amostras foram convertidas em chocolate e foram analisadas em relação à preferência, aroma e sabor característicos.

O pH das amêndoas não torradas ficou no intervalo de 4.61 a 5.97, e a acidez titulável na faixa de 0.075 a 0.309 meq NaOH/g. O pH e a acidez titulável logarítmica mostraram uma relação linear, com um coeficiente de correlação de -0,94. Ácidos cítrico e láctico foram os principais ácidos não voláteis, enquanto que o acético se mostrou o principal volátil. Amêndoas do Extremo Oriente se mostraram significativamente mais ácidas que as da América Central e do Oeste da África, mas

não apresentaram diferença em relação às da América do Sul. Amêndoas com alta acidez foram caracterizadas pela alta concentração de ácido acético e ácido láctico; entretanto, a forte correlação do pH e acidez titulável, o ácido acético indicou que este ácido deve ser o responsável pela alta acidez das amêndoas de cacau.

Os valores de pH foram classificados em baixo (4,75-5,19), médio (5,20-5,49) e alto (5,50-5,80). A alta torrefação aumentou significativamente o pH, diminuiu a acidez titulável e a concentração de todos os ácidos voláteis, com exceção do ácido acético. A baixa torrefação diminuiu significativamente a concentração dos ácidos propiônico e isovalérico; a concentração de ácido butírico aumentou. As concentrações dos ácidos tartárico, oxálico, láctico, succínico e cítrico, não foram afetadas em ambas condições de torrefação.

2.2.4.2. Composição Química do Cacau

A composição química do cacau pode variar em função de vários fatores, tais como variedade, época de colheita, tamanho de fruto, grau de maturação, condições climáticas e de solo e manuseio pós-colheita. A TABELA 7 mostra a composição química do nibs e testa de cacau.

2.2.4.2.1. Alcalóides

O cacau se destaca por conter uma quantidade apreciável de teobromina, em média, 1.5% na amêndoa seca e uma menor quantidade de cafeína, cerca de 0.15% (MINIFIE, 1989; PEZOA, 1989). Muitos trabalhos reportam o efeito farmacológico e toxicológico desses alcalóides, teobromina e cafeína, que correspondem quimicamente à 3,7-dimetilxantina e 1,3,7-trimetilxantina, de estrutura química segundo apresentada na FIGURA 4. possuem gosto amargo e contribuem com o perfil de sabor de cacau e chocolate. Durante a fermentação, as metilxantinas migram dos cotilédones para a testa, havendo conseqüentemente redução pronunciada do sabor amargo. (ROHAN, 1969).

TABELA 7. Composição química do nibs e testa de cacau

Componentes	Nibs	Testa
Água *	2.1	3.8
Gordura	54.7	3.4
Cinzas	2,7	8.1
Nitrogênio		
Nitrogênio total	2.2	2.8
Nitrogênio protéico	1.3	2.1
Teobromina	1.4	1.3
Cafeína	0.07	0.1
Carboidratos		
Glucose	0.1	0.1
Amido	6.1	---
Pectina	4.1	8.0
Fibra Crua	2.1	18.6
Celulose	1,9	13.7
Pentoses	1.2	7.1
Gomas e mucilagem	1.8	9.0
Taninos		
Ácido tânico	2.0	1.3
Purpura e vermelho	4.2	2.0
Ácidos (orgânicos)*		
Acético (livre)	0.1	0.1
Cítrico	---	0.7
Oxálico	3	0.3

* A água e os ácidos orgânicos podem variar de acordo com o grau de secagem ou torrefação.(MINIFIE, 1989)

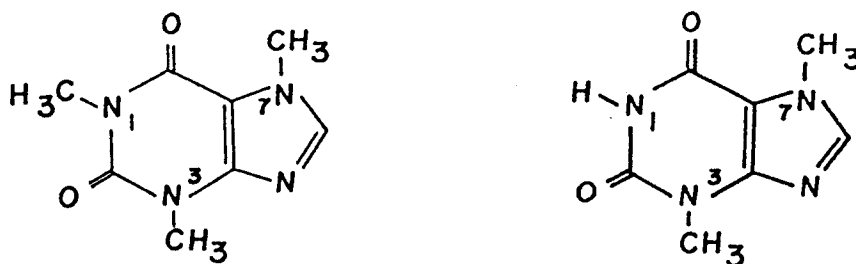


FIGURA 4. Estrutura da cafeína (1,3,7-trimetilxantina), teobromina (3,7-dimetilxantina) SHIVELY & TARKA, (1984)

TIMBIE et alii (1978); ZOUMAS et alii (1980) verificaram que os teores de teobromina e cafeína variam em função do grau de maturação dos frutos, do grau de fermentação e da variedade do cacau. O teor total de alcaloides em base seca e desengordurada variou de 23,7 mg/ g em amêndoas de cacau Criollo, até 49,7 mg/g em amêndoas de cacau Trinitario.

2.3 TORREFAÇÃO

2.3.1. GENERALIDADES DA TORREFAÇÃO

O processo de torrefação é fundamental na obtenção das características de qualidade do chocolate. Otimizar as condições de torrefação do cacau significa desenvolver ao máximo o potencial aromático da amêndoa.

BAUERMEISTER (1981); PEZOA (1989); MERMET et alii (1992) reportaram que as condições de torrefação dependem de varios fatores: origem e tipo da amêndoa, periodo de colheita, tratamentos anteriores à torrefação, umidade, tamanho das amêndoas e nibs e características de sabor desejadas. Essa operação térmica caracteriza-se pelos fenômenos mencionados a seguir:

- a) Perda do teor de água.
- b) Diminuição dos ácidos voláteis indesejáveis, como o ácido acético.
- c) Inativação das enzimas capazes de degradar a manteiga de cacau.
- d) Desenvolvimento do aroma pela reação de Maillard, a partir dos precursores formados durante a fermentação.
- e) Desenvolvimento da cor típica do chocolate.

Segundo MOHR (1978), citado por PEZOA (1989), na torrefação das amêndoas inteiras de cacau há uma diferença de temperatura considerável entre o centro da amêndoa e sua superfície, diferença que pode chegar a 12 °C, podendo acarretar uma torrefação adequada na superfície da semente mas incompleta no centro da mesma, ou uma torrefação adequada no centro e excessiva na superfície, ocasionando uma má qualidade no produto obtido. É importante que neste processo o produto apresente uma temperatura uniforme, pois uma diferença de 5 °C abaixo da temperatura ideal de processamento acarreta alterações importantes em relação ao sabor e ao contrário, qualquer aumento acima dessa temperatura, provoca perdas de manteiga de cacau por migração desta (BAUERMEISTER, 1981).

Ao se utilizar o nibs ou a pasta de cacau na torrefação, ao invés de amêndoas inteiras como no processo convencional, esses efeitos são minimizados, obtendo-se ainda melhor transferência de calor e conseqüente redução no consumo de energia. REINECCIUS et alii (1972a); PEZOA (1989); MERMET et alii (1992), utilizaram uma temperatura de torrefação de 120 - 150 °C e tempo de 20 a 40 minutos, para trabalhos em laboratório para determinar a formação de alquilpirazinas.

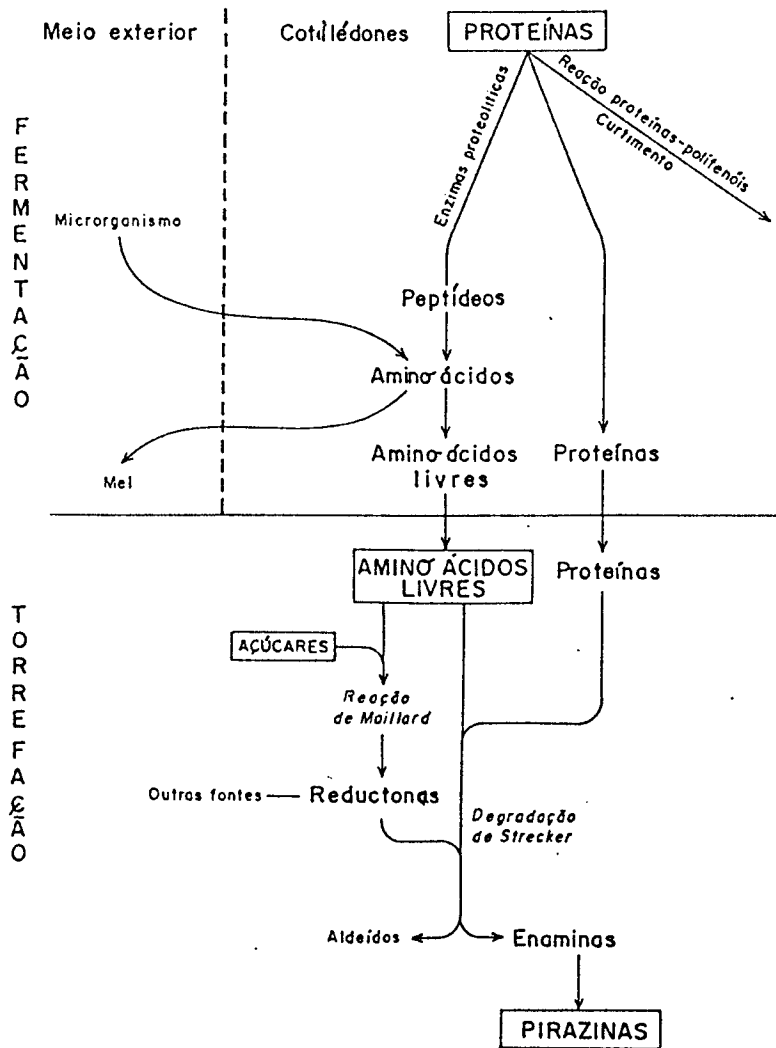
2.3.2. REAÇÃO DE MAILLARD E FORMAÇÃO DE PIRAZINAS

A reação de Maillard ocorre principalmente no decorrer de um tratamento térmico, sendo consideravelmente acelerada pelo aumento de temperatura, mas pode ocorrer também à temperatura ambiente ou de estocagem. Ela é provocada por uma reação inicial entre a função amina de um aminoácido e as funções aldeídicas ou cetônicas de um carboidrato, ou também pelo produto de oxidação de um ácido graxo. Os primeiros produtos da reação são incolores e fluorescentes e sua polimerização torna-os escuros, razão pela qual a reação de Maillard é conhecida também por reação de escurecimento não enzimático (BAREL et alii, 1985).

A Reação de Maillard desenvolve-se em uma zona de pH 3 a 10, sendo que o pH alcalino favorece a reação e o pH ácido tende a inibi-la .A intensidade dessa

reação é maior a umidade de 7 a 15%. Os parâmetros mais importantes da reação são a natureza e o teor de açúcares redutores e aminoácidos (REINECCIUS et alii, 1972a).

As principais etapas da reação de Maillard estão esquematizadas nas FIGURAS 5 e 6



Fonte: (BAREL et alii 1985)
FIGURA 5. Formação das pirazinas

O desenvolvimento de alquilpirazinas é geralmente característico dos produtos submetidos a um tratamento térmico, como produto da reação de Maillard. São componentes importantes do sabor de cacau, (FLAMENT et alii, 1967; RIZZI, 1967; VAN PRAAG et alii, 1968; REINECCIUS 1972b; VITZHUM et alii, 1975). Esses compostos foram particularmente estudados, pois poderiam ser considerados como indicadores de qualidade dos produtos torrados.

ZIEGLER (1982); MAGA (1982); FORS & ERIKSSON (1986), reportam dados sobre os compostos pirazínicos isolados em alimentos, reconhecidos através de testes organolépticos de odor. Os pesquisadores de sabor, concordam que as pirazinas constituem um dos componentes mais importantes na fração aromática do chocolate e outros produtos torrados. Segundo BAREL (1985), elas representam 25% do total dos componentes identificados da fração aromática. do cacau torrado.

REINECCIUS et alii (1972b), abordaram aspectos quantitativos de derivados da pirazina, especialmente sua relação com diferentes origens do cacau, processo de fermentação e técnicas de torrefação. Os resultados indicam que a fermentação influencia a velocidade de formação e a concentração final de pirazinas em amêndoas torradas, principalmente em função da fração de açúcares redutores presentes nelas.

BAUERMEISTER (1981) mostra que a formação das metil pirazinas a partir dos precursores, depende diretamente do tempo e da temperatura de torrefação. O autor enfatiza que a tetrametilpirazina e a 2,5-dimetilpirazina são bons indicadores do grau de torrefação.

Segundo PEZOA (1989), a tetrametilpirazina, a mais importante das alquil pirazinas encontradas no cacau, e as pirazinas de baixo peso molecular como a 2-metil; 2,5-dimetil e 2,6-dimetil pirazinas, presentes no cacau torrado, são produzidas principalmente no curso da torrefação. Este autor ressalta que entre 40 a 60% da 2,3-dimetil, 2,3,5,-trimetil e tetrametilpirazina, são produzidas até 20 minutos do processo de torrefação, observando ainda que estas já estão presentes nas amêndoas fermentadas, antes da torrefação.

Esses importantes compostos heterocíclicos aromáticos aumentam gradualmente com o tempo de torrefação e a diminuição da concentração da tetrametilpirazina nas amêndoas é coincidente com o início da sobretorrefação, possivelmente por volatilização, através do aumento de temperatura no fim do processo (PEZOA, 1989).

2.3.2.1. Pirazinas

Nos alimentos existem 3 tipos de pirazinas: as naturais, aquelas formadas por microorganismos e as pirazinas formadas durante o processo térmico por reação química.(GALLOIS, 1984).

No que se refere à formação das metilpirazinas, sabe-se que certos microorganismos presentes na flora microbiana são capazes de sintetizar as pirazinas, como por exemplo a tetrametilpirazina, produzida pelo *Bacillus subtilis*, sendo que sua concentração aumenta linearmente com o tempo do processo de fermentação. Ela tem um papel importante na composição de muitos alimentos fermentados (KOSUGE et alii, 1979; citado por GALLOIS, 1984). Trabalhos posteriores mostram que quase todas as metil pirazinas já se encontram em pequenas quantidades nas amêndoas parcialmente fermentadas. BAREL et alii (1985) e GALLOIS & GRIMONT (1985), observaram que, durante a fermentação, se tem um incremento considerável da tetrametilpirazina a partir das 48 horas, atingindo um valor máximo no sexto dia. A trimetilpirazina encontra-se em menor quantidade e a 2,3-dimetil e a 2,6- dimetil pirazina, evoluem também no curso da fermentação.

BAREL et alii (1985), supõem que os aminoácidos livres, presentes na amêndoa de cacau depois da fermentação, se condensam com os açúcares disponíveis nos cotilédones para formar as cetonas; os outros compostos dicarboxílicos se condensam com os aminoácidos livres para formar os aldeídos e as aminas. As pirazinas são formadas em seguida por ciclização (FIGURA 6).

SHIBAMOTO & BERNARD (1977) descrevem um esquema geral para a formação de alquilpirazinas através da reação de açúcares com amônia, propondo reações intermediárias para originar todas as pirazinas. Eles observaram que com esses reagentes não foi possível justificar a formação de algumas alquilpirazinas.

KOEHLER et alii (1969) usaram técnicas com radioisótopos, estabelecendo uma tentativa de esclarecer a origem das moléculas de pirazinas. Concluíram que os açúcares contribuem com átomos de carbono e os aminoácidos com átomos de Nitrogênio.

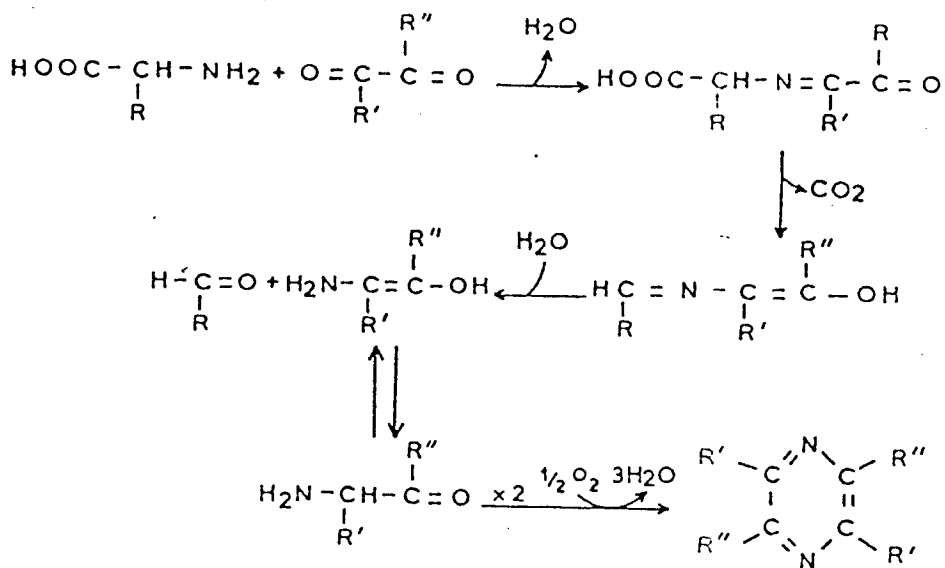


FIGURA 6. Reação de formação de pirazinas

As pirazinas têm uma estrutura cíclica hexagonal insaturada, contendo dois átomos de nitrogênio. As duplas ligações desses átomos conferem propriedades básicas ao composto. (FIGURA 7).

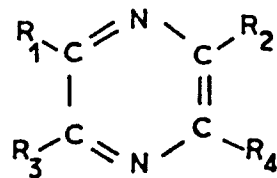


FIGURA 7. Estrutura básica da pirazina

2.3.3. COMPONENTES VOLÁTEIS DO AROMA DE CACAU

Em relação aos compostos do aroma de cacau, têm sido realizados estudos nos diferentes cultivares de cacau e produtos de diferentes processamentos, através de cromatografia gasosa e técnicas de identificação eficazes, como a espectrometria de massa e de ressonância magnética nuclear (FLAMENT, 1967).

O cacau torrado é um dos alimentos "ricos em aroma", havendo aproximadamente 532 compostos individuais relatados, como se mostra na TABELA 8. Os dados mostram que as pirazinas representam o grupo com maior quantidade de compostos identificados.

As pirazinas constituem uma classe importante de compostos, na qualidade do aroma de cacau torrado Percebe-se, todavia, que não foi estabelecida uma correlação entre seus teores e a qualidade do aroma (CROS, 1979).

2.4. DESENVOLVIMENTO DA PESQUISA DO SABOR

O sabor envolve o gosto e aroma. O gosto é a sensação básica devida aos compostos não voláteis (doce, salgado, amargo e ácido) e o aroma é a sensação complexa dada por uma série de compostos voláteis. São estes compostos voláteis que somados aos não voláteis dão o sabor típico dos alimentos. O aroma envolve um número muito grande de constituintes orgânicos de diferentes estruturas químicas e propriedades, em concentrações relativas muito diferentes e presentes em nível de traços. Além disso, são compostos termolábeis, isto é, qualquer aumento de temperatura pode causar rearranjos, ciclizações, etc. Portanto, a pesquisa do sabor é extremamente complexa, requerendo instrumentação moderna e sofisticada (FRANCO, 1992).

Assim como outros tantos sabores de ocorrência natural, o sabor de chocolate é o resultado de uma complexa mistura de um grande número de compostos (LOPEZ & McDONAL, 1981; SILWAR 1988), sendo assim impossível caracterizá-lo por um componente único (LOPEZ, 1979).

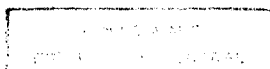


TABELA 8. Componentes voláteis do aroma de cacau (n = numero de componentes)

COMPONENTES	n	COMPONENTES	n
1. ALIFÁTICOS	194	4. HETEROCÍCLICOS	201
Hidrocarbonetos	10	Compostos Oxigenados	37
Álcoois	22	Furanos	22
Aldeídos	16	Sulfetos	01
Cetonas dicetonas		Lactonas	06
Hidroxicetonas	18	Outros	08
Ácidos	35	Compostos Nitrogenados	160
Ésteres	47	Pirróis	14
Éteres	06	Pirróis halogenados	02
Aminas	33	Piridinas	18
Nitrilos	01	Pirazinas	79
Compostos de enxofre	10	Ciclopentapirazinas	13
2. ALICÍCLICOS	20	Quinoxaleinas	10
Hidrocarbonetos	07	Outros	09
Fenóis	08	Thiazóis	09
Álcoois	05	Oxazóis	15
Cetonas dicetonas	04	TOTAL	532
Ésteres	01		
outros	03		
3. AROMÁTICOS	93		
Hidrocarbonetos	32		
Fenóis	08		
Álcoois	05		
Aldeídos	05		
Cetonas	05		
Ácidos	17		
Ésteres	13		
Éteres, acetaldeídos	02		
Compostos de nitrogênio	04		
Compostos de enxofre	02		

Fonte: (SILWAR, 1988)

As etapas básicas da pesquisa dos compostos aromáticos são: 1) Extração dos voláteis; 2) Separação e quantificação por cromatografia gasosa 3) Identificação por espectrometria de massa e, 4) Avaliação sensorial e correlação com a composição química.

2.4.1. MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DOS VOLÁTEIS

Os componentes aromáticos se encontram num substrato bastante complexo constituído principalmente de glicídios, lipídios, proteínas, ácidos orgânicos, água etc. Se durante a extração, não ocorre a separação de todas as substâncias citadas anteriormente, estas podem modificar profundamente as características aromáticas da amostra, e além disso, pode ocorrer durante esta etapa, a produção de novos compostos devido por exemplo à influência da temperatura ou da ação enzimática.

Em geral os aromas são constituídos por um número de componentes químicos naturais e variados (aldeídos, aminas, cetonas, ésteres, hidrocarbonetos heterocíclicos, etc). Esses compostos são muito voláteis, termolábeis e a maioria encontra-se como traços na amostra, o que dificulta sua análise.

Se o método de extração utiliza temperaturas elevadas, os precursores do aroma presentes podem continuar a reação modificando o aroma inicial. Por outro lado, as mudanças físicas durante a extração, como a variação de pressão, podem promover perdas importantes do aroma.

São descritos a seguir alguns métodos empregados para o isolamento de voláteis nos alimentos e a forma de concentrá-los.

2.4.1.1. Destilação

A forma mais simples de extrair os aromas é a destilação a baixa pressão, a fim de reduzir a temperatura de trabalho, e o arraste de outras substâncias voláteis não aromáticas (ALBEROLA & IZQUIERDO 1976). Pode-se ainda realizar a injeção direta do destilado no cromatógrafo porém os compostos presentes em menores quantidades não são detectados (FROLICH & SCHREIR 1986). A destilação a alto vácuo para

estudar os compostos voláteis de diferentes frutas foi utilizada, por FROLICH et alii, (1989).

2.4.1.2. Destilação -Extração simultânea

LIKENS & NICKERSON citado por GODEFROOT et alii, (1985) desenvolveram uma unidade de destilação e extração simultâneas, que tem sido usada por um grande número de pesquisadores, como nos trabalhos de BUTLER & BURKE (1976), FLATH & FORREY (1977), HUMBERT & SANDRA (1988) e PEZOA. (1989). Esses autores combinaram a destilação e a extração contínua, utilizando dois balões de destilação, sendo que um contém a amostra diluída em água e o outro o solvente extrator. Destilam-se em separado e condensam-se juntos, produzindo-se o processo de extração. As duas fases do condensado são separadas por diferença de densidade e retornam a seus recipientes de origem, de forma que o solvente vai concentrando os compostos voláteis. Denominou-se o procedimento de "Simultaneous Distillation Extraction" (S.D.E.). A figura 8 mostra o sistema de LIKENS & NICKERSON

As vantagens da destilação-extração simultâneas são: a) obtenção de uma concentração elevada dos compostos voláteis desejados, a partir de uma solução diluída, em um tempo aproximado de uma hora; b) utilização de pequeno volume de amostra, e conseqüentemente de solvente, o que diminui o perigo da introdução de contaminantes e perdas de voláteis; c) minimização da degradação térmica dos compostos voláteis. Nesse método pode-se obter melhores resultados trabalhando-se com pressão reduzida.

FLATH & FORREY (1977) e AU-YEUNG & MACLEOD (1981), realizaram modificações ao S.D.E., para isolamento de compostos voláteis das frutas. GODEFROT et alii (1982), propuseram modificações, que foram empregadas por NUÑEZ et alii (1985) para realizar a análise qualitativa dos componentes voláteis responsáveis pelo aroma de pomelo, empregando pentano-eter etílico (2:1 v/v) como solvente. Esse mesmo sistema foi utilizado para identificar e quantificar os aromas de mamão (MORALES & DUQUE, 1987) e sucos concentrados (NISSEN & MAARSE 1986).

2.4.1.3. Extração direta

A extração direta tem o inconveniente de extrair, além dos aromas, substâncias não voláteis que podem interferir na etapa de seleção e identificação.

Pode realizar-se de duas maneiras: manualmente ou com extratores líquido-líquido. Em ambos os casos utiliza-se um solvente com poder extrativo alto e relativamente seletivo, durante um tempo determinado (PECSOK & SHIELDS, 1973).

Na extração contínua líquido-líquido, como o tempo de extração é muito longo, pode-se formar produtos de decomposição

2.4.1.4. Análise direta dos gases do Espaço cabeça ou "Headspace"

No espaço cabeça encontram-se a maioria das substâncias responsáveis pelo aroma dos alimentos. O problema reside na baixa concentração de muitas delas. O estudo dos aromas utilizando de forma combinada as técnicas de extração dos vapores do espaço cabeça e da cromatografia a gas, resulta num método atrativo para a análise de componentes voláteis dos alimentos, pois é relativamente simples, envolvendo poucas etapas no preparo da amostra e pode ser automatizado. Duas são as principais técnicas utilizadas para a análise do espaço: espaço cabeça estático e espaço cabeça dinâmico.

Espaço cabeça estático.- Um volume conhecido dos vapores do espaço cabeça é injetado diretamente no cromatógrafo utilizando uma seringa especial. Esta técnica somente é adequada para os compostos de alta volatilidade e grande concentração (JENNINGS & FILSOOF, 1977). O espaço cabeça estático tem sido empregado ocasionalmente para o estudo dos voláteis de maçã, cebola, vinho e ervas aromáticas (NUÑEZ & MAARSE, 1986).

Espaço cabeça dinâmico.- Consiste no arraste, com um gás inerte, dos voláteis de uma amostra e posterior concentração destes, antes de introduzi-los no cromatógrafo. É imprescindível uma etapa prévia de concentração. Nessa etapa pode-se empregar algumas técnicas; a utilização de armadilhas criogênicas, a adsorção dos

componentes do aroma em armadilhas de polímeros porosos e ainda armadilhas de soluções químicas. A técnica de concentração de substâncias voláteis por adsorção em polímeros porosos macrorreticulares, vem sendo muito utilizada na atualidade.

A adsorção dos componentes voláteis se realiza fazendo atravessar uma corrente de gás inerte com os voláteis extraídos através do polímero contido no tubo de vidro ou de aço inox

VITZHUM & WERKHOFF (1977) avaliaram o aroma de café, chá e cacau. Os componentes voláteis dessas amostras ou suas suspensões aquosas foram arrastados por hélio purificado e aspirados em uma coluna de Tenax. Essa técnica de polímeros porosos resultou na identificação de um grande número de componentes de baixo ponto de ebulição.

Os polímeros mais empregados são: Porapak, tipos Q, P, R, S, T, N, QS, PS; Chromosorb, tipos 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108.

Após realizar a adsorção, os componentes do aroma são desorvidos, na maioria dos casos, com éter etílico recém destilado (OLAFSDOTTIR et alii, 1985; BUTTERY et alii, 1990).

2.4.1.5. Extração com gases pressurizados

Muitas pesquisas industriais e acadêmicas têm sido realizadas para a investigação de processos que utilizam gases pressurizados como solventes em operações de extração e/ou separação. Tais técnicas exploram o poder de solubilização dos agentes de extração, à temperaturas e pressões próximas do ponto crítico destes solventes, que advém de observações experimentais que comprovam o aumento no poder de solvatação de muitos gases quando comprimidos a condições próximas ao ponto crítico (FERREIRA, 1992).

As operações de extração e ou separação com gases pressurizados (sub e supercríticos), atendem às exigências das áreas de importância, como a química fina, a

farmacêutica e a de alimentos, onde a qualidade do produto final é fator determinante. Para essas áreas, o solvente gasoso mais empregado é o dióxido de carbono.

De todos os fluidos utilizáveis em condições supercríticas, o CO_2 é também o mais conhecido e o mais usado, mais econômico, atóxico, não inflamável e não deixa resíduos no extrato.

As condições críticas do CO_2 são 72.9 atm e 31.05 °C. Se um gás como o dióxido de carbono for comprimido, certas variações distintas nas propriedades físicas serão observadas, como pode ser notado no diagrama típico pressão-temperatura (FIGURA 9).

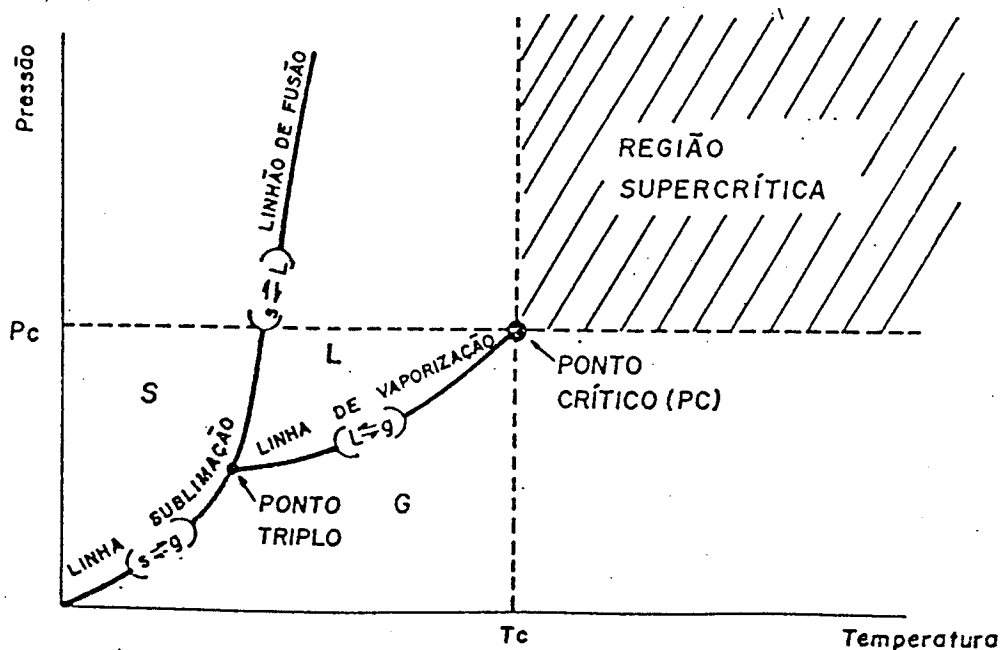


FIGURA 9 Diagrama de fases (Pressão x Temperatura) de um composto puro, sendo: S= sólido; L= líquido; G= gás

Aumentando-se a pressão desse gás a uma temperatura menor do que a temperatura crítica (T_c), líquido e vapor saturado podem existir juntos. Abaixo de um certo volume, para uma dada pressão, o material será todo líquido. Em temperatura acima de T_c , não é mais possível liquefazer o gás, não importando quanta pressão seja aplicada. Dessa forma, T_c é a temperatura crítica do gás, e P_c é a pressão crítica, ou seja, a pressão requerida para liquefazer o gás na temperatura crítica da substância. (TEMELLI et alii, 1986; citado por FERREIRA, 1992).

A pressão crítica está em equilíbrio com a temperatura crítica. Essas duas condições designam o ponto crítico. Acima desse ponto, existe a região crítica, demarcada na FIGURA 9 pela área achurada. Nessa região, o gás se encontra no estado de fluido supercrítico (MARENTIS, 1988), e a região delimitada pelas linhas de vaporização, liquefação e pressão crítica foi denominada por GERMER (1988), de região de líquido subcrítico e as extrações que operam nessa região, de extrações subcríticas. Para pressões acima de pressão crítica e a temperatura abaixo da temperatura crítica, a região é denominada de região de líquido supercrítico.

As condições críticas do dióxido de carbono são acessíveis e permitem extrair os aromas a baixas temperaturas. Essa característica é importante para extração de substâncias termolábeis (BRUNA 1989).

Alguns compostos que, em condições normais são pouco solúveis nesse gás, podem ser solúveis no fluido em estado sub ou supercrítico. Por outro lado, a capacidade de solubilização do fluido supercrítico aumenta com sua densidade podendo se extrair substâncias pouco voláteis. Dessa maneira, variando as condições de temperatura e pressão, pode-se conseguir separações análogas às que se produzem em uma destilação fracionada, havendo ainda a versatilidade de extrair seletivamente as substâncias complexas, de interesse, ou fracioná-las. As vantagens são: maior simplicidade e maior rapidez em relação aos sistemas tradicionais.

Existe uma infinidade de aplicações possíveis para a extração com gases pressurizados e possivelmente, o desenvolvimento de maior conhecimento das características e do comportamento dos solventes utilizados nessas operações, poderá resultar

em maior aplicação desse processo. Esses processos estão sendo objetos constantes de estudo, o que é motivado pelas vantagens de sua utilização (FERREIRA, 1992).

Segundo MATEO & CARBONEL (1990), a extração com fluidos supercríticos têm sido utilizada para isolar os aromas de diferentes materiais (café, lúpulo por exemplo), e de óleos essenciais (citrus).

VIDAL (1989) extraiu os aromas de baunilha com CO₂, pressurizado entre 85 e 100 bar e temperatura entre 20-70 °C.

ROSSI et alii (1989a) realizaram a extração de manteiga de cacau de amêndoas não torradas em diversas condições de pressão e temperatura (300-400 bar e 50 - 80 °C) num período de 5 horas. Os resultados mostraram uma redução de 5 - 15% no conteúdo das pirazinas de mateiga.

ROSSI et alii (1989 b) estudaram a extração de lipídios de cacau com dióxido de carbono supercrítico em função do tempo, temperatura e pressão e demonstraram que os lipídios são solúveis à pressão de 300 bar e temperatura de 80°C.

GERMER (1989); FERREIRA (1992), estudaram a extração de óleos e essências de plantas aromáticas (cravo da india e pimenta do reino) utilizando dióxido de carbono líquido subcrítico.

2.5. MÉTODOS DE SEPARAÇÃO E DOSAGEM

2.5.1. CROMATOGRAFIA GASOSA

A cromatografia gasosa é, sem dúvida, a técnica analítica mais usada atualmente nas pesquisas envolvendo aroma. A complexidade da análise exigira os limites máximos de resolução e sensibilidade da cromatografia gasosa no entanto como foi salientado por JENNINGS & FILSOOF (1977), é o método onde ocorrem maiores

variações nos resultados, o que é confirmado em alguns artigos publicados que empregaram essa técnica.

Desde a introdução do cromatógrafo gasoso e de técnicas sofisticadas como acoplamento do cromatógrafo ao espectrômetro de massa, assistiu-se a uma atividade crescente de pesquisa sobre a composição de voláteis dos alimentos (FRANCO, 1992).

Houve uma evolução significativa em cromatografia gasosa com o advento das colunas capilares de sílica fundida, que permitem separações de misturas complexas em centenas de componentes, em análises rápidas.

Os injetores foram aprimorados e além da técnica normal de "split" para a introdução de amostras concentradas, GROB (1981) citado por FRANCO (1992), desenvolveu uma técnica de "splitless" para a análise de traços e a técnica de "cold on-column" para amostras termolábeis.

2.6. AVALIAÇÃO SENSORIAL

Os principais objetivos da avaliação sensorial dos alimentos são: oferecer subsídios que possam se traduzir em melhoria de qualidade, observação dos efeitos do processamento ou armazenamento e a caracterização de produtos em estudo. (AMERINE et alii, 1965).

A existência de técnicas para testes de caracterização sensorial permite a determinação do grau de aceitação, preferência ou diferença entre amostras. Entretanto essas técnicas existentes não dão uma total descrição do produto em termos de suas características sensoriais percebidas por um grupo de pessoas não treinadas.

Os métodos analíticos descritivos, descrevem as características percebidas e suas intensidades. A técnica inclui uma avaliação e comparação de sabores, discriminando-os, seja pela descrição das impressões do produto como um todo, como por suas características individuais.

2.6.1. RELAÇÃO DE SABOR E PROVA DE CORTE NA ANÁLISE SENSORIAL

O sabor -"flavour" (inglês); "flaveur" (Francês)- é uma sensação complexa do gosto e aroma. Na literatura existem duas definições de "flavour": a primeira inclui os quatro gostos básicos e aroma percebidos na degustação, enquanto a segunda considera, o "flavour" como a impressão total dado pelo sabor, odor, tato, cinestesia e sensações bucais tais como temperatura, dor textura. (JELLINEK, 1985)

A prova de corte é considerada normalmente como uma previsão do potencial do sabor do chocolate e consiste em avaliar a aparência das amêndoas não torradas , após um corte longitudinal. A CEPLAC (1968) classifica as amêndoas de acordo com o grau de qualidade em boa, média, inferior e mofada.

MINIFIE (1989) propõe determinar a qualidade da amêndoa de cacau pela prova de corte em conjunto com a avaliação do sabor de chocolate feito de amêndoas torradas, o que possibilita estabelecer uma relação entre as duas análises. Por outro lado, LOPEZ & McDONAL (1981) relatam que a prova de corte, apesar de prover uma base para se julgar a qualidade física da amêndoa, nos dá apenas uma vaga indicação do sabor intrínseco potencial das amêndoas, conforme apresentado na TABELA 9. Os autores descreveram as limitações da prova de corte com relação à previsão do potencial do sabor de chocolate das amêndoas, e afirmam que a qualidade do sabor só pode ser inteiramente determinada pelo método subjetivo de avaliação organoléptica, cujos resultados são usualmente descritos em termos de sabores simples e conhecidos. Esses são frequentemente ambíguos.

Ainda segundo os mesmos autores, o número de possíveis analogias descritivas para expressar a sensação de sabor são virtualmente ilimitadas. Algumas de uso mais frequentes do sabor de chocolate são mostradas na TABELA 10. O sabor de chocolate é constituído de um grande número de componentes, poucos dos quais são inerentes à semente crua, pois a maioria são desenvolvidos durante o pré-processamento e o processamento do chocolate. Conforme TABELA 10, esses sabores são divididos em três categorias:

1. Componentes básicos do sabor de chocolate: São aqueles sabores essenciais e característicos do chocolate, sendo que a falta ou excesso provocarão um desequilíbrio no sabor, reduzindo a qualidade do produto final.

2. Sabores auxiliares: Podem ser componentes de sabor básico de chocolate ou de outros sabores, que são acentuados, e se destacam, dando ao chocolate uma característica especial.

3. Sabores estranhos: Podem ser qualquer tipo de sabor incluindo aqueles citados que mascaram o sabor de chocolate.

Os componentes básicos do sabor, desenvolvidos durante o processamento, podem ser atribuídos à presença de polifenóis oxidados e hidrolisados, assim como combinações desses com proteínas, aminoácidos, peptídeos e carboidratos, conforme mostrado na FIGURA 6.

Nesse mesmo sentido, NEY (1992) descreveu que no cacau, há ocorrência de sabores estranhos não desejáveis tais como: fumaça, ácido, bolor, adstringente e amargo sendo que fumaça é sabor estranho causado por agente externo; ácido e bolor são defeitos endógenos, onde os componentes estranhos se originam no cacau; amargo e adstringente, são devidos a um desequilíbrio dos componentes do sabor, normalmente encontrados no cacau. O amargor é o resultado de um desequilíbrio de purinas tais como teobromina, cafeína e diquetopirazinas, produzindo uma ação sinérgica de amargor, essencial para o cacau. A adstringência, presente em níveis elevados, passa a ser indesejável para o cacau; é causada por polifenóis (tais como catequinas) e por compostos derivados. Não formando nenhum componente estranho, esse defeito pode ser corrigido no processamento, desde que não esteja acentuado.

TABELA 9. Avaliação da qualidade das amêndoas a través da prova de corte

	CONDIÇÃO	COR	CAUSA	SABOR
APARÊNCIA EXTERNA	INTATO	Rosa palido/bege amarelo marrom	Fermentação insuficiente a não fermentado	Excessivamente amargo e adstringente; chocolate fraco com cor marrom escuro
		Vermelho marrom	Bem fermentado	Bom sabor de chocolate
		Marrom escuro a preto	Muito fermentado, doença ou queimado	Sabor fraco acompanhado de sabores estranhos como presunto, peixe
	GERMINADO			Deficiências de sabor não determinadas mas geralmente sabor típico de madeira
APARÊNCIA INTERNA	QUEBRADO LIVRE DE INFESTAÇÃO	Ardósia	Não fermentado	Sabor fraco de chocolate excessivamente adstringente e amargo sem sabor típico
		Violeta textura compacta	Pouco fermentada	Adstringente e amargo provavelmente muito ácido e fraco sabor típico
		Violeta com textura aberta	Bem fermentada a pouco fermentado	Bom sabor típico de chocolate leve excesso de sabor ácido e de fruta. Pode ser adstringente e amargo mas não excessivamente
ODOR	Vinho Vinagre Mofado Presunto/ fumaça	Marrom a marrom-violeta	Bem fermentado	Bom sabor típico de chocolate
				Bom aroma característico Ácido e ou /azedo Sabor estranho de terra
			Contaminação o de fumaça	Sabor de defumado/ presunto

Fonte: LOPEZ & MCDONALD (1981)

TABELA 10. Atributos usados na caracterização de qualidade do sabor de chocolate

Componentes do sabor básico de chocolate	Componentes auxiliares de sabor em pequenas quantidades	Sabores estranhos
Cacau	Taninos	Adstringência
Ácido	Malta	Amargor
Adstringência	Toffe	Ranço
Fermentado	Caramelo	Fruta
Nozes	Nozes	Beany
	Ácido	Ácido/azedo
	Passas/suco	Erva
	fruta	Espécies
		Acre
		Tabaco
		Condimento
		Fenólico
		Pão
		Terra/fungo
		Alcalino
		Peixe
		Medicamento
		Óleo
		Fumaça
		Presunto

Fonte: LOPEZ & McDONALD (1981).

CLIFFORD (1985) relata que, com relação ao sabor do café, é importante diferenciar entre os sabores ácido e azedo. A acidez é desejável e associada com prótons e doadores de prótons detectados pelas papilas gustativas; o sabor azedo é indesejável, pois é característica de um processamento mal conduzido dos grãos e está associado a uma mistura de ácidos, álcoois e ésteres.

Dois outros sabores que frequentemente se confundem são o amargo e o adstringente. Um bom café pode caracterizar-se por alguma sensação de amargor ou de adstringência, embora isso não possa ser exagerado, como no caso de torrações com produto escuro, ou elevada porcentagem de grãos verdes.

3 - MATERIAL E MÉTODOS

3.1. MATERIAL

3.1.1. FRUTOS DE CACAU

Foram avaliados frutos provenientes de dez clones diferentes de cacau, relacionados na TABELA 11, a qual mostra a procedência e caracterização (origem da variedade e forma do fruto), tendo sido produzidos na Estação Experimental de Paricuera-Açu, S.P., do Instituto Agronômico de Campinas (IAC). Os frutos maduros em número de 60 por clone foram colhidos no mês de maio de 1992, tendo sido transportados para Campinas e imediatamente preparados para a realização dos testes tecnológicos

TABELA. 11. Dados relativos aos clones estudados.

Clone	Origem	Variedade - Tipo
UF 29, 613	United Fruit Co, Costa Rica	Forastero - Amelonado
UF 667, 668	United Fruit Co, Costa Rica	Trinitário - Anjoleta
ICS 60, 95	Imperial College Selection, Trinidad	Trinitário - Cundeamor
ICS 67	Maranhã Collection, Iquitos Perú	Amazônico - Anjoleta
IAC 1	Instituto Agronômico de Campinas	Trinitário - Amelonado
SCA 12	Scavina Equador	Amazônico - Amelonado
P 7	Pound - Perú	Amazônico - Amelonado

Fonte: (SORIA, & ENRIQUEZ, 1981)

Os experimentos foram desenvolvidos no Laboratório de Frutas, Hortaliças e Produtos Açucarados da FEA-UNICAMP, Campinas S.P.

3.1.2. EQUIPAMENTOS E APARELHOS

- Extrator com fluido pressurizado (CO₂), projetado e montado pelo laboratório Separações Físicas DEA-FEA-UNICAMP. (FIGURA 12)
- Micro extrator-destilador tipo LIKENS & NICKERSON, adaptado a um destilador de nitrogênio (FIGURA 11)
- Refratômetro digital
- Cromatógrafo a Gás Varian, modelo 3400. e Integrador Varian, modelo 4400.
- Espectrofotômetro UV/V BECKMAN, modelo DU-70.
- Extrator de Gorduras tipo Soxhlet Fanem, modelo 170-1.
- Bloco digestor de proteínas TECHNICOM- BD-40
- Destilador de nitrogênio Tecnal, modelo TE-036.
- Agitador rotativo de Bligh Dyer.
- pH-Metro Micronal, modelo B-374.
- Mufla Engro, modelo 355-L.
- Estufa Fanem, modelo 315-SE.
- Forno elétrico, com termóstato Micro-vulcão.
- Centrífuga Fanem, modelo 204-N.
- Circulador de água com refrigeração, PolyScience, model 9000.
- Vibrador de Peneiras Proudest.
- Termômetro sensível faixa de -1 a 51, precisão 0.1°C SAMA, modelo ct-40).
- Balança semi-analítica Mettler, modelo P 1210.
- Balança analítica Oertling, modelo LA 164.
- Desintegrador de facas ICMA, TIPO Rietz
- Moinho piloto de rolos Brabender-Senior, modelo Quadromatic.
- Separador de testa da amêndoa por fluxo de ar fabricado na planta piloto do DTA UNICAMP
- Outros aparelhos de materiais comuns de laboratório e, planta piloto.

3.1.3. REAGENTES

Os reagentes utilizados nas análises químicas foram de qualidade especial para análise (p.a.), de diferentes procedências: Merk, Cinética Química Ltda., Grupo Química. Os padrões de pirazinas 2,3-di; 2,5-di; 2,3,5-tri e 2,3,5,6-tetra metil pirazinas utilizados foram da Aldrich Chemical Company

3.2. MÉTODOS

O cacau foi processado segundo a metodologia tradicional, conforme apresentado no fluxograma da FIGURA 10.

3.2.1. CARACTERIZAÇÃO FÍSICA DOS FRUTOS E SEMENTES

De cada clone foram separados 5 frutos, tendo sido registrado os seguintes parâmetros, individualmente para cada fruto: massa total do fruto, massa das sementes com polpa, massa das sementes sem polpa, massa da placenta, número de sementes e tamanho das sementes: comprimento, largura e espessura.

3.2.2. FERMENTAÇÃO

As condições de fermentação foram estudadas preliminarmente através de realização de fermentação com caixas de isopor de diferentes volumes, números de furos e diâmetros, (ANEXO 1). A partir desses testes, verificou-se a importância do controle da velocidade de escoamento da polpa hidrolisada durante o processo, mediante o número e tamanho dos furos localizados no fundo das caixas.

A caixa que apresentou melhor resultado foi aquela com capacidade de aproximadamente 3 litros (11x14x19 cm) e com 8 orifícios, no fundo de 0.5 cm de diâmetro, espaçados de 2.5 cm para o escoamento do mel. Cada caixa comportava 2.800 g. de sementes e polpa mucilaginosas frescas, as quais foram cobertas com folhas de bananeira, da mesma forma utilizada pelos produtores do cacau, permanecendo assim por todo o período de fermentação. Em todas as fermentações realizadas neste trabalho, foram feitos revolvimentos, transferindo o material da caixa a um outro recipiente, sendo realizado o primeiro revolvimento após 48 horas e os subsequentes a cada 24 horas. O processo teve uma duração de cinco dias. Cada clone foi fermentado em duplicata.

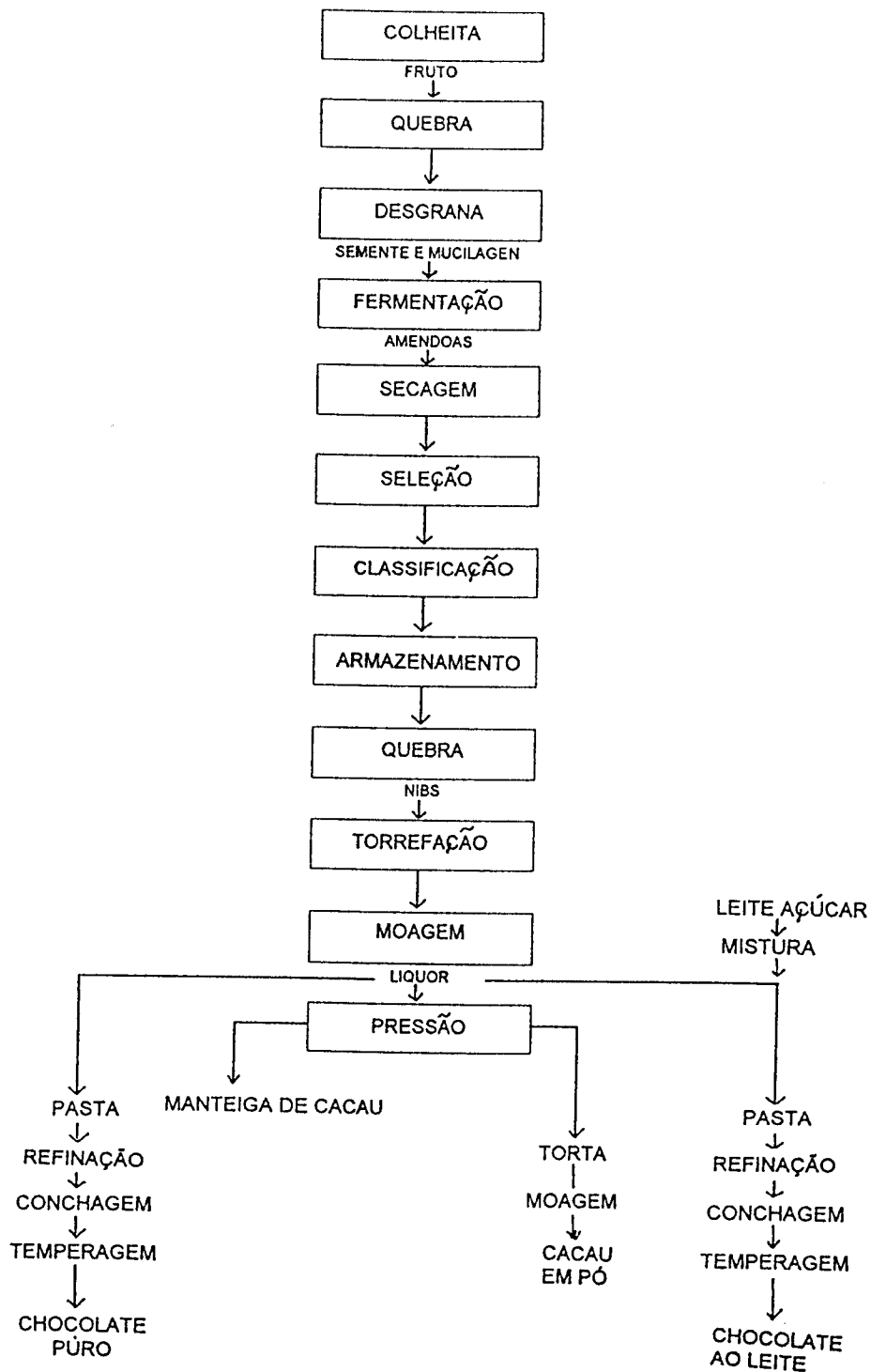


FIGURA 10. Fluxograma de processamento Industrial dos produtos de cacau e terminologia utilizada nas diferentes etapas do processo

O cacau fermentado foi obtido em condições experimentais a partir de frutos com 3 dias pós-colheita, obtendo-se assim, condições similares daquelas obtidas pelos cacaucultores.

3.2.2.1. Determinação de sólidos solúveis (°Brix)

O °Brix da polpa mucilaginoso foi determinado no início e nos primeiros dias do processo de fermentação, utilizando-se refratômetro digital.

3.2.2.2. Controle da temperatura da massa de sementes de cacau durante a fermentação

As medidas de temperatura foram realizadas a cada 8 horas em três níveis diferentes: superfície, meio e fundo da caixa. A temperatura considerada foi a média das três leituras.

3.2.3. SECAGEM DAS AMÊNDOAS DE CACAU

A secagem do material foi feita naturalmente, ao sol, em bandejas de madeira (1,0 x 1,0 x 0,1 m) e, segundo recomendado por ROHAM (1969), com revolvimentos a cada duas horas. O processo de secagem foi interrompido quando as amêndoas atingiram de 6,5 a 7,5 % de umidade.

3.2.4. CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DAS AMÊNDOAS

Após a secagem das amêndoas foram efetuadas as seguintes determinações:

3.2.4.1. Massa de 100 amêndoas.- Colhidas ao acaso

3.2.4.2. Número de amêndoas em 100 gramas.- Colhidas ao acaso

3.2.4.3. Densidade aparente.- Por deslocamento volumétrico, segundo a técnica descrita por Benneion, deslocamento de sementes (painso); Fabricación de pan) pg 390 1969.Com a mesma amostra do item 3.2.4.1.

3.2.4.4. Composição em frações das amêndoas.- Uma amostra de 100 amêndoas foi descascada manualmente, separando-se a testa, o gérmen e os cotilédones. Cada uma das frações foi pesada.

3.2.5. ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS DAS AMÊNDOAS

As amêndoas foram analisadas visando relacionar a qualidade em função do grau de fermentação.

3.2.5.1.- Prova de corte ("cut test.")

Amostras contendo 1 Kg de amêndoas secas, de cada clone, foram classificadas por prova de corte, conforme método proposto na Resolução Número 42 do Conselho Nacional de Comercio Exterior (CONCEX, 1968) a qual admite a tolerância dos seguintes defeitos:

a) Amêndoas mofadas e danificadas por insetos, total máximo de 4% (contadas e não pesadas) e não mais de 2% de cada defeito isoladamente, sem que a soma ultrapasse a tolerância máxima de 4%.

b) Amêndoas ardósias, máximo de 2% contadas

c) Amêndoas germinadas, achatadas e/ou outros defeitos, não ultrapasse a tolerância máxima de 2% contadas.

Por definição na Resolução de N°42 do CONCEX (1968), as características de amêndoas bem fermentadas são:

a) Amêndoas de coloração marrom, mesmo com variações de tonalidades em toda a superfície exposta e com cotilédones facilmente separáveis.

b) Amêndoas de coloração marrom, em mistura com as cores violeta, roxo ou púrpura em pontos ou difusas na superfície exposta e com cotilédones separáveis.

.3.2.5.2. Índice de permanganato de potássio (I.P.) (KMnO₄).

Define-se o índice de permanganato como ml de solução de KMnO₄ por grama de amostra seca (do cotilédone)

Foi utilizado o método desenvolvido por SHULT (1939), citado por GAIBOR & ALDAS (1991), para determinar o grau de fermentação.

3.2.5.3. - Índice de fermentação.(I.F.) (por Espectrofotometria)

Determinado segundo método utilizado pela CEPLAC, com base no método descrito por Gur'eva e Tserevitinov (1979), citado por SCHWAM et alii (1990).

3.2.6. PREPARO DOS NIBS

As amêndoas fermentadas e secas com testa foram colocadas no desintegrador, para quebrá-las em pedaços pequenos (nibs). Separou-se a testa e germen e cotilédones, por diferença de densidade, com auxílio de uma coluna de ar e por peneragem. Efetuou-se ainda a separação dos nibs por tamanho: entre 2 e 3 mm serviram para o processo de torrefação, os maiores que 3mm foram novamente submetidos ao processo de desintegração,

3.2.7. CARACTERÍSTICAS FÍSICAS E QUÍMICAS DOS NIBS

As características físico-químicas dos nibs foram obtidas utilizando-se os métodos analíticos descritos a seguir:

3.2.7.1. Teor de umidade.- método 14.004 da AOAC (1984)

3.2.7.2. pH.- método 13.010, da AOAC - OICC (1984)

3.2.7.3. Acidez titulavel total.- método descrito por LOPEZ (1983)

3.2.7.4. Teor de proteína.- método 13.011 da AOAC. (1984)

3.2.7.5. Teor de gordura.- método 13.012 AOAC-OICC (1984)

3.2.7.6. Teor de cinzas.- método 13.013 da AOAC-OICC (1984)

3.2.7.7. Teor de fibras.- método "Acid Detergnt Fibre"(ADF) (Agric Hand Book 375, 1970)

3.2.7.8. Teor de teobromina e cafeína.- método Espectrofotometria UV; empregado por SHUFEM et alii (1990).

3.2.8. TORREFAÇÃO

A torrefação foi efetuada em forno elétrico, em lotes de 250g de nibs segundo o item 3.2.6. A torrefação foi realizada a temperatura de 145°C por tempos de 10, 12, 14, 16, e 18 minutos, após a qual o material foi imediatamente resfriado, e

acondicionado em embalagens de filme de polietileno e mantido em refrigerador até a utilização.

Os nibs torrados foram moídos com moinho de rolos em operações sucessivas, diminuindo-se a distancia entre rolos até obtenção de granulometria adequada.

3.2.8.1. Determinação do tempo de torrefação

O melhor tempo de torrefação foi obtido através de testes sensoriais. Com base nos resultados (item 4.5.2.) foi escolhido o tempo de 14 minutos para processamento dos clones destinados a avaliação do produto final, e tempos 12, 14, e 16 minutos para as amostras, dos clones UF 29, UF 613, UF 667, IAC 1 e P 7 destinadas a análise de metilpirazinas.

Buscou-se assim as melhores condições desta etapa de processamento e desta forma, pesquisar uma possível correlação entre os resultados de análise sensorial e da quantidade de metilpirazinas.

3.2.9. EXTRAÇÃO DOS COMPONENTES VOLÁTEIS E IDENTIFICAÇÃO E DOSAGEM DE ALGUNS DOS CONSTITUINTES DAS AMÊNDOAS FERMENTADAS E TORRADAS

3.2.9.1. Extração pela adaptação de um micro-extrator de tipo Likens e Nickerson

Com a finalidade de utilizar um método de extração mais rápido, simples e eficiente, um micro extrator foi adaptado a um destilador do tipo utilizado para nitrogênio (FIGURA 9), para a extração dos componentes voláteis. Montado o equipamento, colocou-se na câmara (G) do extrator, aproximadamente 1.5 ml de água destilada e 1.5 ml de solvente de extração (mistura de n-Pentano e Éter étílico 2:1 v/v) até alcançar o nível de rebalse do ramal (E). Esse processo permite extrair de forma contínua os voláteis da amostra, através de arraste pelo vapor de água e solvente. O balão (A) utilizado, tipo Kjeldhal de 250 ml, contem 30 g de amostra misturada com 10 g de NaCl; o frasco (B) contem o solvente de extração insolúvel em água. O vapor de água proveniente do balão (L) que contém uma resistência elétrica e regulada pela chave (X), passa pelo balão (A) e arrasta os componentes voláteis para o micro extrator.

O frasco (B) é aquecido separadamente, de maneira que permita uma ebulição moderada (a 40-45°C), e a coluna de condensação do micro extrator é resfriada por uma solução de álcool/água (1:2), à temperatura de -8°C, condensando no interior do extrator os vapores de água junto com os componentes voláteis arrastados por estes e o solvente, no qual os componentes voláteis são solúveis. Em seguida a fase aquosa é separada do solvente n-pentano éter por diferença de densidade na câmara (G). O excesso de solvente contendo os componentes voláteis é recolhido no frasco (B) pelo ramal (E); o excesso de água volta também ao balão (A) pelo ramal (F). Desta forma os componentes voláteis são recolhidos em quantidade mínima de solvente 1.5 a 2 ml, podendo-se injetar este extrato, diretamente no cromatógrafo gasoso, após a desidratação com sulfato de potássio.

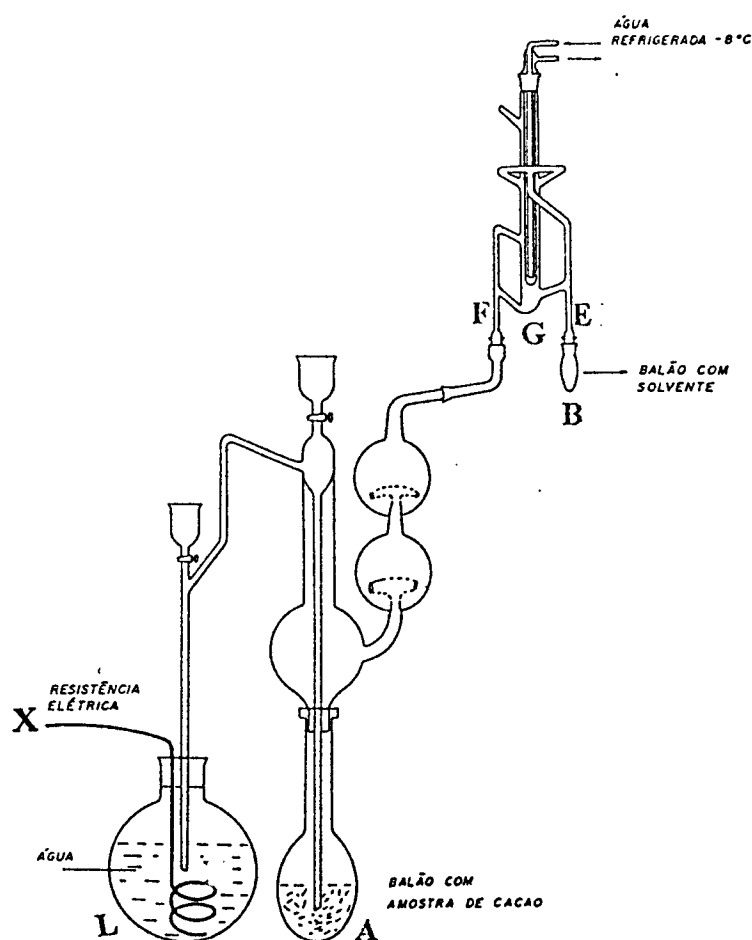


FIGURA 11. Micro extrator-destilador de tipo Likens & Nickerson acoplado a um destilador por arraste de vapor

3.2.9.2. Equipamento de extração com CO₂ pressurizado.

O equipamento de extração em leito fixo, (FIGURA 12) construído para operar com solventes gasosos no estado subcrítico, foi baseado no trabalho de FERREIRA (1991) e consta de:

a) Reservatório A. Cilindro sifonado de 25 kg de CO₂, fornecido pela "Liquid Carbonic". Durante os experimentos, a pressão do solvente foi controlada através do ajuste da temperatura do cilindro, por meio de uma fita aquecedora envolvendo a base do cilindro. Esse reservatório é provido de válvula e é ligado por uma tubulação de 1/4 de polegada ao sistema de separação.

b) Cilindro sifonado de 0.2 m, encamisado, onde a temperatura do solvente é mantida constante através de um banho de resfriamento. Esse reservatório contém um manômetro, calibrado para 315 Kgf/cm².

c) Extrator de leito Fixo. Coluna encamisada de aço inoxidável 304L com 65 cm de comprimento, 2.16 cm de diâmetro interno e 0.028 cm de espessura de parede. As extremidades da coluna possuem telas de aço acopladas para evitar passagem de finos para fora da coluna extratora.

d) Válvula micrométrica. Válvula agulha para controle de fluxo, com indicação graduada de regulagem, permitindo a repetição de ajustes pré-estabelecidos

e) Serpentina de expansão. Serpentina capilar com diâmetro interno de 2x10 cm e comprimento de 50 cm. Essa serpentina tem uma fita de aquecimento.

f) Coluna de adsorção. Coluna encamisada de aço inoxidável, contendo 3g de polímero porapak Q. Tem por objetivo reter os componentes voláteis que estão saindo com o CO₂.

Os banhos de resfriamento citados para o item (b) são extremamente importantes para controlar a temperatura de operação do sistema, garantindo, juntamente com a pressão, a condição do estado do solvente. Foi utilizado um banho com termóstato para controlar a temperatura de resfriamento da coluna de Porapak Q, a -8°C.

3.2.9.2.1. Acondicionamento da coluna com polímero para concentração de voláteis

O polímero utilizado (porapak Q), previamente foi acondicionada em uma coluna de aço inox de 17 cm de comprimento e 0.5 cm de diâmetro interno a qual foi submetida a temperatura de 180°C por no mínimo de 3 horas, sob um fluxo de nitrogênio quimicamente puro a 14 ml/min.

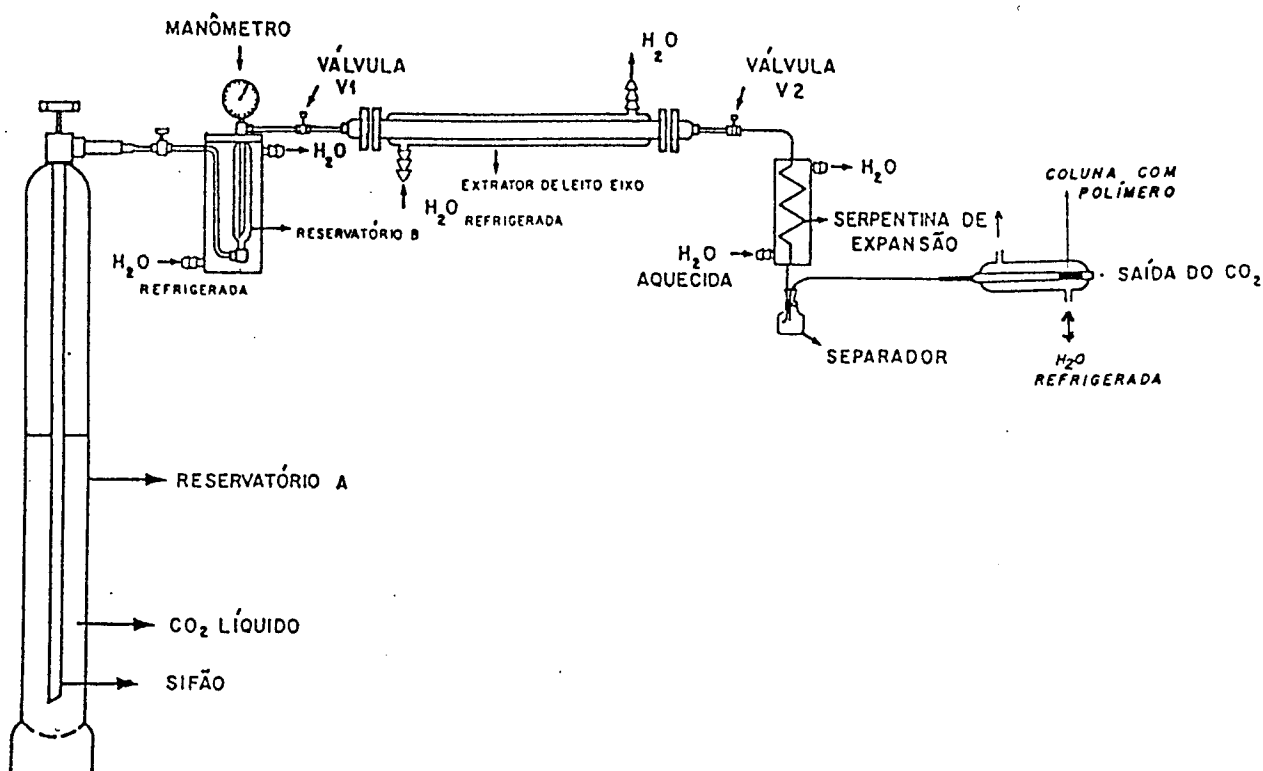


FIGURA 12. Equipamento de extração com CO_2 pressurizado e concentração em coluna com polímero porapak Q.

3.2.9.2.2. Extração com CO₂ pressurizado e concentração em polímero.

As etapas de extração foram as seguintes:

A) Foram pesadas 30 gramas de amostras de cacau com partículas menores de 48 Mesh, preparadas segundo o item 3.2.6. e 3.2.8

b) As amostras relatadas no item (a), foram misturadas com esferas de vidro de 2 a 3 mm de diâmetro com o propósito de aumentar a superfície de contacto da amostra e solvente. A coluna foi empacotada manualmente com ligeiros toques para possibilitar uma acomodação homogénea dos sólidos.

c) A coluna foi acoplada ao equipamento com as conexões devidamente vedadas, sendo os banhos de resfriamento ligados para a estabilização das temperaturas de operação. Simultaneamente a pressão do solvente foi regulada através do ajuste da temperatura do Reservatório A.

d) Após ter atingido as condições de operação (temperatura de 25°C e pressão de 70 bar) para cada experimento, abriu-se a válvula (V1), deixando-se a válvula (V2) micrométrica fechada, a fim de permitir que CO₂ (bióxido de carbono) ficasse em contato com a matriz sólida por um período de 30 minutos para, que o fluido solubilizasse os componentes voláteis. Após esse período, a válvula micrométrica (V2) foi aberta, permitindo que a mistura CO₂ e componentes voláteis saíssem da coluna.

A válvula micrométrica é aquecida para propiciar a vaporização do CO₂ evitando desse modo problemas de congelamento da tubulação durante a passagem da mistura pela válvula micrométrica, devido à perda de carga.

e) A coleta dos componentes voláteis foi realizada na coluna com polímero Porapak Q, previamente condicionada e anexada ao final do sistema de extração, devidamente resfriada a -8°C.

f) O tempo total de extração foi de 40 minutos. Terminada a extração com CO₂ líquido, a coluna com polímero foi desconectada, sendo submetida à extração dos voláteis com o solvente (pentano éter 2:1 v/v), a amostra foi armazenada em frascos de vidro, para posterior análise cromatográfica.

$$\mu\text{g de pirazina} = \frac{A_p \times Cr \times M_{pi}}{A_{pi}}$$

sendo A_p = área do pico da alquil pirazina na amostra

A_{pi} = área do pico do padrão interno na amostra

Cr = coeficiente de resposta da alquilpirazina relativa ao padrão interno

M_{pi} = massa do padrão interno em μg

3.2.10. AVALIAÇÃO SENSORIAL DO SABOR

3.2.10.1. Determinação do tempo de torrefação

Utilizou-se cinco amostras preparadas conforme descrito no item 3.2.8. Foi realizado teste de aroma característico por comparação múltipla (MORAES, 1992), entre as amostras, utilizando-se uma ficha com escala não estruturada de 9 cm, ancorada nos extremos dos termos fraco e forte da escala.(FIGURA 13)

A equipe foi constituído de 15 provadores não treinados, dentre técnicos e pesquisadores com boa acuidade sensorial, bem como um perito de uma firma especializada em chocolates como confirmatório.

Foi empregado análise de variancia (ANOVA) e o teste de Tukey para determinação de diferença significativa entre as amostras.

3.2.10.2. Avaliação sensorial dos dez clones

3.2.10.2.1 Preparo da amostra

Conforme descrito no item 3.2.6 e 3.2.8 os nibs foram torrados a 145°C por 14 minutos.

As amostras para análise sensorial foram inicialmente preparadas como pó em suspensão em água, como descrito por MEURSING (1988): 16 g do pó de cacau, 12 g de açúcar, 100 ml de água destilada fria, agitando-se até obtenção de uma pasta uniforme. Adicionou-se 300 ml de água destilada quente, agitando-se até a obtenção de uma suspensão homogênea.

Essa técnica é aplicada para produtos com baixa granulometria, diferente do presente caso, pois somente com auxílio do moinho de rolos, não se conseguiu obter um produto com a granulometria desejada. Foram então realizadas algumas modificações: adição de 12g de leite em pó à massa de cacau e açúcar acrescentando 100 ml de água quente à mistura; batendo-se em liquidificador. Em seguida acrescentou-se o restante da água e bateu-se novamente, passando-se por peneira de 100 mesh. A suspensão assim obtida apresentou melhores resultados entre os provadores. Essa formulação foi suficiente para o preparo de 12 amostras, as quais foram servidas a uma temperatura de 50°C. Para manter a temperatura desejada colocou-se em banho-maria.

3.2.10.2.2. Seleção e treinamento de provadores

Para a seleção e treinamento dos provadores, foram utilizadas amostras de nibs provenientes de sementes submetidas a diferentes graus de fermentação, baseados nas descrições de qualidade das amêndoas propostas por (LOPEZ & McDONALD, 1981). Tabelas 9 e 10.

- a. Sem fermentar
- b. Mal fermentadas (fermentadas sem revolvimentos)
- c. Parcialmente fermentadas
- d. Bem fermentadas

Foi selecionado o método de comparação da habilidade discriminativa, para a seleção de provadores (porcentagem de acertos comparação de habilidade discriminativa e análise sequencial) de acordo com COSTELL & DURAND, 1981.

A equipe de provadores foi constituída inicialmente de 20 membros e após a seleção, de 12 membros, dos quais 5 eram homens e 7 mulheres, na faixa etária de 25 a 35 anos, entre pesquisadores e técnicos, com boa acuidade sensorial.

Após a etapa de seleção, os provadores foram solicitados a avaliar as amostras e desenvolver termos descritivos do aroma e sabor das mesmas segundo metodologia proposta por STONE & SIDEL (1985). Após varias sessões de discussões, os seguintes termos descritivos foram definidos em consenso pela equipe sensorial como os mais relevantes para caracterizar os atributos de aroma e sabor das amostras: aroma característico e ácido, sabor característico, gosto ácido, amargo e adstringente. Assim, equipe decidiu de forma consensual o modelo de ficha para teste sensorial, (FIGURA 13). A equipe sensorial definiu também, as seguintes definições e referencias (padrões) para os atributos avaliados:

a). Para o padrão de aroma e gosto característicos utilizou-se o cacau bem fermentado e torrado à 145°C por 14 minutos.

b). Para o padrão de acidez, adicionou-se 0.1 ml de solução de ácido acético glacial em 100ml da amostra preparada do item (a)

c). Para o padrão de amargo considerou-se o cacau sobretorrado (18 minutos).

d). Para o padrão de adstringência, utilizou-se a amostra de cacau não fermentado e torrado (14 minutos).

e). Para o padrão de sabores estranhos utilizou-se a amostra de cacau fermentado sob condições não ideais e torrado (14 minutos).

Sesões de treinamento foram oferecidas aos provadores utilizando-se os padrões acima especificados.

Após a etapa de treinamento, os provadores foram submetidos a novo processo de seleção, com base em poder de discriminação, repetibilidade e consenso com a equipe sensorial, segundo DAMASIO & COSTELL (1991).

3.2.10.2.3. Realização dos testes sensoriais

As amostras foram avaliadas em cabinas individuais devidamente condicionadas incluindo luz branca, no período da tarde. Os provadores receberam, em cada sessão, amostras preparadas de clones diferentes, apresentadas em recipientes codificados com numeração aleatória, com três dígitos (AMERINE et alii., 1965).

Cada recipiente continha 25 ml da amostra líquida a testar, servida à temperatura de 50°C.

O delineamento se fez de tal maneira que cada provador teve que testar as 10 amostras em três sessões, sendo três amostras na primeira sessão, três amostras na segunda sessão e quatro amostras na terceira sessão.

Foi utilizada uma ficha de avaliação, conforme FIGURA 13, com escala não estruturada de 9 cm, cujos extremos correspondiam de intensidades fraco e forte.

Os testes foram realizados no laboratório de Análise Sensorial da Faculdade de Engenharia de Alimentos da UNICAMP

3.2.11. ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os dados de mensurações biométricas dos frutos, sementes, amêndoas, composição química, grau de fermentação (prova de corte, índice de permanganato e índice de fermentação), acidez total, pH, testes sensoriais de tempo de torrefação, testes sensoriais de aroma e sabor, de dez clones de cacau e análise dos componentes pirazínicos de cinco clones foram analisados estatisticamente, por Análise de Variância (ANOVA) e Teste de Tukey para determinação de diferença significativa ($p \leq 0.05$) entre as médias das amostras, utilizando-se o pacote estatístico SAS (Statistical Analysis System).

NOME.....DATA.....

Por favor, faça um traço vertical na linha horizontal no ponto em que melhor descreve cada característica da amostra de cacau torrado; faça os comentários que achar conveniente.

AMOSTRA _____

AROMA

CARACTERÍSTICO

Fraco _____ Forte

ÁCIDO

Fraco _____ Forte

SABOR

CARACTERÍSTICO

Fraco _____ Forte

ÁCIDO

Fraco _____ Forte

ADSTRINGENTE

Fraco _____ Forte

AMARGO

Fraco _____ Forte

COMENTARIOS _____

Muito obrigado por sua colaboração

FIGURA 13. Ficha de análises sensorial

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DE 10 CLONES DE CACAU "IN NATURA", PRODUZIDOS NO ESTADO DE SÃO PAULO.

4.1.1. FRUTO

As características físicas dos frutos de 10 clones de cacau "in natura" produzidos pelo IAC no Estado de São Paulo estão expressas na TABELA .12

Pela TABELA 12, observa-se que os principais parâmetros físicos estudados, como massa total do fruto, número de sementes por fruto e massa de sementes por fruto, não apresentam diferenças significativas ao nível de 5% entre a maioria dos clones estudados. O número de sementes por fruto, característica importante do fruto de cacau, mostra que não houve diferença significativa entre nenhum dos clones estudados e 70% destes clones não diferem estatisticamente entre si, no que respeita à massa de sementes por 100 g de fruto. Contudo, em relação à massa de sementes por 100 g de fruto verifica-se que há três blocos estatisticamente bem diferenciados de clones de maior rendimento, entre os quais não há diferenças significativas ao nível de 5%: UF 667, UF 668, ICS 60 e ICS 95. Há um segundo bloco, ainda de bom rendimento, porém que difere do anterior ao nível de 5%, constituído pelos clones reconhecidamente de boa qualidade: UF 29, UF 613 e P 7. O terceiro bloco estaria formado pelos clones de menor rendimento IAC 1, IMC 67 e SCA 12.

Comparando alguns dos valores biométricos obtidos nesses clones cultivados no Estado de São Paulo, com estudo feito por PEREIRA et alii (1985), no qual foram analisados 26 clones produzidos em Ilhéus, Bahia, observamos que as médias do número de sementes por fruto estão muito próximas: 40.37 para frutos da Bahia e 39,8 para os clones cultivados em São Paulo, matéria deste estudo. Em compensação, observou-se que as médias de comprimento e largura dos clones do Estado de São Paulo foram ligeiramente superiores aos da Bahia (25.7 e 23.4mm de comprimento e 12,66 e 12,00mm de largura respectivamente). Em relação a espessura da semente, característica morfológica importante, o cacau cultivado no estado de São Paulo apresentou-se 29% maior que o da Bahia. Esses valores são importantes pois se referem diretamente às sementes, ou seja ao produto comercial mais importante do cacauero.

Estudos de correlação indicam que existe correlação significativa ($p \leq 0.05$) entre massa do fruto e massa de casca ($r^2 = 0.97$) e não existe correlação entre massa do

fruto e massa de sementes ($r^2 = 0.10$) pode-se dizer que a massa do fruto não é um preditor de quantidade e nem de tamanho da semente.

TABELA 12. Valores biométricos dos frutos "in natura" de 10 clones de cacau da coleção da Estação Experimental, Pariquera-Açú do IAC (S.P).(A**)

CLONE	Fruto total	Casca	Semente com polpa	Placenta	Semente por fruto		$\frac{\text{g semente}}{100\text{g fruto}}$
	g	g	g	g	Nº.	g	g
UF 29	645.60 c	514.20 b	122.00 abc	09.60 bc	40.20 a	78.00 bc	12.09 bc
UF 613	961.00 a	761.60 a	170.80 a	22.20 a	41.80 a	110.2 ab	11.49 bc
UF 667	674.80 bc	495.80 b	164.40 ab	14.20 a	35.60 a	110.60 ab	16.19 ab
UF 668	603.40 c	417.20 b	172.60 a	13.20 bc	40.80 a	119.60 a	19.22 a
IAC 1	931.80 ab	785.00 a	125.80 abc	21.00 a	40.60 a	88.50 abc	09.57 c
IMC 67	751.60 abc	589.60 ab	140.60 abc	21.40 a	50.20 a	77.80 bc	10.82 c
ICS 60	670.00 bc	497.00 b	162.60 abc	10.40 bc	37.60 a	119.60 a	18.73 a
ICS 95	497.60 c	382.60 b	106.80 c	08.80 c	36.20 a	71.40 c	14.38 abc
SCA 12	609.00 c	480.40 b	106.20 c	22.20 a	37.20 a	58.60 c	09.62 c
P 7	609.20 c	485.60 b	113.20 bc	10.80 bc	38.20 a	67.00 c	11.74 bc
Média geral	695.40	540.90	144.14	15.31	39.8	90.13	13.39
C.V*	18.75	21.00	19.15	18.59	18.86	18.85	17.27

C.V*= Coeficiente de variação

A** = Os dados correspondem a uma média de cinco frutos analisados.

Observação: Todos os valores com a mesma letra não diferem significativamente entre si (teste de Tukey a 5%).

4.1.2. SEMENTE

Os valores de comprimento, largura e espessura, bem como da massa média de sementes estão mostrados na TABELA 13 a qual mostra que as sementes de 60% dos clones estudados e que apresentam comprimento maior, não diferem entre si estatisticamente. Com respeito a largura da semente, observa-se maior diferença significativa, sendo que somente 30% dos clones de maior largura, não diferem entre si estatisticamente. Com relação a espessura e massa média das semente, 70 e 60% dos

clones, respectivamente, não diferem entre si, sendo que entre os 4 clones que apresentaram maior massa de semente por fruto, UF 613; UF 667; UF 668 e ICS 60 não diferem significativamente entre si ao 5%.

O parâmetro massa média de sementes é uma das características industriais importantes da matéria prima, uma vez que, após a fermentação e secagem, as amêndoas devem possuir uma massa acima de 1 g para ter valor comercial.

As TABELAS 12 e 13 mostram que considerandou os principais parâmetros físicos das sementes de cacau; massa de sementes por fruto, massa de semente por 100g de fruto, massa media por semente, comprimento, largura e espessura da semente, destacam-se claramente os clones UF 667, UF 668 e ICS-60.

TABELA 13. Valores biométricos das sementes de 10 clones da Coleção da Estação Experimental, Pariquera-Açu do IAC (S.P.) (A*)

CLONE	Comprimento (mm)	Largura (mm)	Espessura (mm)	Massa média por semente (g)
UF 29	24.50 cd	13.90 d	09.30 bcd	2.00 dc
UF 613	27.20 ab	15.40 bc	10.10 ab	2.85 abc
UF 667	28.50 a	16.80 a	10.50 ab	3.40 a
UF 668	29.10 a	16.00 a	09.70 abc	2.95 ab
IAC 1	26.70 abc	13.70 d	10.10 ab	2.25 bcd
IMC 67	24.80 abc	12.10 e	08.30 cd	2.00 cd
ICS 60	26.80 abc	16.50 ab	11.50 a	3.25 a
ICS 95	25.70 bc	14.30 dc	09.20 bcd	2.10 bcd
SCA 12	21.00 e	10.50 f	08.00 d	1.40 d
P 7	22.70 de	12.40 e	08.90 bcd	1.75 d
Média geral	25.7	12.66	09.56	
C.V	07.21	05.74	11.64	09.20

C.V.: Coeficiente de variação

A*: Os dados correspondem a uma média de 10 sementes analisados.

Observação: Todos os valores com a mesma letra não diferem significativamente entre si (teste de Tukey a 5%).

4.2. PARÂMETROS RELATIVOS A FERMENTAÇÃO E AO CACAU FERMENTADO

Os parâmetros relacionados ao processo fermentativo e ao cacau fermentado são relacionados a seguir:

4.2.1. PARÂMETROS DETERMINADOS DURANTE A FERMENTAÇÃO

4.2.1.1. Sólidos solúveis na polpa. (°Brix)

Os valores de sólidos solúveis da polpa mucilaginosa durante a fermentação dos dez clones, são mostrados na TABELA 14, na qual pode-se observar que não houve grandes diferenças significativas no °Brix inicial entre os clones estudados, tendo a concentração variando de 17.0 a 20.4 °Brix.

Pode-se observar nessa tabela a queda importante de sólidos solúveis já nas primeiras horas de fermentação, devido principalmente a transformação dos açúcares em álcool.

As medidas de sólidos solúveis foram possíveis até as 36 horas de fermentação, visto que após esse tempo não havia mais presença de líquido (mel). Os clones UF 29; ICS 60 e ICS 95 apresentaram ausência de polpa hidrolisada líquida, completadas as 36 horas de processo.

TABELA 14. Valores de sólidos solúveis (°Brix) da polpa durante a fermentação

	HORAS DE PROCESSAMENTO		
	0	24	36
CLONES	°Brix	°Brix	°Brix
UF 29	20.4	12.0	---
UF 613	18.5	11.6	06.3
UF 667	18.6	11.0	07.4
UF 668	18.0	10.5	07.0
IAC 1	18.5	10.7	08.0
IMC 67	17.3	11.2	08.1
ICS 67	19.4	12.5	----
ICS 60	17.0	09.0	----
SCA 12	17.0	12.5	10.0
P 7	19.0	13.3	08.6

4.2.1.2. Temperatura da massa em fermentação

As curvas representativas das variações da temperatura, na massa de sementes de cacau durante a fermentação, estão mostradas nas FIGURAS 13a e 13b e os valores determinados a cada 8 horas são apresentados no ANEXO 2.

Observou-se que no transcurso da fermentação, a temperatura começa a subir, atingindo valores de 45-48°C, em aproximadamente 96 horas. A partir desse momento ocorre uma diminuição até 36-40°C, correspondente ao final da fermentação (120 horas). Esses valores estão de acordo com as informações de (ROHAM, 1964; QUESNEL & LOPES, 1982; e DIAZ, 1987), no que diz respeito à temperatura. No entanto em boas fermentações comerciais, a temperatura da massa de sementes deve atingir 45 a 48°C, em aproximadamente 72 horas. Esta diferença de tempo para atingir a temperatura adequada pode ter sido devido às condições climáticas, volume do produto em fermentação ou a outros fatores.

4.2.2. CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DAS AMÊNDOAS FERMENTADAS

Após a etapa de fermentação, as amêndoas de cacau adquirem características físicas e químicas próprias, que são de inestimável valor na determinação da qualidade do produto final. Na TABELA 15 são apresentados os resultados referentes à umidade, densidade aparente, massa de 100 amêndoas e número de amêndoas em 100 g, as quais são discutidas a seguir.

4.2.2.1. Umidade

Os valores médios de umidade das amêndoas dos diferentes clones fermentados estão compreendidos entre 6.5 e 7.5%, (TABELA 15) encontrando-se dentro do recomendado pela literatura, 6 a 8% (LOPES & QUESNEL, 1973; CONCEX, 1968).

4.2.2.2. Densidade aparente

Os valores médios de densidade aparente das amêndoas, mostrados na TABELA 15, compreendidos entre 0.76 e 0.96 g/cc mostram diferenças significativas apenas entre alguns clones, não havendo diferença significativa entre os clones UF 613, UF 668, IAC 1, IMC 67, ICS 60, ICS 95 e SCA 12.

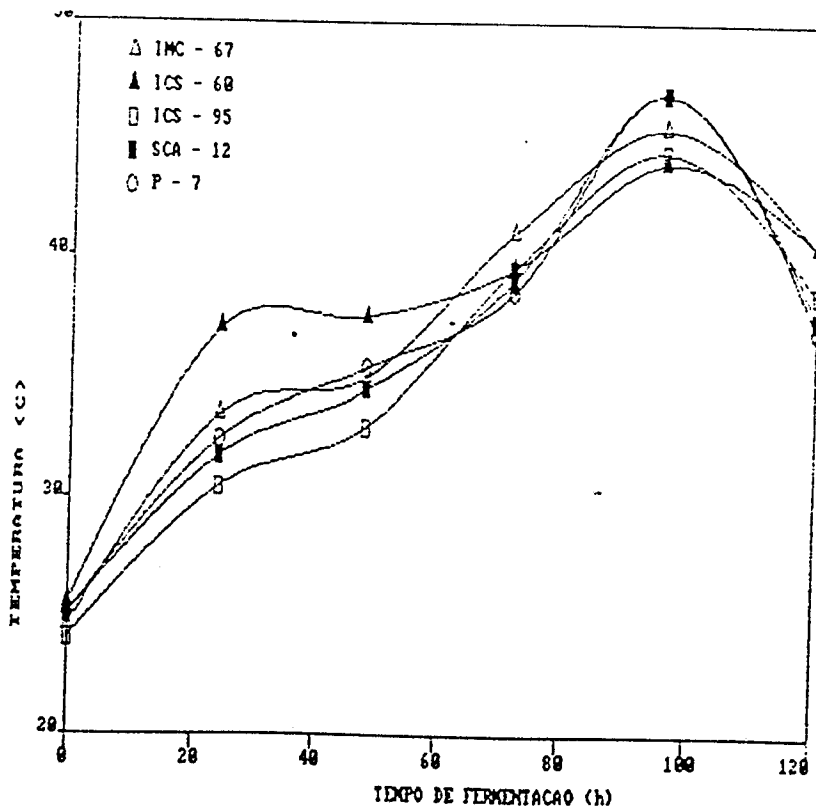
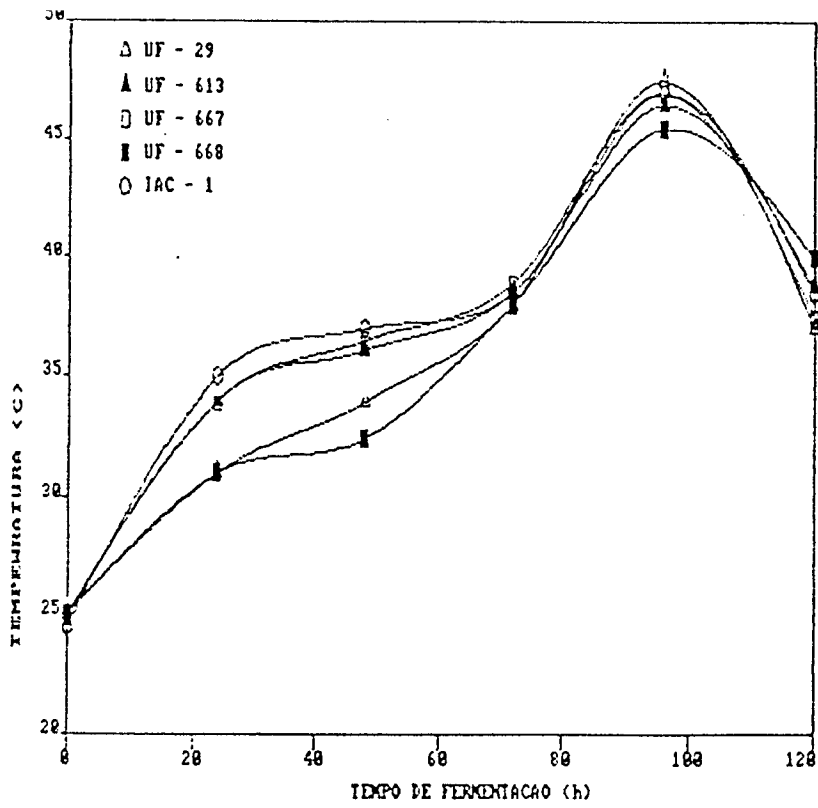


FIGURA 14a.. e 14b. Variação da temperatura na massa de sementes, de cacau durante a fermentação.

a = Clones UF 29, UF 613, UF 667, UF 668 e IAC 1

b = Clones IMC 67, ICS 60, ICS 95, SCA 12 e P 7

4.2.2.3. Massa média por amêndoa

Os resultados obtidos de massa média por amêndoa expressos na TABELA 15, estão compreendidos entre 0.85 e 2.21g. Segundo YEHUM & STELA (1987), a massa de uma amêndoa de boa qualidade deve estar entre 1.20 e 1.45g. Nesse sentido, os clones estudados se enquadram como amêndoas de qualidade superior, com exceção do SCA 12 e P 7. As amêndoas de maior massa pertencem aos clones UF 667, ICS 60, UF 668, UF 613 e ICS 95 os quais não diferiram estatisticamente entre si, e que correspondem a 50 % dos cultivares estudados.

TABELA 15. Características físicas das amêndoas (valores médios de 100 amêndoas)

CLONE	Umidade %	Densidade g/cc	Massa média amêndoas (g)	Número de amêndoas em 100g
UF 29	6.7 a	0.76 d	1.35 bcd	82 bc
UF 613	7.5 a	0.86 bc	1.73 abc	62 cd
UF 667	7.0 a	0.83 cd	2.21 a	49 d
UF 668	7.3 a	0.84 bcd	1.98 ab	51 cd
IAC 1	7.0 a	0.84 bcd	1.35 bcd	81 bc
IMC 67	6.8 a	0.85 bc	1.36 bcd	80 bc
ICS 60	7.3 a	0.90 abc	2.01 ab	54 cd
ICS 95	7.0 a	0.92 ab	1.61 abc	68 cd
SCA 12	6.5 a	0.90 abc	0.85 d	122 a
P 7	7.0 a	0.96 a	1.01 cd	110 ab
Média	7.01	0.87	1.55	76.0
C.V		2.48	12.17	10.48

C.V.: Coeficiente de variação

Observação: Todos os valores com a mesma letra não diferem significativamente entre si (teste de Tukey) a 5%.

4.2.2.4. Número de amêndoas em 100 gramas

A TABELA 15 mostra também os valores do número de amêndoas em 100g, os quais variaram entre 49 e 122 amêndoas. Esse indicador está relacionado com a massa e tamanho da amêndoa. e como no item anterior, 50% dos clones não diferem estatisticamente, coincidindo claro com os clones que possuem as amêndoas de maior massa

4.2.2.5. Frações da amêndoa

A TABELA 16, mostra os valores médios percentuais de massa de nibs, testa e gérmen, partes que compõem a amêndoa. Observa-se que entre os 8 clones que apresentam maior teor de nibs, não existe diferença significativa. Os clones SCA 12 e ICS 95, apresentaram menor massa de nibs por 100 g de amêndoa. Os clones UF 29, UF 613, UF 667, UF 668, IAC 1 IMC 67, ICS 60 e P 7 encontram-se muito próximos do reportado pela literatura, em relação a porcentagem de nibs e testa. Com respeito ao gérmen, somente o clone UF 29 estaria entre os valores reportados sendo que todos os restantes encontram-se um pouco abaixo.

TABELA 16. Valores médios de nibs, testa e gérmen da amêndoa expressos em porcentagem

CLONE	Nibs %	Testa %	Gérmen. %
UF 29	83.67 abc	15.48 ab	0.86 a
UF 613	85.25 ab	14.06 b	0.69 ab
UF 667	85.27 ab	14.97 b	0.58 ab
UF 668	82.41 abc	17.09 ab	0.42 b
IAC 1	85.10 ab	13.99 b	0.61 ab
IMC 67	82.82 abc	16.65 ab	0.57 ab
ICS 60	86.56 a	12.94 b	0.50 b
ICS 95	77.69 bc	21.21 ab	0.60 ab
SCA 12	75.93 c	23.53 a	0.55 ab
P 7	81.94 abc	17.460 ab	0.60 ab
Média geral	82.67	16.74	0.60
C.V.	2.63	12.87	13.62

C.V.: Coeficiente de variação

Observação : Todos os valores com a mesma letra não diferem significativamente entre si (teste de Tukey a 5%).

4.2.3. CLASSIFICAÇÃO DAS AMÊNDOAS FERMENTADAS

4.2.3.1. Classificação pela prova de corte ("cut test")

Os valores médios em porcentagem, de amêndoas marrons e violetas estão mostrados na TABELA 17.

Em todos os casos as amêndoas obtiveram classificação como de tipo superior, de acordo com a Resolução de N° 42 do CONCEX (1968), que possui critério de avaliação mais rigoroso que o empregado pela FAO. O CONCEX define o produto em questão como constituído de amêndoas fermentadas, secas, com o máximo de 8% de umidade, com aroma característico, não contaminado com odores estranhos, admitindo-se a tolerância dos defeitos descritos no item 3.2.5.1.

Entretanto, pode-se constatar pela TABELA 17 que o ensaio de prova de corte mostrou que entre os clones UF 613, UF 667 e P7 de maior coloração marrom, (fator importante de qualidade) não houve diferenças significativa, como também no segundo bloco de boa coloração marrom formado pelos clones UF 29, e IMC 67.

Quanto à cor violeta, não houve diferença significativa entre nenhum dos clones estudados. Embora a presença de amêndoas violetas não seja considerada determinante na classificação da amêndoa, essa ocorrência pode indicar, em alguns clones, que o grau de fermentação foi insuficiente. Microscopicamente, suas estruturas se assemelham às das amêndoas marrons, bem fermentadas ainda que haja ocorrido a ruptura das membranas celulares, as antocianinas não foram suficientemente hidrolisadas e oxidadas.

De qualquer forma, a avaliação visual de amêndoas violetas através da prova de corte é bastante subjetiva para se determinar o grau de fermentação do cacau. Apenas a determinação do teor de antocianinas poderia dar uma indicação relativa a esse respeito, em algumas variedades.

LOPEZ & McDONAL (1981) com os resultados experimentais de testes sensoriais relacionam a cor das amêndoas com o sabor a chocolate, mostrada na TABELA 9 do item 3.9.

TABELA 17. Valores médios do teste da prova de corte, da porcentagem da cor marrom e violeta. (A*)

CLONE	Marrom %	Violeta %
UF 29	54 bc	46 a
UF 613	59 ab	41 a
UF 667	58 ab	42 a
UF 668	46 cd	54 a
IAC 1	44 d	56 a
IMC 67	53 bc	47 a
ICS 60	48 cd	52 a
ICS 95	43 d	57 a
SCA 12	44 d	56 a
P 7	66 a	44 a
Média geral	51.5	49.5
C.V.	4.21	9.71

(A*) Os dados correspondem a uma média de 300 amêndoas analisadas.

C.V.: coeficiente de variação

Observação: Todos os valores com a mesma letra não diferem significativamente entre si (teste de Tukey a 5%).

Nota: O critério de avaliação da prova de corte, considerou as colorações marrom e violeta, não tendo sido considerada a possibilidade intermediária, parcialmente violeta.

4.2.3.2. Classificação pelo índice de permanganato e índice de fermentação

Os valores médios de índice de permanganato (I.P.) e índice de fermentação (I.F.) são mostrados na TABELA 18. E em ANEXO 5 mostra a variação de comprimento de onda entre 460 e 530 nm. dos dez clones.

Segundo GAIBOR & ALDAS (1991), amêndoas bem fermentadas têm um I.P. entre 8 e 10. Por outro lado segundo GUR'eva & TESEREVITINOV citado por SCHAWAM et alii (1990), as amêndoas adequadamente fermentadas apresentam I.F. (com A530/460 nm) abaixo de 1.0. Segundo esse autor e essa técnica utilizada, dois clones estariam bem fermentados: P 7 e UF 667. Contudo, considerando as análises estatísticas, nenhum apresentou diferenças significativas, no grau de fermentação, encontrando-se esses valores muito próximo do aceitável.

Com base nos relatos desses autores, os dados obtidos em este trabalho indicam que o processo fermentativo dos dez clones propiciou um grau de fermentação adequado.

TABELA 18. Valores médios de Índice de Permanganato (I.P.) e Índice de Fermentação (I.F.) das amêndoas de 10 clones.

CLONE	I.P	I.F
UF 29	9.58 a	1.070 a
UF 613	9.19 a	1.095 a
UF 667	8.92 a	0.945 a
UF 668	9.87 a	1.030 a
IAC 1	9.37 a	1.205 a
IMC 67	9.25 a	1.010 a
ICS 60;	9.87 a	1.110 a
ICS 95	9.47 a	1.125 a
SCA 12	9.45 a	1.195 a
P 7	8.78 a	0.915 a
Média geral	9.38.	1.07
C.V	6.16	9.16

C.V.: coeficiente de Variação

Observação : Todos os valores com a mesma letra não diferem significativamente entre si (teste de Tukey a 5%).

4.2.4. Valores médios de pH e acidez titulável total das amêndoas fermentadas

A TABELA 19 mostra os valores médios de pH e acidez titulável total das amêndoas fermentadas e secas. Esses resultados são comparáveis aos obtidos por vários pesquisadores (LOPEZ, 1982; DIAZ, 1987; GAIBOR & ALDAS, 1991 e JINAP & DIMIK, 1990)

TABELA 19. Valores médios do pH e acidez titulável total das amêndoas dos 10 clones

CLONE	pH	Acidez meq.NaOH/100g
UF 29	5.22 b	14.19 f
UF 613	5.22 b	14.37 e
UF 667	5.21 bc	14.41 e
UF 668	5.23 b	15.19 c
IAC 1	5.17 bcd	14.25 fe
IMC 67	5.18 bcd	15.41 b
ICS 60	5.40 a	14.74 d
ICS 95	5.06 cd	16.60 a
SCA 12	5.31 ab	16.43 a
P 7	5.05 d	14.37 e
média geral	5.21	15.00
C.V	5.00	0.29

C.V.: Coeficiente de variação

Observação: Todos os valores com a mesma letra não diferem significativamente entre si (teste de Tukey a 5%).

Embora os resultados dos testes estatísticos apresentem diferenças significativas entre os clones, as diferenças, em termos de valores absolutos foram pequenas.

Segundo JINAP & DIMIK (1990), as amêndoas com valores de pH entre 5.20 e 5.49, são classificadas na faixa de pH médio, encontrando-se nessa faixa os clones UF 29, UF 613, UF 667, UF 668, ICS 60 e SCA 12. As amêndoas com pH compreendidos entre 4.75 e 5.19 são consideradas na faixa de pH baixo, correspondendo aos clones IAC 1, IMC 67, ICS 95 e P 7.

Referente a acidez, existe uma falta de padronização dos métodos, nos quais cada pesquisador expressa a acidez do cacau de forma diferente, o que dificulta muito a comparação de dados (LOPEZ, 1982; PASSOS & LOPEZ, 1982; SCHWAM et alii, 1990 e JINAP & DIMIK, 1990).

A faixa de ácidos livres totais desejada pelos processadores de chocolate situa-se entre 12 e 15 meq de NaOH por 100 g de nibs. Entretanto DIAS (1987), se reporta a valores de 28.19 meq de NaOH por 100 g de nibs.

Tais diferenças podem ser ocasionadas por vários fatores além dos já citados (falta de padronização dos métodos), entre os quais podem-se citar a variedade, o estágio de maturação na época da colheita e principalmente a condução do processo de fermentação.

4.3 TORREFAÇÃO E CARACTERÍSTICAS DO CACAU TORRADO

4.3.1. VARIAÇÃO DA TEMPERATURA DURANTE A TORREFAÇÃO DOS NIBS

A variação da temperatura durante a torrefação realizada segundo a metodologia mencionada no item 3.2.8 está apresentada na FIGURA 15. Pode-se observar que a queda da temperatura no momento de colocar a amostra, de 145 °C até aproximadamente, 88 °C é recuperada nos 6 minutos seguintes, mantendo-se praticamente constante até o final do processo.

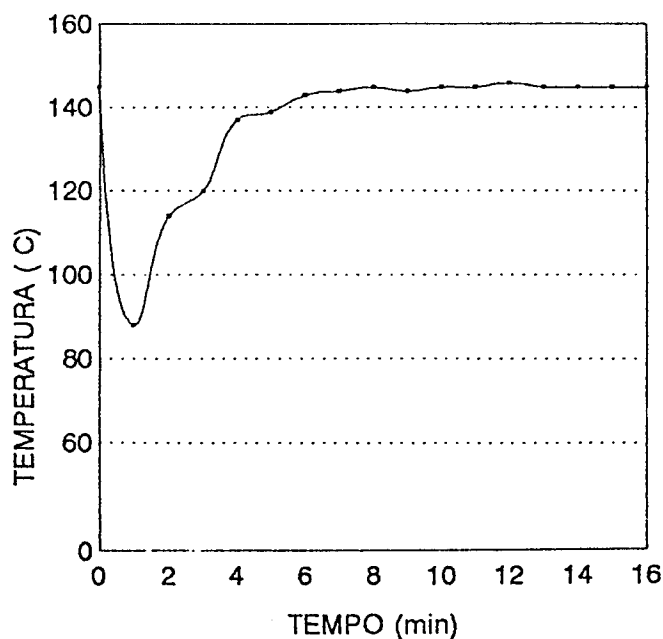


FIGURA 15 Evolução da temperatura durante a torrefação dos nibs

4.3.2. TEMPO DE TORREFAÇÃO

Os testes sensoriais realizados como o reportado no ítem 3.2.10.1 mostraram que o tempo de 14 minutos foi o que propiciou o sabor mais característico. Esse resultado foi confirmado por um perito industrial em chocolateria. ANEXO 3

A TABELA 20 mostra os valores médios do teste de preferência do aroma característico dos nibs torrados em diferentes tempos. Pelo teste de Tukey, pode-se observar que o tempo de 14 minutos foi o melhor, diferindo significativamente dos demais tempos ao nível de 5% de significância.

TABELA 20. Valores médios do teste de preferência de aroma característico de nibs torrados em função do tempo.

Tempo(min)	Valor médio
10	4.673 c
12	5.600 bc
14	7.073 a
16	6.000 b
18	5.250 bc
C.V.	16.16

C.V.: Coeficiente de variação

Observação: Todos os valores com a mesma letra não diferem significativamente entre si (teste de Tukey a 5%).

4.3.3. COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS NIBS TORRADOS

4.3.3.1. Composição centesimal dos nibs

Os valores médios das análises químicas realizadas, segundo a metodologia do ítem 3.2.7. são mostrados na TABELA 21

Entre os componentes do cacau, é interessante destacar que a massa de manteiga de cacau permanece praticamente inalterada durante a fermentação e torrefação.

Note-se que não houve diferença significativa entre os clones para cinza e fibras e que há diferença significativa quanto ao teor de proteína e gordura em alguns clones. Em relação à proteína, 9 clones não diferem significativamente entre si a exceção do clone ICS-60 que difere significativamente ao nível de 5%. e 6 clones não diferem estatisticamente no teor de gordura UF 613, UF 667, UF 668, IAC 1, ICS-60 e ICS 95, parâmetro esse importantíssimo na qualidade comercial das amêndoas.

Ressaltamos que o segundo bloco de clones, também de alto teor de manteiga de cacau, formados pelos clones UF 29 e P 7 não apresentam diferenças significativas e seus teores de gordura encontram-se acima da média reportada na literatura.

TABELA 21. Composição Química dos nibs torrados, em g.por 100 g.de produto (valores médios em base a matéria seca) (A*)

CLONE	Proteína %	Gordura %	Cinza %	Fibra %	Carboidratos *
UF 29	14.64 a	54.81 bc	2.78 a	5.98 a	21.79
UF 613	14.59 ab	57.15 a	2.56 a	6.44 a	19.26
UF 667	13.47 abc	56.07 abc	2.52 a	4.88 a	23.06
UF 668	13.50 ab	56.17 abc	2.91 a	5.92 a	21.50
IAC 1	14.10 ab	55.46 abc	2.59 a	6.28 a	21.57
IMC 67	13.63 abc	54.57 c	2.52 a	6.40 a	22.88
ICS 60	12.41 c	56.50 ab	2.81 a	7.01 a	21.27
ICS 95	14.28 ab	55.46 abc	2.97 a	7.12 a	20.17
SCA 12	14.17 ab	51.23 d	2.45 a	5.52 a	26.53
P 7	14.05 ab	55.02 bc	2.25 a	5.99 a	22.69
Média geral	13.89	55.80	2.63	6.16	22.07
C.V.	2.2.	0.92	8.1	8.4	

A* Os dados correspondem a uma média de 2 análises por clone

* Carboidratos: calculados por diferença

C.V.: Coeficiente de variação

Observação: Todos os valores com a mesma letra não diferem significativamente entre si (teste de Tukey a 5).

Os resultados dos teores de proteína, gordura e cinza estão de acordo com aqueles encontrados na literatura (MINIFIE, 1989; BRUDEAU 1970;). No que se refere à fibra, foram obtidos valores maiores que os mencionados na literatura, possivelmente pela metodologia utilizada.

4.3.3.2. Alcalóides

Os valores médios dos teores de Teobromina e Cafeína dos nibs constam na TABELA 22. As análises foram realizadas segundo a metodologia mencionada no item 3.2.7.8. As curvas padrão de teobromina e cafeína encontram-se nos ANEXO 4.

O clone P 7 mostrou o maior valor médio em massa de teobromina, por g de cacau não diferindo significativamente com os clones UF 613, UF 667 e SCA 12. Esses clones apresentaram teores acima do reportado na literatura (MINIFIE, 1989).

Da mesma forma o clone P 7 mostrou o maior valor médio de massa de cafeína por g de cacau, não diferindo significativamente do clone UF 613.

Considerando os grupos de menor teor de teobromina e cafeína, observamos que não existe diferença significativa entre os clones UF 29, UF 668, IAC 1, IMC 67, ICS 60 e ICS 95. Ressaltamos ainda que todos esses clones possuem concentrações de teobromina dentro dos valores reportados na literatura (TIMBIE & KEENEY, 1980; MINIFIE, 1989, SHUFEN et alii, 1990).

Nos últimos anos, observa-se em alguns países desenvolvidos uma maior preocupação em relação à concentração de cafeína e teobromina ingerida em uma dieta normal do consumidor. Esse fato deverá ser considerado então, na escolha do cultivar de cacau.

TABELA 22. Valores médios de Teobromina e Cafeína nos nibs torrados

CLONE	Teobromina mg/g	Cafeína mg/g
UF 29	12.34 de	1.28 de
UF 613	18.41 abc	2.21 ba
UF 667	17.37 abcd	1.76 bcd
UF 668	11.40 e	0.95 e
IAC 1	15.09 bcde	1.34 de
IMC 67	11.13 e	1.02 e
ICS 60	12.85 bcde	1.29 de
ICS 95	14.60 bcde	1.46 cde
SCA 12	19.32 ab	2.03 bc
P 7	21.80 a	2.73 a
Média geral	15.43	1.61
C.V.	9.57	5.78

C.V.: Coeficiente de variação

Observação Todos os valores com a mesma letra não diferem significativamente entre si (teste de Tukey a 5%)

4.3.4. ANÁLISE SENSORIAL DOS DEZ CLONES

Os resultados da análise sensorial, apresentados na TABELA 23 mostram que não há diferença significativa entre os clones ao nível de 5% de significância para todos os atributos analisados, exceto com relação a gosto ácido, para o qual existe diferença significativa entre os clones IAC1 e IMC 67.

Esses resultados podem ser atribuídos à condução uniforme do processamento, bem como os resultados de composição química das amêndoas, porém acreditamos que o principal fator responsável pela semelhança das características organolépticas entre os cultivares estudados deve-se ao fato de que o teste sensorial no produto tenha sido realizado com o produto bruto (sem refinamento do sabor obtido industrialmente pela operação de conchagem). Como indicado no item 3.5.6.6, a prova sensorial foi realizada com pó de cacau integral, apenas finamente moído, como recomendado por vários autores (MERSUING, 1984; LOPEZ & MacDONAL, 1981, PEZOA, 1989). Acreditamos que testes sensoriais realizados

com chocolates formulados com a massa de cacau desses clones em estudo, devidamente processados, poderiam apresentar algumas diferenças significativas de sabor pelo menos entre alguns clones.

TABELA 23. Análise sensorial dos atributos aroma e sabor dos nibs de 10 clones de cacau torrados a 145 °C por 14 minutos.

CLONE	Aroma		Sabor			
	Característico	Ácido	Característico	Ácido	Amargo	Adstringente
UF 29	6.61 a	2.32 a	5.17 a	2.30 ab	3.90 a	3.07 a
UF 613	6.12 a	2.42 a	5.72 a	2.07 ab	4.00 a	2.21 a
UF 667	6.08 a	3.67 a	6.01 a	2.72 ab	3.35 a	3.34 a
UF 668	5.62 a	3.10 a	5.76 a	2.85 ab	3.07 a	3.64 a
IAC 1	6.25 a	1.88 a	5.83 a	1.74 b	3.98 a	3.04 a
IMC 67	5.78 a	2.98 a	4.95 a	3.64 a	2.61 a	2.38 a
ICS 60	6.08 a	3.16 a	5.78 a	2.58 ab	2.87 a	3.52 a
ICS 95	5.48 a	3.34 a	5.77 a	2.52 ab	3.06 a	3.30 a
SCA 12	6.45 a	2.96 a	5.17 a	2.90 ab	3.53 a	2.77 a
P 7	6.33 a	2.25 a	6.20 a	2.08 ab	3.10 a	2.82 a
C.V.	16.87	48.83	24.79	55.98	46.47	46.53

C.V. Coeficiente de variação

Observação: Todos os valores com a mesma letra não diferem significativamente entre si (teste de Tukey a 5%).

Note-se que foram baixas as médias referentes ao aroma ácido e sabor ácido, adstringente e amargo, o que mostra que o produto apresentou baixos teores de substâncias indesejáveis. Quanto às médias do atributo gosto característico, obteve-se valores na faixa entre 4.95 e 6.20 e para aroma característico, as médias se aproximaram da faixa entre 5.48 e 6.61.

4.3.5. COMPONENTES VOLÁTEIS DO CACAU

A Cromatografia gasosa, apresentou bons resultados na separação, identificação com padrões e quantificação dos componentes voláteis pesquisados neste estudo. O cromato-grama padrão da FIGURA 16a mostra a clara separação das metilpirazinas estudadas junto com o padrão interno utilizado neste estudo. Os cromatogramas das FIGURAS 16b e 16c, mostram também as quatro metilpirazinas provenientes de diferentes técnicas de extração dos voláteis, arraste de vapor, seguido de concentração em micro-extrator (FIGURA 11) e extração com CO₂ pressurizado com concentração em polímero porapak Q (FIGURA 12). Deve-se notar, comparando os dois cromatogramas, o aumento importante do número de picos e das áreas dos picos, quando utilizada a técnica de CO₂ pressurizado, em relação à extração por arraste de vapor. Os valores de metilpirazinas, comparadas as duas técnicas, são dados na TABELA 25

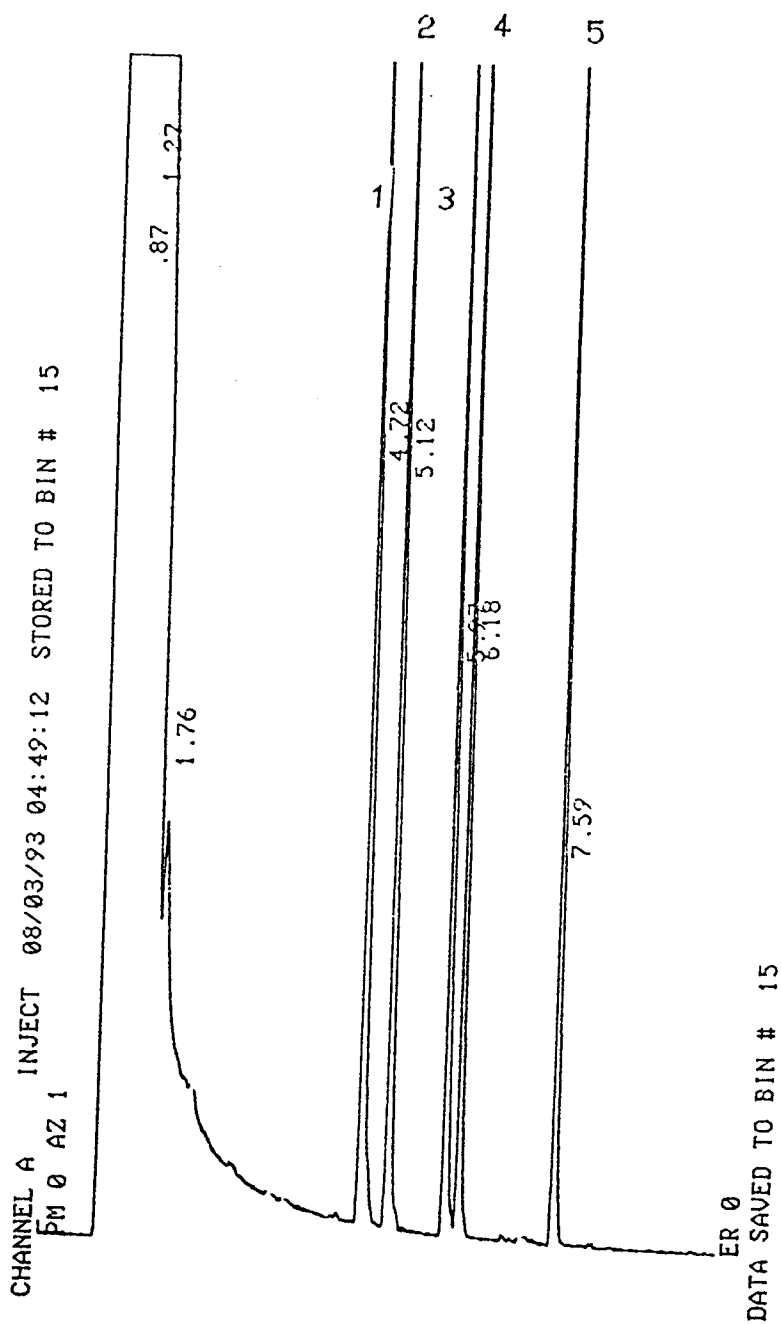


FIGURA 16a. Cromatograma dos padrões de pirazinas e padrão interno

- 1- 2,5-di-metilpirazina
- 2- 2,3-di metilpirazina
- 3- 4 etil piridina (padrão interno)
- 4- 2,3,5-tri-metilpirazina
- 5- 2,3,5,6-tetra-metilpirazina

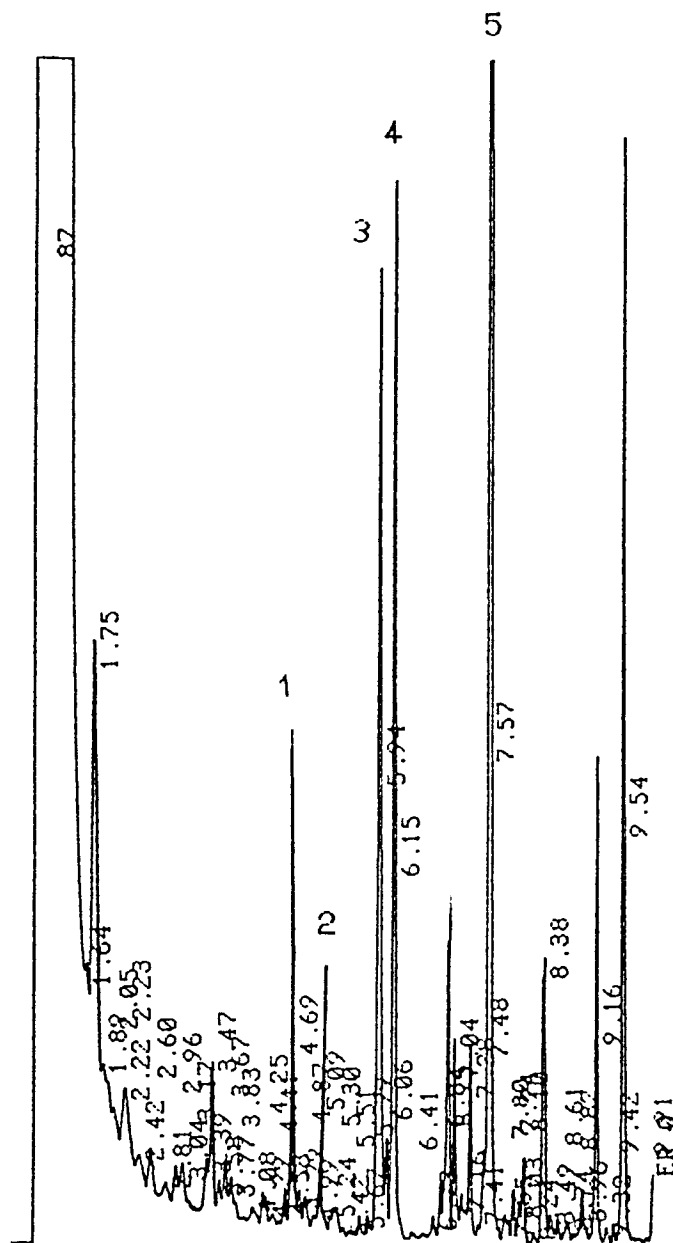


FIGURA 16b. Cromatograma dos compostos voláteis, obtidos por arraste de vapor e concentrados em micro-extractor. Clone IAC 1, torrado a 145 °C por 14 minutos

- 1- 2,5-di-metilpirazina
- 2- 2,3-di metilpirazina
- 3- 4 etil piridina (P.I.)
- 4- 2,3,5-tri metilpirazina
- 5- 2,3,5,6-tetrametilpirazina

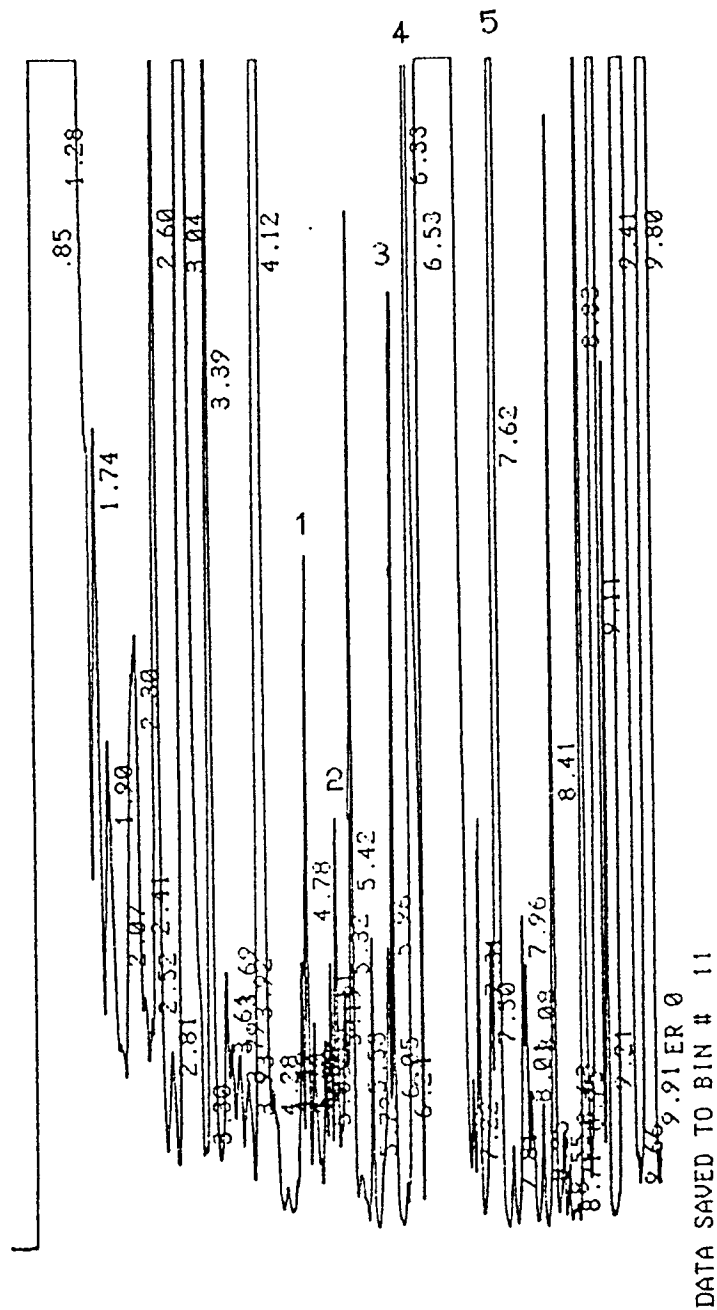


FIGURA 16c. Cromatograma dos compostos voláteis obtidos com CO₂ pressurizado e concentrados em polímeros porapak Q. Clone IAC 1 torrado a 145 °C por 14 minutos

- 1- 2,5-dimetilpirazina
- 2- 2,3-dimetilpirazina
- 3- 4 etilpiridina (P.I.)
- 4- 2,3,5-trimetilpirazina
- 5- 2,3,5, 6-tetra-metilpirazina

4.3.5.1. Evolução do teor de pirazinas de amêndoas de 5 clones de cacau, torradas em diferentes tempos, e extraídas por arraste de vapor e concentradas em microextrator.

Considerando a complexidade e demora das análises dos componentes voláteis, foi estritamente necessário diminuir o número de amostras neste estudo. Considerando alguns aspectos físico-químicos, tecnológicos e ainda por recomendação de especialistas da área agrônômica, foram selecionados os clones UF 29, UF 613, UF 667, IAC 1 e P 7.

A TABELA 24 mostra a concentração das alquilpirazinas obtidas a partir de extrações por arraste de vapor, segundo metodologia descrita no item 3.2.9.1, para os clones previamente selecionados, a diferentes tempos de torrefação e a 145 °C.

A TABELA 24 e a FIGURA 17, mostram um aumento do teor das metilpirazinas estudadas durante a torrefação, até o tempo em que sensorialmente foi considerado o melhor para esse tratamento (14 minutos). Após esse período, observou-se um decréscimo importante da 2,3,5,6-tetrametilpirazina, coincidindo com o fim da torrefação, em três clones estudados. Esse fato foi considerado importante por estar de acordo ao reportado por alguns autores como (REEINECCIUS et alii, 1972a; BAUERMEISTER, 1981; PEZOA, 1989; MERMET et alii, 1992) que manifestaram que as metilpirazinas poderiam ser consideradas como boas indicadoras da qualidade do cacau torrado.

Os valores de 2,3-di; 2,3,5-tri e 2,3,5,6-tetrametilpirazinas encontrados nos clones estudados, são muito próximos entre si, tanto que as análises estatísticas realizadas, praticamente não apresentaram diferenças significativas ao 5% pelo teste de Tukey. No caso da 2,3-dimetil e 2,3,5-trimetilpirazina, o único clone que apresenta diferença significativa com 14 minutos de torrefação, é P 7. Analisando a 2,5-dimetilpirazina, também a 14 minutos de torrefação, não houve diferença significativa entre os clones UF 29, UF 613 e UF 667, porém um outro grupo mostra que não houve também diferença significativa entre os clones UF 613, IAC 1 e P 7.

É importante ressaltar que apesar da existência de diferença significativa na concentração de metilpirazinas entre alguns clones, essas diferenças são relativamente pequenas, sobretudo no tempo ótimo de torrefação encontrado neste estudo. Por isso a partir de estudos complementares, com maior número de clones e amêndoas de cacau híbridos, poder-se-ia pensar em fixar faixas de concentração desses elementos para um cacau bem fermentado e ou torrado.

Observamos por exemplo que a tetrametilpirazina, a alquilpirazina mais abundante do cacau, apresenta uma concentração acima de 11.000 mg/kg e a trimetilpirazina, segunda em importância, acima de 3.000 mg/kg, o que nos leva a confirmar que esses elementos podem ser indicadores químicos muito úteis para avaliar a qualidade do cacau após a torrefação, e inclusive em produtos processados.

Esse fato poderia orientar para o estabelecimento de concentração de metilpirazinas, para se determinar quimicamente o grau de torrefação das amêndoas. Ressaltamos que hoje, em todas partes do mundo, esse teste é feito exclusivamente por via sensorial, sendo dessa forma totalmente subjetivo.

Por outro lado, os valores apresentados na TABELA 24 são um tanto superiores aos encontrados por outros autores, fato devido possivelmente a utilização neste estudo de um novo sistema de arraste de vapor e dos compostos voláteis, descrito no item 3.2.9.1. (material e métodos), o qual deve ter-se mostrado mais eficiente.

Deve-se notar ainda, observando a TABELA 24 que todas as metilpirazinas estudadas já se encontram presentes no cacau fermentado e seco, antes da torrefação. Em média; 11% da 2,5-dimetil, 13% da 2,3-dimetil, 8,6% da 2,3,5-trimetil e 45% da tetrametilpirazina. Como reportado na literatura (REINECCIUS, 1972b; SILWAR, 1988; PEZOA, 1989), essas pirazinas encontram-se em pequenas concentrações, naturalmente na amêndoa, e também são produzidas por via microbiana durante a fermentação. Contudo, observa-se que a maior concentração desses componentes encontra-se no transcurso da torrefação.

4.3.5.2. Teor de pirazinas extraídas com CO₂ pressurizado de 5 clones de cacau e concentradas em polímero porapak Q.

A TABELA 25 mostra a comparação dos valores médios e diferença significativa entre cada um dos componentes pirazínicos nos 5 clones estudados, torrados por 14 minutos a 145°C, extraídos e concentrados mediante duas técnicas diferentes, por arraste de vapor, concentradas em micro-extrator e extraídas com CO₂ pressurizado, concentradas em polímero porapak Q. Essa última técnica apresentou todos os valores maiores de que os obtidos por arraste de vapor apresentando eficiências de extração que variam entre 14 a 27% dependendo da metilpirazina, o que mostraria a viabilidade, com grandes vantagens, dessa técnica para a extração dos compostos voláteis. Devemos ressaltar que essa forma de extração à baixas temperaturas, possui vantagens evidentes, especialmente por não promover reações químicas por causa da temperatura.

A utilização dessa técnica de extração de componentes voláteis do cacau com CO₂ pressurizado, deverá ser aprimorada em trabalhos futuros, estudando-se principalmente os parâmetros pressão, temperatura e fluxo do gás, necessários para tornar a extração mais seletiva, aumentando a extração dos heterocíclicos aromáticos de interesse e diminuindo ao máximo outros compostos, voláteis ou não, que interfiram na quantificação quando coincidirem com o tempo de retenção de compostos de interesse no cromatograma.

TABELA 24. Valores médios de pirazinas de 5 clones de cacau fermentados e torrados a 145 °C por 12, 14 e 16 minutos, extraídos por arraste de vapor, utilizando um micro extrator (em mg/kg) A*

PIRAZINAS	CLONE	Tempo de torrefação				* r 2
		00	12	14	16	
2,5- di	UF 29	0.084 bc	0.315 a	0.542 c	0.930 a	0.978
	UF 613	0.063 cd	0.480 a	0.692 abc	1.093 a	0.969
	UF 667	0.047 cd	0.450 a	0.618 bc	0.938 a	0.968
	IAC 1	0.122 a	0.350 a	0.983 a	1.208 a	0.930
	P 7	0.102 ab	0.515 a	0.930 ab	1.325 a	0.998
	C.V.	16.26	19.45	11.80	8.97	
2,3- di	UF 29	0.065 ab	0.165 b	0.340 b	0.783 bc	0.517
	UF 613	0.050 bc	0.365 a	0.455 b	0.893 ab	0.874
	UF 667	0.020 c	0.295 ab	0.340 b	0.651 c	0.843
	IAC 1	0.075 ab	0.170 b	0.415 b	0.954 a	0.955
	P 7	0.085 a	0.295 ab	0.780 a	1.014 a	0.961
	C.V.	14.26	18.51	15.27	4.15	
2,3,5-tri	UF 29	0.320 b	1.565 a	3.600 b	4.074 b	0.886
	UF 613	0.235 b	2.900 a	3.805 b	6.816 a	0.912
	UF 667	0.105 b	2.400 a	3.320 b	3.357 b	0.780
	IAC 1	0.700 a	1.715 a	4.140 b	4.336 b	0.810
	P 7	0.620 a	4.235 a	7.960 a	8.220 a	0.800
	C. V.	14.06	32.52	12.30	5.70	
2,3,5,6-tetra	UF 29	3.720 b	4.915 c	11.800 a	9.865 a	0.490
	UF 613	8.175 a	10.175 ab	11.500 a	14.043 a	0.970
	UF 667	3.170 b	9.930 ab	12.165 a	12.231 a	0.772
	IAC 1	5.075 b	6.855 bc	11.245 a	10.072 a	0.501
	P 7	9.485 a	12.270 a	17.745 a	12.576 a	0.003
	C.V.	12.63	12.06	14.96	8.96	

A* Os dados correspondem a uma média de 2 análises por clone

* : coeficiente de correlação crítica linear crítico entre tempo de torrefação e valor de pirazina ($p \leq 0.05$)

C.V.: Coeficiente de variação

Observação: Todos os valores com a mesma letra não diferem significativamente entre si teste de Tukey a 5%).

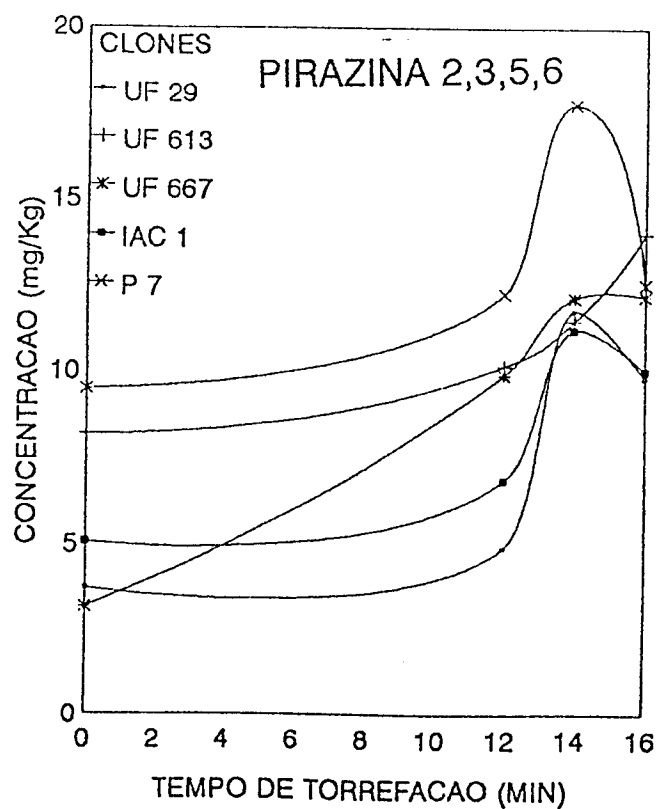
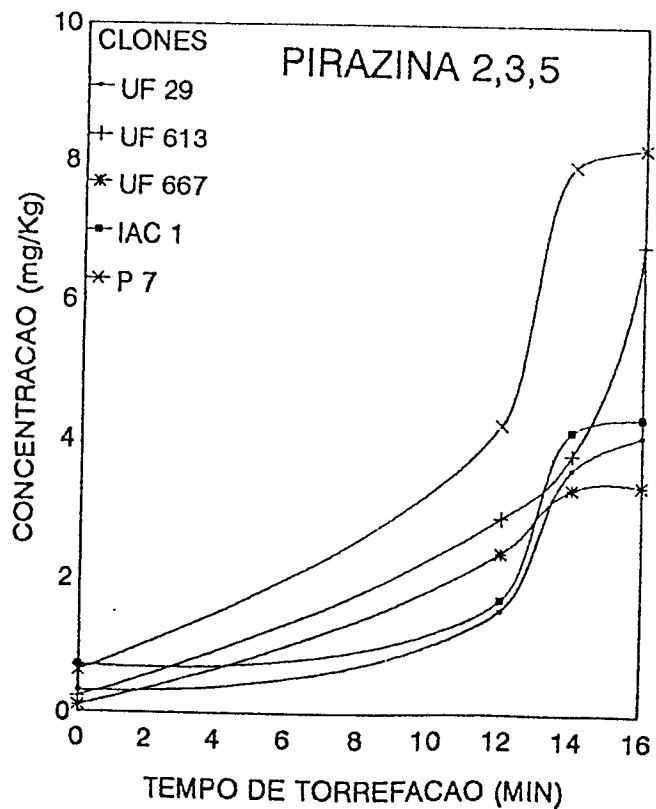
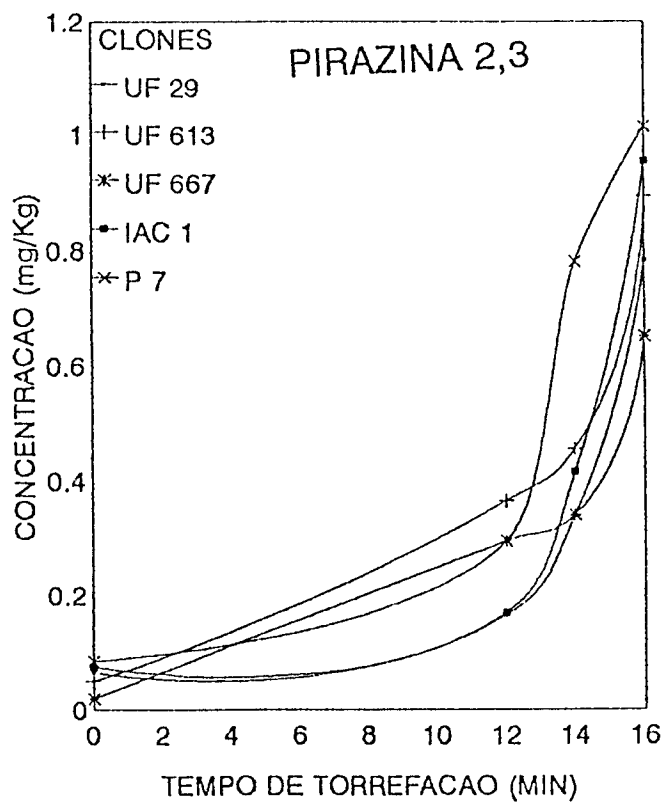
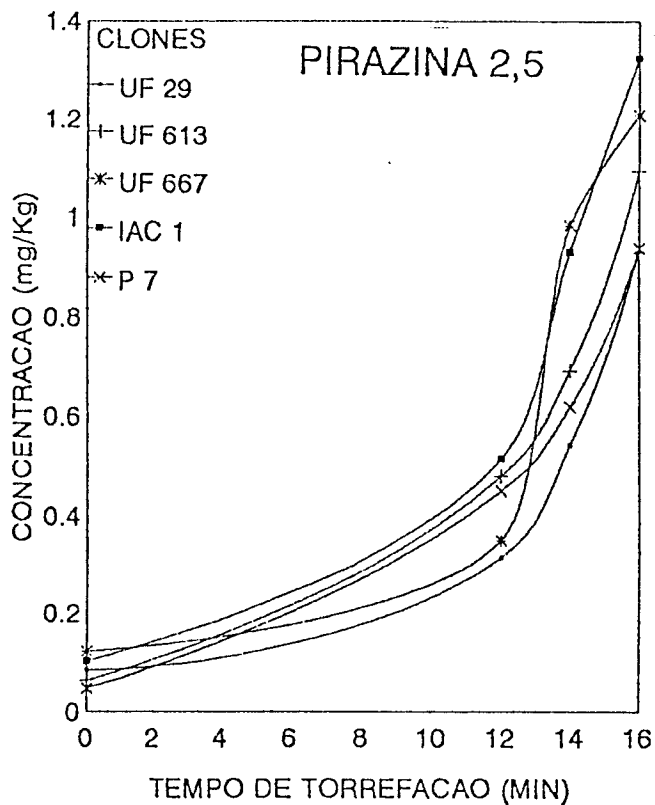


FIGURA 17. Evolução das metilpirazinas durante a torrefação dos 5 clones de cacau

TABELA 25. Comparação dos valores médios de pirazinas de 5 clones torrados a 145°C por 14 minutos, extraídos por arraste de vapor, concentradas em micro extrator-destilador e extraídas com CO₂ pressurizado, concentrados em polímero porapak Q.

PIRAZINA	CLONE	Arraste de vapor	CO2 pressurizado
2,5-di	UF 29	0.542 c	0.623 c
	UF 613	0.692 abc	0.875 b
	UF 667	0.618 bc	0.702 c
	IAC 1	0.983 a	1.111 a
	P 7	0.930 ab	1.090 a
	C.V.	11.80	2.75
2,3-di	UF 29	0.340 b	0.403 b
	UF 613	0.455 b	0.540 b
	UF 667	0.340 b	0.402 b
	IAC 1	0.415 b	0.559 b
	P 7	0.780 a	0.903 a
	C.V.	15.27	3.91
2,3,5-tri	UF 29	3.600 b	5.085 b
	UF 613	3.805 b	5.570 b
	UF 667	3.320 b	5.040 b
	IAC 1	4.140 b	5.650 b
	P 7	7.960 a	9.285 a
	C.V.	12.30	6.44
2,3,5,6-tetra	UF 29	11.800 a	17.66 b
	UF 613	11.500 a	16.03 bc
	UF 667	12.165 a	17.52 b
	IAC 1	11.245 a	15.04 c
	P 7	17.745 a	21.29 a
	C.V.	14.96	2.74

C.V.: Coeficiente de variação.

Observação: Todos os valores com a mesma letra numa mesma coluna não diferem significativamente entre si (teste de Tukey a 5%).

CONCLUSÕES

Em relação as características físicas mais importantes das sementes de cacau, massa de semente por fruto, massa de semente por 100g de fruto, massa média por semente, comprimento, largura e espessura, destacam-se claramente os clones; UF 667, UF 668 e ICS 60, os quais não diferem estatisticamente entre si, porém diferem significativamente entre os outros cultivares estudados. O clone UF 613 apresentou-se em segundo lugar também com boas características físicas.

Considerando que existe correlação entre massa do fruto e massa de casca ($r^2 = 0.97$) e não existe correlação entre massa do fruto e massa de sementes ($r^2=0.1$) pode-se dizer que a massa do fruto não é um preditor de quantidade, nem do tamanho da semente.

Oitenta por cento (80%) dos clones estudados possuem valores de massa média por amêndoa entre 1.35 e 2.21g de acordo com o mencionado por YEHUM & STELA (1987) que ressaltam que amêndoas comerciais devem ter uma massa entre 1.20 a 1.45g. As exceções foram os clones SCA 12 e P 7.

Referente a massa de nibs em relação a amêndoa encontrados neste estudo, 80% dos clones situam-se entre o recomendado na literatura (82-87). Os valores obtidos nesses 8 clones, não apresentaram diferenças significativas ao 5%. Os cultivares ICS 95 e SCA 12 apresentaram percentuais de nibs abaixo o relatado por MINIFIE, 1989.

Os teores de gordura, parametro importante de qualidade de cacau, obtidos nos 10 clones produzidos no Estado de São Paulo, encontram-se dentro da faixa relatada na literatura (48-57% em base seca), sendo que os mais ricos na apreciada manteiga de cacau são os cultivares UF 613, UF 667, UF 668, IAC 1, ICS 60 e ICS 95, com valores que variam de 55,46 a 57,15 % em relação a materia seca.

As amêndoas fermentadas de todos os clones estudados obtiveram classificação de Tipo Superior de acordo com a resolução de N° 42 do CONCEX (1968). Por outro lado a avaliação química do grau de fermentação pelos índices de permanganato e fermentação, também indicam que o processo fermentativo dos 10 clones foi adequado.

Os clones que apresentaram maiores teores de alcalóides, (1,7-2,2% de teobromina), UF 613, UF 667, SCA 12 e P 7 não diferiram estatisticamente ao 5% entre si. Esses teores encontrados em teobromina apresentam-se um pouco maior do reportado na bibliografia (0.8-1.3%), sendo que os teores de cafeína encontrados foram menores aos reportados por MINIFIE, 1989.

Os resultados da análise sensorial das amêndoas torradas durante 14 minutos e a 145°C mostraram que não há diferença significativa entre clones ao nível de 5% para todos os atributos analisados; aroma e sabor exceto com relação a sabor ácido, para o qual existe diferença significativa entre os clones IAC 1 e IMC 67.

A maior parte da concentração das quatro metilpirazinas estudadas, em média 89% da 2,5-di, 87% da 2,3, 91% da 2,3,5-trimetil e 55% da 2,3,5,6-tetrametil foram produzidas durante a torrefação a partir da reação de Maillard, porem todas elas encontravam-se já no cacau fermentado, sem torrefação, concluindo-se que todas elas poderiam estar presentes naturalmente nas amêndoas antes da fermentação ou ser produzidas por via microbiana, durante a etapa de fermentação.

As pirazinas analisadas nas amêndoas durante a torrefação mostraram um aumento linear da concentração até o melhor tempo de torrefação considerado pelo exame organoléptico (14 minutos). Após esse tempo, em três clones observou-se uma queda significativa da concentração da tetrametilpirazina, o que poderia indicar o termino do processo. A importancia de se deter o processo neste tempo evita perdas de aroma, de nutrientes causadas por um tratamento térmico e consequentemente perdas econômicas.

A extração de componentes voláteis por CO₂ pressurizado seguido por concentração em polímero porapak Q, mostrou-se mais eficiente que a extração feita por arraste de vapor seguida por concentração micro extrator-destilador. Esses aumentos aparentes foram de 14% para o caso da 2,5-dimetil; 16% para a 2,3-dimetil e 27% para o caso da tri e tetrametilpirazinas

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AEB. Anuario Estatístico do Brasil. **IBGE**. Ed. DEDIT/CDDI. p. 518. 1991.
2. ALBEROLA, J. & IZQUIERDO, L. La fracción aromática del zumo de naranja. III. Análises de volátiles totales. **Rev. Agroquim. Tecnol. Aliment.**, 19(4): 469-482, 1979.
3. AMERINE, M.A.; PANGBORN, R.M.; ROESSLER, E.B. Principles of sensory evaluation of food. 3.ed. New York, Academic Press, 1965. 602p.
4. AOAC. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists: edited Ig W.Horwitz 13.ed. Washington, 1984. 850p
5. ARNOLDI, A.; ARNOLDI, C.; BALDI, O.; GRIFINI, A. Flavor components in the Maillard reaction of diferent amino acids with fructose in cocoa butter-water. Qualitative and quantitative analysis of pirazines. **J. Agric. Food Chem.** 36: 988-992, 1988.
6. AU YEUNG, C.Y. & MACLEOD, A. J. A comparison of the effecincy of the Likens and Nikerson extractor for aqueus, lipd/aqueous, and lipid samples. **J. Agric. Food Chem.** 29:(): 502-505, 1981.
7. BALTES, W. Chemical changes in food by the Maillard Reaction. **Food Chemi** 9(1): 59-73, 1982.
8. BAUERMEISTER, P. Cocoa liquor roasting. **The Manufac. Confect.** 10: 43-45, 1981.
9. BAREL, B.; GUYOT, B.; VINCENT, J.C. Les fractions proteiques du cacao avant et apres torrefaction. Influence de la fermentation **Café Cacao Thé** 27(2): 127-144, 1983.
10. BAREL, M.; LEON,D.; VINCENT, J.C. Influence du temps de fermentation du cacao sur la production des pyrazines du chocolat. **Café, Cacao, Thé** (29): 277-286. 1985.

11. BERBERT, P.R.F. Contribuição para o conhecimento dos açúcares componentes da amêndoa e do mel de cacau *Theobroma*, 9(2): 55-61. 1979.
12. BIEHL, B. & PASSERN, D. Proteolysis during fermentation like incubation of cocoa seed. *J. Sci. Food Agric.* 33(12): 1280-1290, 1982.
13. BRAUDEAU, J. *El cacao: técnicas agrícolas y producciones tropicales*. Barcelona Ed. Blume, 1970. 297p.
14. BRUNA, J.J.M. Cromatografía de fluidos en estado supercrítico *Tec. Lab.* 148: 115-117, 1989.
15. BUTLER, L. D. & BURKE, M.F. Chromatographic characterization of porous polymer for use as adsorbents in sampling columns. *J. Chromatog. Sci.* 14: 117, 1976.
16. BUTTERY, R. G.; TERANISHI, R.; LING L.C.; TURNBAUGH, G.H. Quantitative and sensory studies on tomato paste volatiles. *J. Agric. Food Chem.* 38: 336-340, 1990.
17. CARLIN, J.T.; HSIEH, O.A.L.; SUNH WANG, L.; HOC, T.; CHANG, S.S. Comparison of acidic and basic volatile compounds of cocoa butter from roasted and unroasted cocoa beans. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 63 1031-1035, 1986.
18. CHALLOT, F. Essais de fermentation de petits échantillons de cacao. *Café, Cacao, Thé* 11(1): 47-54, 1977.
19. COMISSÃO EXECUTIVA DO PLANO DE LAVOURA CACAUEIRA (CEPLAC) *Normas técnicas para cultivo de cacau no Reconcavo Bahiano*. Ilheus, Centro de Pesquisas do Cacau, 1970. 43p.
20. CONSELHO NACIONAL DO COMERCIO EXTERIOR (BRASIL). RESOLUÇÃO Nº 42 Rio de Janeiro. 1968. 9p.
21. COSTELL, E. & DURAND, L. El análisis sensorial en el control de calidad de los alimentos. III. Planificación; selección de jueces y diseño estadístico. *Rev. Agroquim. Tecnol. Aliment.* 21(4): 454-470, 1981.

22. CRESPO, S. Judging the quality of cocoa beans. **The Manufact. Confect.** 4: 59-64, 1985.
23. CROS, E. Potential Aromatique du cacao: Influence de la fermentation Monte e **Institut de Recherches du Café et du Cacao CIRAD**, 1988 14p.
24. CUNHA, J.& GHOSH, B.N. Estudo do clima na secagem natural do cacau em barcaças. **Cacau Atualidades.** 12(1): 14-17, 1975.
25. DAMASIO, M.H. & COSTELL, E. Análisis sensorial descriptivo generación de descriptores y selección de catadores. **Rev. Agroquim. Tecnol. Aliment.** 31(2): 165-178, 1991.
26. DIAZ, J. C. **Permeabilidade da casca da semente ao ácido acético: evolução na fermentação e efeito da adição de celulasas, antes da secagem, na acidez do produto final.** Lavras, 1987. 86p. Tese (Mest.)-Escola Superior de Agricultura de lavras
27. ENRRIQUEZ, G. **Nuevo método de fermentación de cacau en pequeña escala con el proposito de investigar el mejoramiento.** Ecuador Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias. 1989. 9p.
28. FERREIRA, S.R.S. **Extração com dióxido de carbono líquido subcrítico de óleo essencial de pimenta do reino.** Campinas, 1992. 203p. (Mest. em Engenharia de Alimentos)-UNICAMP.
29. FLAMENT, I.; WILLIHAM, B.; STOLLM. Recherches surles arômes sur l'arôme du cacao III. **Helvetica Chimica Acta** 50: 2233- 2443. 1967.
30. FLATH, R.A. & FORREY, R.R. Volatile components of papaya (*Carica papaya* L., solo variety) **J. Agric. Food Chem.** 25(1): 103-109, 1977.
31. FORS, S.M. & ERIKSSON, C.E. Pirazines in estructured malt. **J. Sci. Food Agric.** 37(10): 991-1000, 1986.
32. FORS, S.M. & ALOFSSON, B.K. Alkylpirazines, volatiles formed in the Maillard reaction. I. Determination of odour detection thresholds and odour intensity funtion by dynamic alfactometry. **Chemical Senses** 3(10): 287-296, 1985.

33. FORSYTH, W.G.C. Cacao polyphenolic substances 2. Changes during fermentation. **Biochemical J.** 51(4): 516-520, 1952.
34. FORSYTH, W.G.C. & QUESNEL, V.C. Cacao glycosidase and colour changes during fermentation. **J. Sci. Food Agric.** 8: 505-509, 1957.
35. FORSYTH, W.G.C. & QUESNEL, V.C. Cacao polyphenolic substances 4 The anthocyanin pigments. **Biochem. J.** 65: 177-179, 1957.
36. FORSYTH, W.G.C. & QUESNEL, V.C. The mechanism of cacao curing. **Advances in Enzymology and Related Subjects of Biochemistry.** New York, 25: 457-459, 1963.
37. FORSYTH, W.G.C.; QUESNEL, V.C.; ROBERTS, J.B. The interaction of polyphenols and proteins during cacao curing. **J. Sci. Food Agric.** (9): 181-184, 1958.
38. FRANCO BUENO, M.R. **Componentes voláteis e sabor de Manga (Mangifera indica L.) e Mamão (Carioca papaya L.).** Campinas, 1992. 230p. (Dout Ciências de Alimentos)- UNICAMP 1992.
39. FROLICH, O. & SCHREIER, P. Additional neutral volatiles from litchi fruit Flavour **Flavour Fragrance J.** 1 (4/5): 149-153, 1986.
40. FROLICH, O.; DUQUE, C.E.; SCHREIR, P. Volatile constituents of Curuba (Passiflora mollissima) Fruit. **J. Agric. Food Chem.** 37: 421-425, 1989.
41. GAIBOR, N.E. & ALDAS, J.C. **Fermentacion y secado de tres variedades de cacao cultivadas en el Ecuador.** Ambato. 1991. 150p. (Tesis de Ingeniero de alimentos)-Universidad Técnica de Ambato.
42. GALLOIS, A. Les pirazinas presentes dans les aliments. **Sci. des Aliments.** 4: 145-166, 1984.
43. GALLOIS, A. & GRIMONT, P.A.D. Pyrazines responsible for the potato-like odor produced by some Serratia and Cedecea Strains. **Appl. Environ. Microbiol.** 50(4): 1048-1051, 1985.

44. GERMER, S.P.M. **Extração de óleo essencial de cravo da índia em leito fixo com dióxido de carbono líquido subcrítico.** Campinas 1989. 180p. Tese (Mestr.) Fac. Eng. Alim. UNICAMP.
45. GILL, M.S.; MAC LEOD, A.J.; MOREAU, M. Volatile components of cocoa with particular reference to glucosinolate products **Phytochemi.** 23 1937-1942, 1984.
46. GODEFROOT, M.; STECHELE, M.; SANDRA, P.; VERZELE, M. A new method for the quantitative analysis of organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls. **Journal of HRC & C.C.** 5: 75-79, 1982.
47. GRIFFITHS, L.A. A laboratory procedure for micro-fermentation: A critical review. **Report Cacao Reserch,** 74: 42-46, 1959.
48. HARDY, F. **Manual de cacao** Turrialba, Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas; Ed. Lehman, 1961. p.383-409
49. HUMBERT, B; & SANDRA, P. Determination of pirazines in thermally treated food products: practical experiments with cocoa beans. **L.C.G.C. International.** 1: 58-60. 1987
50. IRCC Institut de Recherches du Café et du Cacao, Notas Economiques, **CAFÉ, CACAO, THE,** 36(1): 88. 1993a
51. IRCC. Institut de Recherches du Café et du Cacao, Notas Economiques, **CAFÉ, CACAO, THE,** 36(1): 88 1993b.
52. JELLINEK, G. Definition of texture and flavor in: JELLINEK. **Sensory evaluation of food: Theory and Practice.** Deerfiel Bead, VCH, 1985. 155-162
53. JENNINGS, W.G. & FILSOOF, M. Comparison of sample preparation techniques for gas chromatographic analysis. **J. Agric. Food Chem.** 25: 440-445, 1977.
54. JINAP, S. & DIMICK, P. Acidic Characteristics of fermented and dried cocoa from different countries of origin. Pennsylvania Agricultural Experiment Station. **J. Food Sci.** 55(2): 547-550, 1990.
55. KEENEY, P.G. Various interactions, in chocolate flavor. **J. Am. Oil Chem. Soc.** 49: 567-572, 1972.

56. KIM, M. & KEENEY, P.G. (-)-Epicatechin content in fermented and unfermented cocoa beans. *J. Food Sci.* 49(4): 1090-1092, 1984.
57. KOEHLER, P.E.; MAZAN, M.E.; ODELL, G.V. Odour threshold levels of pirazynic compounds and assessment of their role in the flavor of roasted foods. *J. Food Sci.* 36(6): 816-818, 1971.
58. KOEHLER, P.E.; MASSON, M.E.; NEWELL, J.A. Formation of pirazines compound in sugar-amino acid; model systems. *J. Agric. Food Chem.* 17(2): 393-396, 1969.
59. LEVANON, Y. & ROSSETINI, S.M.O. Processamento de microbiologia da fermentação de amêndoas de cacau. in: *Temas de microbiologia industrial*. QUARONE, E.; BORZANI, W.; ALMEIDA-LIMA. U. São Paulo, Edgar Blucher, (serie Biotecnologia, V.2.), 1975. p.174-186.
60. LOPEZ, A.S. **The contribution of volatile compounds to the flavour of chocolate and their development during processing.** 1974. 186P. Thesis (PhD)-Faculty of Agriculture. The University of West Indies.
61. LOPEZ, A.S. Fermentation and organoleptic quality of cacao as affected by partial removal of pulps juices from the beans prior to curing. *Theobroma.* 9(1): 25-37, 1979.
62. LOPEZ, A.S. Influência da profundidade da massa de cacau em fermentação na produção de ácidos. In: CEPLAC/CEPEC. Informe técnico. 1981. p.211-215.
63. LOPEZ, A.S. Factors associated with cacao bean acidity and the possibility of its reduction by improved fermentation. *Theobroma.* 13(3): 233-248, 1983.
64. LOPEZ, A.S. & McDONALD, C.R. Preliminary test of a simple and inexpensive system for the mechanical aeration of box type cacao fermentation. *Theobroma.* 12(2): 57-83, 1982.
65. LOPEZ, A.S. & McDONALD, C.R. A definition of descriptors to be used for the qualification of chocolate flavours in organoleptic testing. *Theobroma.* 11(3): 209-217, 1981.

66. LOPEZ, A.S. & QUESNEL, V.C. Volatile fatty acid production in cacao fermentation and the effect on chocolate flavor. *J. Sci. Food Agric.* 24(3): 319-324, 1973.
67. MARAVALHAS, N. Considerações sobre o beneficiamento do cacau na Bahia. *Cacau Atualidades.* 8(4): 12-15, 1971.
68. MARENTS, R.T. The steps to developing a commercial supercritical CO₂ processing plant. In: CHARPENTIER, B.A.; Sevenants, M.R. eds. *Supercritical Fluid extraction and chromatography* 7: 128-144. 1988.
69. MARTELLI, H. L. Fermentação de cacau VIII - Bioquímica da fermentação interna e transformações dos polifenóis. *Ciencia e Cultura.* 13(4): 231-238, 1981.
70. MATEOS, A. & CARBONELL, E. Analisis de la fracción aromática de alimentos. Técnicas de extracción e concentración. *Rev. Agro. quim. Tecnol. Aliment.* 30(4): 431-444. 1990.
71. MERMET, G.; CROS E.; GERGES G. Etude préliminaire de L'optimisation des paramètres de torrefação du cacao. *Café, Cacao Thé.* 36(4): 285-290, 1992.
72. MEURSING, E.H. *Cocoa powders for industrial processing.* 3:ed. rev Koogaam de zaam, Cacaofabriek De Zaan B. V, 1983. 126p.
73. MINIFIE, B.W. *Chocolate, cocoa and confectionary science and technology.* West port, AVI, 1989. 480p.
74. MORAES, A.S.C. *Metodos para avaliação sensorial dos alimentos.* 7. Ed. Campinas, Ed. UNICAMP, 1990. 93p.
75. MORALES, A.L. & DUQUE, C. Aroma constituents of the mountain papaya from Colombia. *J. Agric. Food Chem.* 35: 538-540, 1987.
76. NEY, K. H. Cocoa off-flavor. In: CHARALAMBOUS, G.ed. *Off-Flavor in food beverages.* Developments in Food Science. 28 Elsevier, 1992. p.419-432.
77. NISHIMURA, O.; YAMAGUCHI, K.; MIHARA, S.; SHIBAMOTO T. Volatile constituents of guava fruits (*Psidium guajava*) and canned puree *J. Agric. Food Chem.* 37: 139-142, 1989.

78. NISSEN, L. M. & MAARSE, H; Volatile compounds in black currant products. **Flavour Fragrance J.** 1: 143-148, 1986.
79. NUÑEZ, A. & MARRSE, H. Headspace methods for volatile component of fruit juice **Chromatographia.** 21(1): 44-48, 1986.
80. OLAFSDOTTIR, G.; STEINKE, J.A.; LINDSAY, R.C. Quantitative performance of a simple Tenax GC. adsorption method for use in the analysis of aroma volatiles. **J. Food Sci.** 50: 99-148, 1985.
81. PASSOS, F.M.L.; LOPEZ, A.S.; SILVA, D.O. Aeration and its influence on the microbial sequence in cacao fermentations in Bahia, With emphasis on lactic acid bacteria. **J. Food Sci.** 49(6): 1470-1474, 1984.
82. PASSOS, F.J.V. & LOPEZ, S.A.F. Investigação dos processos de secagem sobre a acidez das amêndoas de cacau. In. CEPLAC /CEPEC. **Informe Técnico.** Itabuna, 1982. 123p
83. PECSOK, R.L. & SHIELDS,L.D. **Metodos modernos de análisis químico.** México, Ed. Limusa, 1973. 120p.
84. PEDERSON, C. **Microbiology of food fermentations.** West port, AVI, 1979 p.338-340.
85. PEREIRA, M.; CARLETTO,G. & TEIXEIRA DECASTRO, G. Variabilidade genética das características de fruto e semente em *Theobroma cacao L.* clones SIC e SIAL. **Rev. Theobroma** 17(4): 209-218, 1987.
86. PETTIPHER, G.L. Analysis of cocoa pulp and the formulation of a Standardised artificial cocoa pulp medium. **J. Sci Food Agr.** 37: 297-309, 1986.
87. PEZOA, G.N.H. **Contribution a l'etude d'un capteur por controlar en continu procede de torrefaction.** Londres, 1989. 170p. These (Docteur) Universite de echnologie de Compiegne.
88. QUESNEL, V. C. Oxygen consumption and heat production during the fermentation of cacao. **Turrialba, Turrialba,** 18(2): 110-114, 1968.

89. QUESNEL, V.C. Aeration and the technology of cacao fermentation. in CONFERENCE INTERNACIONAL DE PESQUISAS EM CACAU, Salvador, 1967; MEMORIAS Sao Paulo, s.ed p503-509, 1969.
90. QUESNEL, V.C. Agents Inducing the death of cacao seed during fermentation. **J. Sci. Food Agric.** 16: 441-447, 1965.
91. QUESNEL, V.C. & LOPEZ, A.A. Sweat-box for fermenting small samples of cacao. **Tropicl Agriculture, Trinidad** 52(4): 309-316. 1975.
92. REINECCIUS, G.A.; KEENY, P.G.; WEISSBERGER, W. Factors affecting the concentration of pirazines in cocoa beans. **J. Agr. Food Chem.** 20(2): 202-206, 1972a.
93. REINECCIUS, G.A.; ANDERSEN, D.A.; KAVANAGH, T.K.; KEENY, P.G. Identification and quantification of the sugar in cocoa beans. **J. Agr. Food Chem.** 20(2): 199-201. 1972b.
94. RIZZI, G.P. The occurrence of simple alkylpirazines in cocoa butter **J. Agri. Food Chem.** 15: 549-551, 1967.
95. ROELOFSON, P.A. Fermentation Drying and Storage of cocoa beans **Advances in Food Reserch.** 226-290, 1958.
96. ROHAM T.A. Processing of raw cocoa. I Small-scale fermentation. **J. Sci. Food Agric.** 9: 104-111, 1958.
97. ROHAM, T.A. The precursors of chocolate Aroma: comparative study of fermented and unfermented cocoa beans. **J. Food Sci.** 29(4): 456-459, 1964.
98. ROHAM, T.A. The flavour of chocolate, its precursor and a study of their reaction. **Gordian** 69(9): 443-447, 1969.
99. ROHAN, T.A. & STEWART, T. The precursor of chocolate aroma: the distribution of free amino acids in different commercial varieties of cacao beans. **J. Food Sci.** 30(3): 416-419, 1965.
100. ROHAM, T.A. & STEWART, T. The precursor of chocolate aroma, changes in the free amino acids during roasting. **J. Food Sci.** 31: 202, 1966.

101. ROHAN, T.A. & STEWART, T. The precursor of chocolate aroma: The distribution of free amino acids in diferents comercial varietes of cacao beans. **J. Food Sci.** 30(3): 416-419, 1965.
102. ROHAM, T.A. & STEWART, T. The precursors of chocolate aroma: Production of reducing sugar during fermentation of cocoa beans. **J. food Sci.** 32: 399-402, 1967a
103. ROHAM, T.A. & STEWART, T. The precursors of chocolate aroma: production free amino acids during fermentation of beans. **J. Food Sci.** 32: 395-398, 1967b.
104. ROSSI, M.; ARNOLDI, C.; ANTONIAZZI, F.; SCHIRALDI, A. Supercritical fluid extration of cocoa lipid wiht carbon dioxide. **Ital. J. Food Sci.** 3: 31-40, 1989a.
105. ROSSI, M.; ARNOLDI, C.; SALVIONI, G.; SCHIRALDI, A. Characterization of cocoa extracts obtained wiht supercritical carbon dioxide. **Ital. J. Food Sci.** 3: 501- 508, 1989b.
106. SANCHES, J. & RAVELOMANANA, J.M. Mecanizacion de las tecnicas de preparacion de cacao en los paises productores. **Café, Cacao, Thé.** 832-836, 1984.
107. SAWADA, M. Supercritical carbon dioxide extration of food flavor constituintes vegetable fats and oils essential oil and wines. **New Food Ind.** 30(12): 22-27, 1988.
108. SCHWAN R.F.; LOPEZ, A.; SILVA, D. O.; VANETTI, M.C.D. Influencia da frecuencia e intervalos de revolvimentos sobre a fermentação do cacau e qualidade do chocolate. **AGROTIPICA** 2(1): 22-31, 1990.
109. SHIBAMOTO, T. & BERNHARD, R.A. Investigation of pyrazine formation pathways in sugar-amonio model systems. **J. Agric. Food Chem.** 15: 767-772, 1977.
110. SHIVELY, C.A. & TARKA Jr., S.M. Methylxantine composition and consumption patterns of cacao and chocolate products. **Prog. Clin. Biol. Res.** 158: 149-178, 1984.

111. SHUFEN, L.; BERGER, J.E.; HARTLAND, S. UV Spectrophotometric determination of theobromine and caféine in cocoa beans. *Anal Chimi. Acta.* 232: 409-412, 1990.
112. SILVA, P. & CARDOSO, A.O. Historico das introduções do cacauiero no reconcavo da Bahia. *theobroma.* 10(3): 135-140, 1980.
113. SILWAR, R.R. Gas Chromatographic-mass spectrometric investigation of cocoa aroma, quantitativa determination of steam volatile aroma constituents. *Café, Cacao, Thé.* 32(3): 243-250, 1988.
114. SOBRAL, L.M. **Emprego de sistema de centrais de beneficiamento primario do cacau.** Ilheus, Departamento de extencao, CEPLAC. 1979. 15p.
115. STONE, H. & SIDEL, J.L. **Sensory evaluation practices.** Orlando Academic Press, 1985. 311p.
116. TIMBIE, D.J. Aplication of hight pressure liquid chromatography to the studyof variables affecting and caféine concentrations in cocoa beans. *J. Food Sci.* 43: 560-565. 1978
117. VAN DER WAL, B.; SIPMA, G.; KETTENES, D.K.; SEMPER, A. New volatile component of roasted cocoa. *J. Agr. Food Chem.* 19(2): 276-280, 1971.
118. VAN PRAAG, M.; STEIN, H.S.; TIBBETTS, M.S. Steam volatile aroma constituents of roasted cocoa beans. *J. Agr. Food Chem.* 16(6): 1005-1008, 1984.
119. VELLO, F. & GARCIA, J.R. Características das principais variedades de cacau cultivadas na Bahia. *Teobroma.* 1(2): 3-10, 1971.
120. VIDAL, J.P.; FORT, J.J.; GAULTIER; RICHARD, H. Vainilla aroma extraction by dense carbon dioxide. *Science des Aliments* 9(1): 89-100, 1989.
121. VILLA, G.L.; RODRIGUEZ, S.N.; BRAUMBECK, A.C.; BORGES, M.J. Secagem de cacau e café em barcacas com ar forzado aquecido com energia solar *Revista Brasileira de Armazenamento.* 2(2): 4-10, 1982.
122. VILLENEUVE, F. Recherche de un indice de fermentacion du cacau *Café, Cacao Thé.* 33(3): 166-169, 1989.

123. VITZTHUM, O.G.; WERKHOFF, P.; HUBERT, P. Volatile components of roasted cocoa: Basic fraction. **J. Food Sci.** 40 (5): 911- 916. 1975.
124. VITZTHUM, O.G. & WERHOFF, P. Aroma analysis of coffe, tea and cocoa by headspace techniques. 174 **Ameri. Chemi. Soc. Meeti.** 1977.
125. ZAK, D.L. The development of chocolate flavor. **The Manufact. Confect.** 68(11): 69-74, 1988.
126. ZAK, D.L. & KEENEY, P.G. Changes in cocoa proteins during ripening of fruit, fermentation, and further processing of cocoa beans. **J. Agri. Food Chem.** 24(3): 483-486, 1976.
127. ZAK, D.L.; OSTOVAR, K.; KEENEY, P.G. Implication of *Bacillus subtiles* in the synthesis of tetramethylpirazine during fermentation of cocoa beans. **J. Food Sci.** 37: 967-968, 1972.
128. ZIEGLER, G. HIGLY. Volatile cocoa-flavour constituents as indicators during cocoa processing. reviw for chocolate, **Confectionery and Backery.** 22(7): 17-18, 20-22, 1982.
129. ZOOK, R & WESSMAN, C. The selection and use of julges for descriptive ponds. **Food Tech.** 11: 56-61, 1977.
130. ZOUMAS, B.L.; KREISER, W.R.; MARTIN. R.A. Theobromina and caffeine content of Chocolate Products. **J. Food Sci.** 45: 314-316, 1980.

ANEXO 1 Controle da temperatura de fermentação nas caixas com diferente volume e número de furos no fundo da caixa.

Caixa T (h)	P-2	P-3	P-4	P-5	P-6	P-8	M-4	M-5	M-6	M-8	G-8	A*
00	18.0	18.5	18.0	18.0	18.5	18.5	18.5	18.5	18.5	18.5	18.5	21
24	16.0	16.5	16.0	16.5	17.0	17.5	17.5	17.0	17.5	17.0	17.5	23
48	20.0	20.0	19.5	20.0	20.5	20.5	20.5	20.5	20.5	20.5	21.5	24
72	29.0	29.0	29.0	29.5	30.0	30.5	28.5	29.5	30.5	30.5	32.5	16
96	35.5	36.0	36.5	37.0	37.0	37.5	38.5	39.0	38.5	39.9	40.5	20
120	40.0	40.0	39.0	39.5	40.5	41.5	42.5	42.0	43.0	43.5	45.0	23
144	40.5	39.5	40.0	41.5	42.0	42.5	43.5	43.5	44.0	44.0	46.5	21
160	37.0	37.5	37.0	36.5	34.0	36.5	37.5	38.5	39.0	37.0	37.5	23

Nota: Letras P = pequena (3l); M = media (6l); G = grande (9l); TA = temperatura do ambiente.

Algarismos após as letras determinam o numero de furos no fundo de cada caixa.

A* Temperatura ambiente

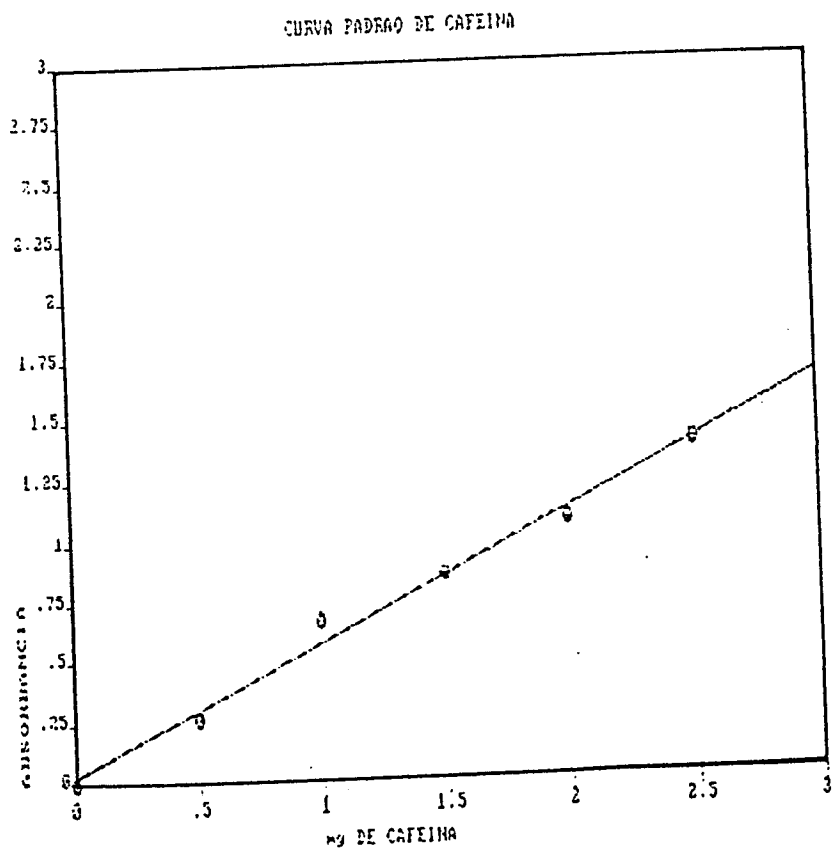
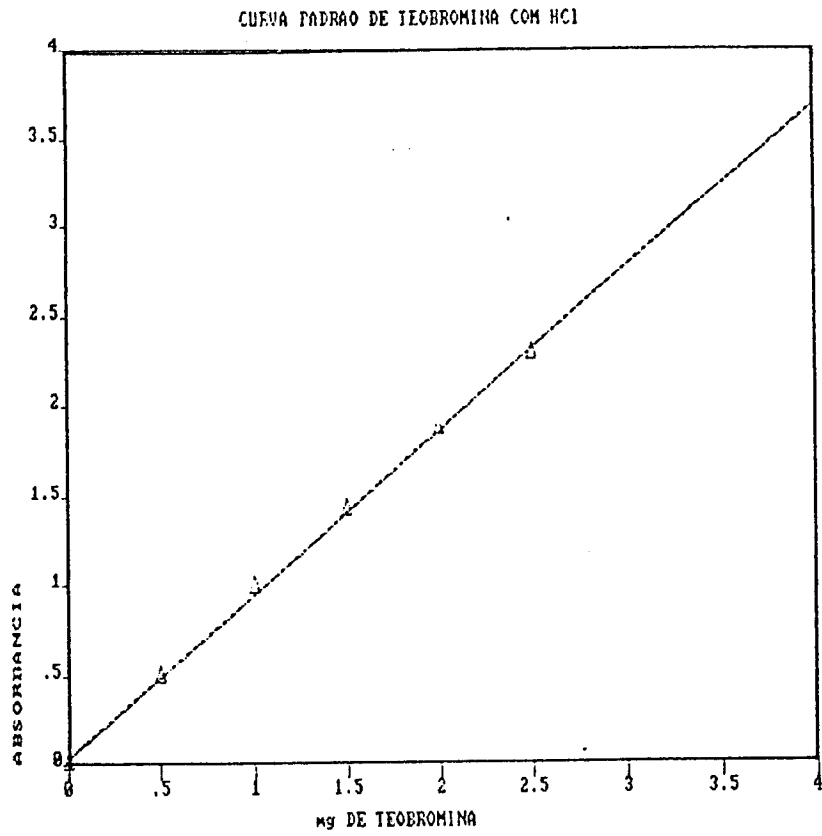
ANEXO 2. Temperatura registrada na massa de sementes de cacau durante a fermentação

Tempo (h)	UF 29	UF 613	UF 667	UF 668	IAC 1	IMC 67	ISC 60	ISC 95	SCA 12	P 7
00	25.0	24.8	25.0	25.0	24.5	24.5	25.5	24.0	25.0	25.0
08	27.0	26.7	27.3	26.8	27.0	26.5	28.3	25.3	26.0	26.5
16	29.5	28.5	30.6	28.9	30.8	28.6	32.7	27.0	28.5	28.7
24	31.0	34.0	34.0	31.0	33.5	33.0	37.5	30.5	31.8	32.5
32	32.0	35.5	35.0	33.0	34.5	32.5	36.5	30.0	31.0	31.0
40	33.5	35.0	34.0	31.5	36.3	33.5	38.0	32.3	33.8	34.5
48	34.0	36.1	36.5	32.5	37.0	35.0	37.5	33.0	34.5	35.4
56	36.5	36.8	37.0	33.5	38.0	36.0	38.0	33.5	35.5	36.4
64	41.0	41.5	42.0	41.5	41.5	42.0	41.0	40.0	41.0	42.0
72	38.0	38.5	39.0	38.0	38.5	41.0	39.5	39.5	39.0	38.5
80	37.0	35.5	35.5	35.0	36.0	39.0	36.5	36.5	35.5	35.5
88	46.5	43.5	47.0	46.5	48.0	46.0	45.5	45.5	42.5	45.5
96	47.5	46.5	47.0	45.5	47.0	45.5	44.0	44.5	47.0	47.0
104	42.5	41.5	39.5	40.0	40.5	37.5	41.0	39.5	40.0	41.5
112	44.5	45.6	45.5	43.5	46.5	46.0	44.0	46.0	45.0	42.0
120	37.0	38.8	37.5	40.0	38.5	40.5	40.5	38.5	37.5	37.0

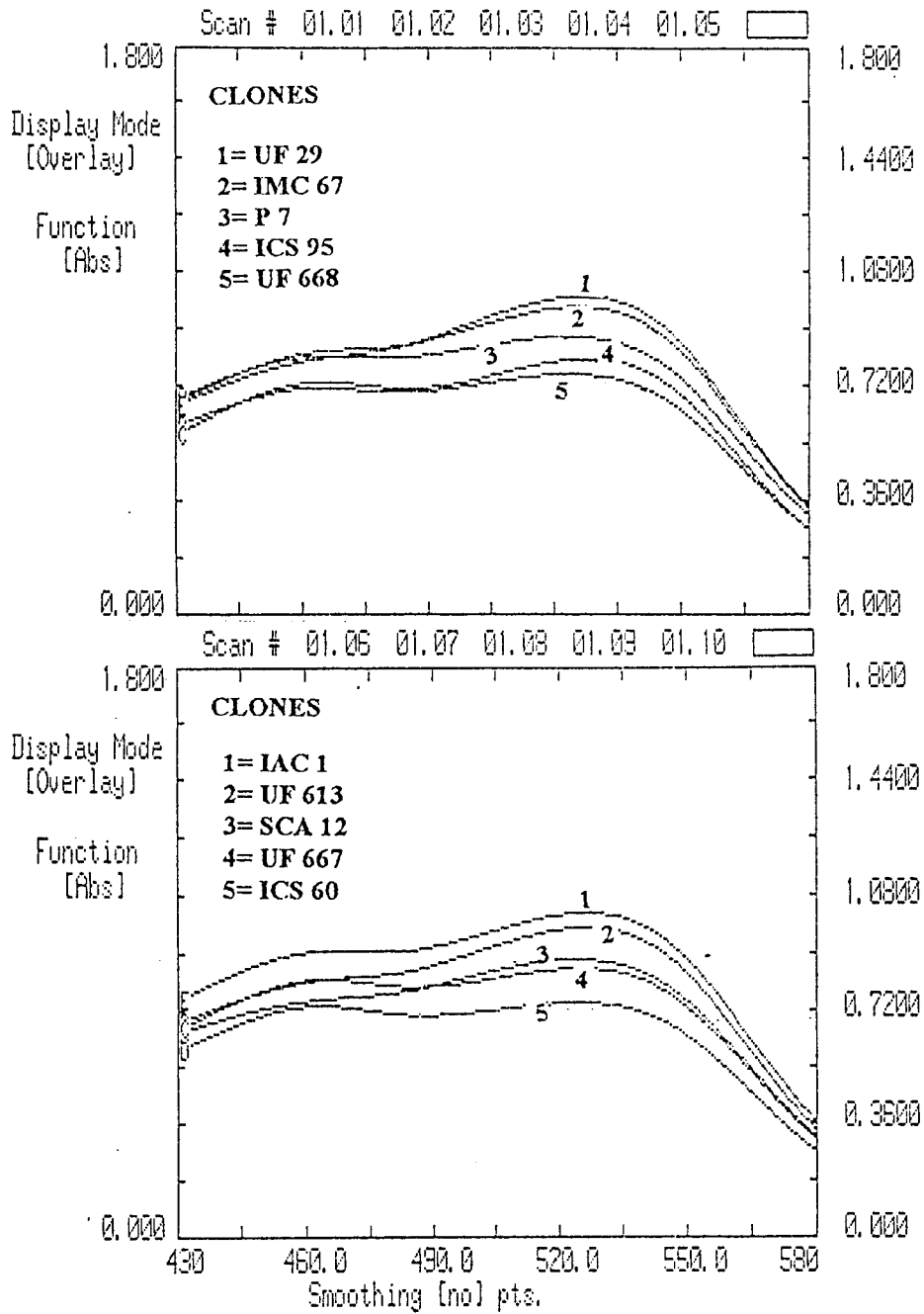
Nota: A temperatura da sala de fermentação oscilou entre 28 e 30 °C.

ANEXO 3. Valores do análise sensorial das amostras torradas a 145°C, por 10, 12, 14, 16 e 18 minutos

PROVADOR	TEMPO EM MINUTOS				
	10	12	14	16	18
1	5.0	4.0	7.6	6.6	4.0
2	4.5	6.0	6.5	5.0	4.0
3	3.8	4.0	5.5	6.0	4.9
4	5.9	5.0	6.0	5.0	6.9
5	5.0	7.0	6.8	6.5	5.7
6	2.5	5.6	6.5	6.0	4.0
7	6.0	5.8	7.8	5.0	6.0
8	3.6	6.7	7.5	7.0	5.5
9	6.0	4.5	6.9	5.3	4.5
10	4.8	6.8	6.5	7.0	5.0
11	6.0	5.4	7.5	6.0	4.7
12	3.5	6.7	8.0	7.0	5.5
13	6.0	5.5	7.4	5.2	4.9
14	3.5	6.0	8.0	5.7	6.0
15	4.0	5.0	7.6	6.7	5.4



ANEXO 4. Curva padrão de Teobromina e Cafeína



λ ABS SOURCE 15:32
 580.0 0.3685 Visible 12/08/92

ANEXO 5. Variação de comprimento de onda entre 460 e 530 nm, para determinar o índice de fermentação.