

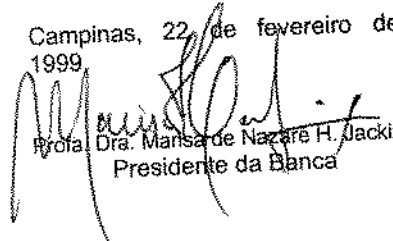
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS
DEPARTAMENTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

**"TRANSFORMAÇÕES FÍSICAS E QUÍMICAS
DURANTE A FERMENTAÇÃO DE AMÊNDOAS
DO CUPUAÇU
(*Theobroma grandiflorum* Schum)."**

PARECER

Este exemplar corresponde à redação final da tese defendida por Marcus Arthur Marçal de Vasconcelos aprovada pela Comissão Julgadora em 22 de fevereiro de 1999.

Campinas, 22 de fevereiro de 1999

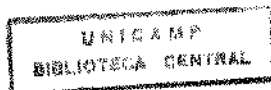

Prof.ª Dra. Marisa de Nazaré H. Jackix
Presidente da Banca

**Dissertação apresentada à
Faculdade de Engenharia de
Alimentos da Universidade Estadual
de Campinas como parte dos
requisitos para obtenção do título de
Mestre em Tecnologia de Alimentos**

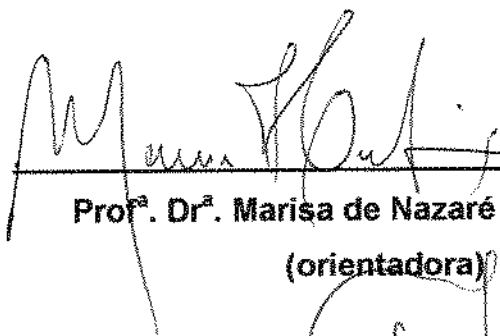
MARCUS ARTHUR MARÇAL DE VASCONCELOS
Engenheiro Agrônomo

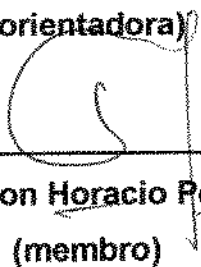
PROF.^a DR.^a MARISA DE NAZARÉ H. JACKIX
Orientadora

CAMPINAS, de FEVEREIRO DE 1999

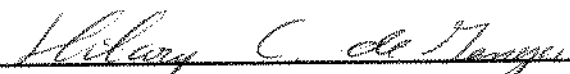


BANCA EXAMINADORA


Prof.^a. Dr.^a. Marisa de Nazaré Hoelz Jackix
(orientadora)


Prof. Dr. Nelson Horacio Pezoa García
(membro)

Prof. Dr. Roberto Hermínio Moretti
(membro)


Prof.^a. Dra. Hilary Castle de Menezes
(membro)

Campinas, 22 de fevereiro de 1999

*“A ciência se compõe de erros
que, por sua vez, são os passos
até a verdade”*

(Julio Verne)

Dedico ao meu avô João
Marçal do Nascimento (*in
memoriam*), com amor e
muita saudade.

À Kelly, Carol, Sr. José, Sr. Nilo e todos os amigos do Laboratório de Cereais.
Na pessoa do Prof. Dr. Gil Eduardo Serra, a todos os funcionários do Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrônômicas (CPQBA), pela colaboração prestada nas análises cromatográficas.

Às técnicas do Departamento de Ciência da Nutrição - DEPAN, D. Liana, D. Soely e D. Carla, pelo auxílio prestado.

Aos Prof. Dr. Jaime Amaya Farfán e Prof. Dr. Carlos R. F. Grosso, pela utilização dos laboratórios do DEPAN.

À Prof. Dra. Maria A. A. P. da Silva, por todas as informações prestadas no início deste trabalho, referentes a parte sensorial.

Ao pessoal que possui absoluto controle da parte burocrática, sem os quais nada funcionaria: D. Marlene, Marçal, Henrique, Cosme e Geraldo.

Ao Randolpho por suas informações na interpretação dos dados sensoriais.

Aos meus amigos e colegas: Maria do Socorro, Márcia, Fred, Henrique, Marcela, Fabrício, Andrezão, Gersey, Glória, Alfredo, Edy "menino", Abel, Márcia Luvielmo, Carla, Flávia Dzimba, Pedro Mujica, Profa. Elisa, Prof. Lênio, Susi Ane, Pedro Guedes, Luís, Sandra, Hebert Cavalcante de Lima, Giorgini A. Venturieri, M^a Cristina Drummond, Mieko, Jane M. Turatti, Felipão, Leonard Sebio, Roseli, Valdecí, Conci, Karina, por participarem desse trabalho com suas opiniões e críticas e acima de tudo pela sua presença.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

NOMECLATURA DAS AMOSTRAS

- c1 – amostra da semente in natura.
- c2 – amostra da semente com 24 h de processo fermentativo.
- c3 – amostra da semente com 48 h de processo fermentativo.
- c4 – amostra da semente com 72 h de processo fermentativo.
- c5 – amostra da semente com 96 h de processo fermentativo.
- c6 – amostra da semente com 120 h de processo fermentativo.
- c7 – amostra da semente com 144 h de processo fermentativo.
- c8 – amostra da semente com 168 h de processo fermentativo.
- c9 – amostra da semente com 168 h de processo fermentativo e seca naturalmente ao sol em barcaças.

INDICE GERAL

Lista de Tabelas	xiii
Lista de Figuras	xiv
Lista de Anexos	xvi
Resumo	xvii
Summary	xix
I. Introdução	1
II. Objetivos	4
III Revisão Bibliográfica	5
3.1. O cupuaçuzeiro	5
3.2. Classificação do cupuaçu	6
3.3. A árvore e os frutos do cupuaçu	6
3.4. Colheita	8
3.5. Rendimento e quebra dos frutos	9
3.6. Produção, comercialização e usos	10
3.7. Pré-processamento do cupuaçu	15
3.7.1. Fermentação	15
3.7.2. Secagem	18
3.8. O cacau	19
3.9. Classificação do cacau	19
3.10. A árvore e os frutos do cacau	21
3.11. Colheita	22
3.12. Quebra dos frutos	23
3.13. Produção, comercialização e usos	23
3.14. Pré-processamento do cacau	24
3.14.1. Fermentação	24
3.14.2. Microbiologia da fermentação	29
3.14.3. Transformações no cotilédono	36
3.14.4. Secagem	36

3.14.5.	Armazenamento	38
IV.	Material e métodos	40
4.1.1.	Matéria-prima	40
4.1.2.	Amostragem	40
4.1.3.	Equipamentos e aparelhos	41
4.1.4.	Reagentes	43
4.2.	Métodos	43
4.2.1.	Fermentação	43
4.2.2.	Secagem	46
4.2.3.	Determinação da temperatura da massa de cupuaçu durante a fermentação	46
4.2.4.	Determinação de pH nas sementes de cupuaçu durante o processo fermentativo	46
4.2.5.	Determinação de acidez total titulável nas amêndoas de cupuaçu durante o processo fermentativo	47
4.2.6.	Determinações físicas e químicas da polpa de cupuaçu	47
4.2.6.1.	Determinação de Sólidos solúveis (° BRIX)	47
4.2.6.2.	Sólidos totais	47
4.2.6.3.	Umidade	48
4.2.6.4.	pH	48
4.2.6.5.	Ácidos solúveis em água (acético, cítrico e láctico), açúcares (frutose, glucose e sacarose) e etanol	48
4.2.6.6.	Acidez total titulável	48
4.2.6.7.	Teor de Proteínas	49
4.2.6.8.	Teor de Gordura	49
4.2.6.9.	Teor de Cinzas	49
4.2.6.10.	Teor de Fibras	49
4.2.7.	Determinações físicas e químicas das sementes e amêndoas de cupuaçu	50
4.2.7.1.	Umidade	50
4.2.7.2.	Teor de Proteínas	50
4.2.7.3.	Teor de Gordura	50
4.2.7.4.	Teor de Cinzas	50

4.2.7.5.	Teor de Fibras	51
4.2.7.7.	Ácidos solúveis em água (acético, cítrico e láctico), açúcares (frutose, glucose e sacarose) e etanol durante o processo fermentativo do cupuaçu	51
4.2.7.7.1.	Reagentes e padrões	51
4.2.7.7.2.	Preparo da amostra	52
4.2.7.3.	Extração	52
4.2.7.7.4.	Análise cromatográfica (CLAE)	52
4.2.7.8.	Determinação aminoacídica das proteínas do cupuaçu durante o processo fermentativo	53
4.2.7.9.	Avaliação Sensorial	54
4.2.7.9.1.	Secagem das sementes	54
4.2.7.9.2.	Torração	54
4.2.7.9.3.	Pré-moagem	55
4.2.7.9.4.	Moagem	55
4.2.7.9.5.	Análise sensorial	55
4.2.7.10	Análises estatísticas	57
V.	Resultados e discussão	58
5.1.	Monitorização do processo fermentativo	58
5.1.1.	Temperatura da massa durante o processo fermentativo	58
5.1.2.	Variação do pH no cotilédono e testas durante o processo fermentativo	60
5.1.3.	Variação da acidez total titulável durante o processo fermentativo	63
5.2.	Caracterização da polpa do cupuaçu	64
5.2.1.	Composição centesimal da polpa do cupuaçu	64
5.2.2.	Ácidos solúveis em água (acético, cítrico e láctico), açúcares (sacarose, frutose e glucose) e etanol na polpa de cupuaçu	65
5.3.	Análises das determinações físicas e químicas das sementes e amêndoas de cupuaçu	67
5.3.1.	Umidade	67
5.3.2.	Ácidos solúveis em água (acético, cítrico e láctico), açúcares (sacarose, frutose e glucose) e etanol durante o processo fermentativo do cupuaçu	69
5.3.3.	Avaliação do teor de proteínas durante o processo fermentativo	73
5.3.4.	Teor de gordura durante o processo fermentativo	75
5.3.5.	Teor de cinzas durante o processo fermentativo	76

5.3.6. Teor de fibras nas sementes (c1) e amêndoas (c9)	77
5.3.7. Determinação aminoacídica das proteínas do cupuaçu antes, durante e após o processo fermentativo	78
5.3.8. Teobromina e cafeína	81
5.3.9. Avaliação sensorial	82
V. Conclusões	84
VI. Bibliografia	85
VII. Anexo	99

LISTA DE TABELAS

Tabela 01	Dados biométricos do cupuaçu	9
Tabela 02	Composição centesimal das sementes de cupuaçu e de cacau	14
Tabela 03	Composição dos ácidos graxos de sementes de cupuaçu e cacau	14
Tabela 04	Constantes físico químicas da gordura de cupuaçu	14
Tabela 05	Composição centesimal da polpa de cupuaçu	64
Tabela 06	Ácidos solúveis em água (acético, cítrico e láctico), açúcares (sacarose, frutose e glucose) e etanol na polpa de cupuaçu	65
Tabela 07	Ácidos solúveis em água (acético, cítrico e láctico), açúcares (sacarose, frutose e glucose) e etanol nos cotilédones de cupuaçu antes, durante e após o processo fermentativo	65
Tabela 08	Teores de aminoácidos antes, durante e após o processo fermentativo	78
Tabela 09	Média das notas da avaliação hedônica quanto ao sabor das amostras formuladas	82

LISTA DE FIGURAS

Figura 01	Frutos do cupuaçu	7
Figura 02	Fluxograma de aproveitamento do fruto do cupuaçu	13
Figura 03	Troncos e frutos de cacau	22
Figura 04	Transformações nas sementes de cacau durante o processo fermentativo	25
Figura 05	Transformações na polpa de cacau durante o processo fermentativo	31
Figura 06	Caixa de fermentação T-60, construída de acordo com GRIMALDI (1978)	44
Figura 07	Esquema de fermentação do cupuaçu em caixa T-60	45
Figura 08	Ficha utilizada na análise sensorial do cupulate	56
Figura 09	Variação da temperatura na massa de sementes, de cupuaçu durante a fermentação	58
Figura 10	Efeito dos valores de pH durante o processo fermentativo	61
Figura 11	pH nas testas das amostras ao longo do processo fermentativo	62
Figura 12	Acidez titulável dos cotilédones de sementes de cupuaçu ao longo do processo fermentativo	63
Figura 13	Ácido solúvel em água (cítrico), açúcares (sacarose, frutose e glucose) e etanol na polpa de cupuaçu	66

Figura 14 Teor de umidade das amostras de cupuaçu antes, durante e após o processo fermentativo 68

Figura 15 Ácidos solúveis em água (acético, láctico e cítrico), açúcares (sacarose, frutose e glucose) e etanol nos cotilédones de cupuaçu antes, durante e após o processo fermentativo 71

Figura 16 Teor de proteínas em diferentes estágios de fermentação do cupuaçu 73

Figura 17 Teor de gordura em diferentes tempos de fermentação do cupuaçu 75

Figura 18 Teor de cinzas nas amostras durante o processo fermentativo do cupuaçu 76

Figura 19 Histograma da avaliação quanto ao sabor do produto obtido de amêndoas de cupuaçu dos tratamentos c1 e c9 83

LISTA DE ANEXOS

Anexo 01 – Cromatograma da solução padrão utilizada: 1 - Sacarose; 2 - Ácido cítrico; 3 - Glucose; 4 - Frutose; 5 - Ácido lático; 6 - Ácido acético; 7 - Etanol.	99
Anexo 02 – Cromatograma da amostra c1: 1 - Sacarose; 2 - Ácido cítrico.	99
Anexo 03 – Cromatograma da amostra c2: 1 - Sacarose; 2 - Ácido cítrico; 4 - Frutose; 5 - Ácido lático; 6 - Ácido acético; 7 - Etanol.	100
Anexo 04 – Cromatograma da amostra c3: 1 - Sacarose; 2 - Ácido cítrico; 3 - Glucose; 4 - Frutose; 5 - Ácido lático; 6 - Ácido acético; 7 - Etanol.	100
Anexo 05 – Cromatograma da amostra c4: 2 - Ácido cítrico; 3 - Glucose; 4 - Frutose; 5 - Ácido lático; 6 - Ácido acético.	101
Anexo 06 – Cromatograma da amostra c5: 2 - Ácido cítrico; 3 - Glucose; 4 - Frutose; 5 - Ácido lático; 6 - Ácido acético.	101
Anexo 07 – Cromatograma da amostra c6: 2 - Ácido cítrico; 3 - Glucose; 4 - Frutose; 5 - Ácido lático; 6 - Ácido acético.	102
Anexo 08 – Cromatograma da amostra c7: 2 - Ácido cítrico; 3 - Glucose; 4 - Frutose; 5 - Ácido lático; 6 - Ácido acético.	102
Anexo 09 – Cromatograma da amostra c8: 2 - Ácido cítrico; 3 - Glucose; 4 - Frutose; 5 - Ácido lático; 6 - Ácido acético.	103
Anexo 10 – Cromatograma da amostra c9: 2 - Ácido cítrico; 3 - Glucose; 4 - Frutose; 5 - Ácido lático; 6 - Ácido acético.	103
Anexo 11 – Cromatograma da polpa do cupuaçu: 1 - Sacarose; 2 - Ácido cítrico; 3 - Glucose; 4 - Frutose; 7 - Etanol.	104
Anexo 12 - Cromatograma do perfil de aminoácidos da amostra c1.	105

Anexo 13 - Cromatograma do perfil de aminoácidos da amostra c2.	105
Anexo 14 - Cromatograma do perfil de aminoácidos da amostra c3.	106
Anexo 15 - Cromatograma do perfil de aminoácidos da amostra c4.	106
Anexo 16 - Cromatograma do perfil de aminoácidos da amostra c5.	107
Anexo 17 - Cromatograma do perfil de aminoácidos da amostra c6.	107
Anexo 18 - Cromatograma do perfil de aminoácidos da amostra c7.	108
Anexo 19 - Cromatograma do perfil de aminoácidos da amostra c8.	108
Anexo 20 - Cromatograma do perfil de aminoácidos da amostra c9.	109
Anexo 21 – Histograma da composição de aminoácidos da amostra c1.	109
Anexo 22 – Histograma da composição de aminoácidos da amostra c2.	110
Anexo 23 – Histograma da composição de aminoácidos da amostra c3.	110
Anexo 24 – Histograma da composição de aminoácidos da amostra c4.	111
Anexo 25 – Histograma da composição de aminoácidos da amostra c5.	111
Anexo 26 – Histograma da composição de aminoácidos da amostra c6.	112
Anexo 27– Histograma da composição de aminoácidos da amostra c7.	112
Anexo 28 – Histograma da composição de aminoácidos da amostra c8.	113
Anexo 29 – Histograma da composição de aminoácidos da amostra c9.	113
Anexo 30 – Histograma do total de aminoácidos gAa/100g por amostra de cupuaçu	114

RESUMO

O Cupuaçu (*Theobroma grandiflorum* (Wild ex Spreng) Schum) é uma fruta típica da região Norte do Brasil, com grande potencial econômico. Atualmente é a polpa mucilaginosa que sustenta a produção, industrialização e comercialização desta fruta. A semente, um subproduto da industrialização, começa a ser reconhecida como um produto de alto valor nutricional, e com grande potencial de mercado para produtos industrializados. Da mesma família e gênero do cacau e análoga a este, a semente pode ser fermentada para desenvolver precursores de sabor e aroma, e posteriormente processada para obtenção de um produto alternativo ao chocolate, conhecido como cupulate.

Neste estudo foram avaliadas sementes de cupuaçu, resíduo da industrialização da polpa de uma fábrica situada em Tomé-Açu (PA), centro da região produtora da fruta, pré processadas de acordo com metodologia descrita por GRIMALDI (1978) para sementes de cacau. Após o processamento as amêndoas foram secas ao sol. Amostras das sementes e amêndoas foram caracterizadas física e quimicamente, antes, durante e após o processo fermentativo. Determinou-se as transformações ocorridas nos açúcares (sacarose, glucose e frutose), ácidos (cítrico, láctico e acético) e álcool, que são compostos presentes em fermentações de cacau. Além disso estudou-se o efeito do processo na composição aminoacídica das sementes e amêndoas.

A metodologia adotada mostrou-se adequada, por apresentar-se como uma alternativa para pequenos e médios produtores rurais, não necessitando de aditivos, nem de metodologias complicadas para se obter um produto de sementes de cupuaçu com características similares à um produto obtido de sementes de cacau.

A partir dos resultados obtidos para o pH (0h - 4,71; 168h - 6,3 no cotilédone), acidez total titulável (0h - 1,84mL NaOH; 168h - 30,57mL NaOH no cotilédone) e a temperatura (0h - 32° C; 168h - 45° C), podemos dizer que a fermentação do cupuaçu, em termos de valores é similar aos obtidos em fermentações de cacau. Assim como, as transformações que ocorrem ao longo desse processamento nos açúcares, ácidos e álcool. A fração aminoacídica estudada mostrou que houve um suave acréscimo nos valores de alguns aminoácidos (serina, glicina, metionina, fenilalanina e arginina) e decréscimo em outros (aspártico, treonina, ácido glutâmico, prolina, alanina, cistina, valina, isoleucina, leucina, tirosina e arginina). Amostras do produto obtido e de sementes não processadas, foram utilizadas em análise sensorial, os resultados

demonstraram que houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre a amostra não processada e a processada, havendo uma maior preferência por esta última.

SUMMARY

Cupuassu (*Theobroma grandiflorum* (Wild ex Spreng) Schum) is a fruit native to northern Brazil, showing great economic potential. Currently the mucilaginous pulp sustains the production, industrialization and commercialization of this fruit. The seed, a by-product of the industrialization, is now recognized as being of high nutritional value and of great marketing potential for industrialized products. Pertaining to the same family as cocoa and analogous to it, the seed can be fermented to develop aroma precursors and subsequently processed to obtain an alternative to chocolate known as cupulate.

In this work a study was carried out on cupuassu seeds, an industrial by-products from a pulp factory located in Tomé-Açu (PA), in the center of the fruit producing region, after being submitted to a pre-processing in according to the methodology described by GRIMALDI (1978) for cocoa seeds. After fermentation, the seeds were sun dried. The physico-chemical characteristics of the seeds obtained before, during and after the fermentative process were determined. The transformations occurring in the sugars (sucrose, glucose and fructose), organic acids (citric, lactic and acetic) and alcohol throughout the whole process were also studied. In addition, the effects of the process on the amino acid composition of the seeds were determined.

The methodology used in the fermentation process was shown to be appropriate for small and medium sized rural producers, since it used no additives, or complex methodology in order to obtain a product of cupuassu seeds with characteristics similar to those obtained from cocoa seeds.

The pH (0h – 4.71; 168h – 6.3), temperature (0h – 32° C; 168h – 45° C) and total titratable acidity (0h – 1.84mL NaOH; 168h – 30.57mL NaOH) data showed that the transformations occurring in this process were similar to those of cocoa fermentation, as well as the transformations of, the sugars, acids and alcohol occurring during the process. There was a slight increase in some amino acids contents (serine, glycine, methionine, phenylalanine and arginine) and a quantitative decrease of others (aspartic acid, threonine, glutamic acid, proline, alanine, cystine, valine, isoleucine, leucine, tyrosine and arginine).

A sensorial analysis was also carried out, using with samples of raw and fermented seeds. There was a significant difference ($p < 0.05$) amongst the samples. The fermented one was preferred.

I. INTRODUÇÃO

O Norte do Brasil é uma região rica em se tratando de biodiversidade. Possui, porém, uma carência muito grande de políticas de gerenciamento e de tecnologias agro-industriais de aproveitamento de seus recursos naturais que possam sustentar sua população, sem onerar ou exaurir esses ecossistemas tão delicados.

A grande preocupação com a devastação da Amazônia tem promovido campanhas de boicote contra o uso de produtos dependentes da derrubada da floresta. Isto tem propiciado a abertura do comércio exterior para produtos que dependam da manutenção íntegra das floresta (VILLELA, 1989 *apud* VENTURIERI, 1993).

A grande valorização de alguma das culturas amazônicas proporciona um incentivo para sua manutenção e expansão. O estímulo pode vir de uma súbita descoberta nutricional, como o interesse pela fruta do camu-camu, rica em ácido ascórbico ou até mesmo por modismo, que pode ser exemplificado com o aumento no consumo de açaí, fruta com fortes propriedades nutricionais, porém, só recentemente "descoberta" pela população da região Sudeste.

Dentre as culturas em franco processo de expansão, destacamos o cupuaçuzeiro. Sua fruta muito consumida na região Norte, é detentora de um aroma e sabor que se destacam entre muitas.

O interesse nesta cultura é antigo, o que pode ser evidenciado pelo crescente aumento na área de plantio ano após ano.

VENTURIERI*, relatou que a cultura do cupuaçu cresceu em média 75% a cada ano nos últimos dez anos. Esse crescimento aumenta a perspectiva de um melhor aproveitamento tecnológico.

Além de ser uma cultura economicamente viável, o cupuaçuzeiro é um planta com características que favorecem o seu cultivo em áreas já exploradas. Na Amazônia existe cerca de 100.000 Km² de terras abandonadas, quase sempre tomadas por capoeiras. Estas áreas poderiam ser recuperadas e valorizadas com o plantio de cupuaçuzeiros em trilhas (VENTURIERI, 1993).

* Dr. Giorgini Augusto Venturieri (Universidade Federal do Pará) Comunicação pessoal, 1998.

O aproveitamento do fruto muitas vezes é realizado de maneira artesanal, porém, algumas empresas já utilizam tecnologia rudimentar para retirada da polpa. Atualmente é o produto com maior valor de mercado, além de não necessitar de um grande aporte tecnológico no seu aproveitamento.

No beneficiamento do cupuaçu só há o aproveitamento de 35% da fruta, correspondente à polpa. As sementes e a casca correspondem a 20% e 45% do peso da fruta, respectivamente, porém não são aproveitadas (NAZARÉ, 1990).

A semente é um material há muito considerado valioso, pois devido a sua semelhança botânica, com a do fruto do cacaueiro, apregoa-se sua utilização no fabrico de um produto similar ao chocolate.

FINCKE (1965) *apud* BEBERT (1981), relatou em seu trabalho que a amêndoa de cupuaçu apesar de possuir um alto teor de gordura, era descartada como subproduto.

PESCE, (1941); Le COINTE, (1947); VASCONCELOS, *et al.* (1975) *apud* VENTURIERI, (1988), afirmam que a semente do cupuaçu, possui uma gordura fina de alta digestibilidade muito semelhante a gordura de cacau, porém, não tem seu valor reconhecido, sendo na maioria das vezes utilizada como adubo ou simplesmente encarada como resíduo.

O chocolate é feito de *T. cacao*, entretanto, já foram realizadas pesquisas com *T. grandiflorum*, que apesar de possuir um sabor levemente diferente do cacau, pode ser processado de maneira semelhante. Embora possa haver uma competição potencial com os produtos feitos à base de cacau, evidências sugerem fortemente que o mercado total aumentaria (SCHWAN, 1996).

O processo de aproveitamento das amêndoas do cupuaçu inicia-se com a fermentação das sementes, que objetiva desenvolver compostos aromáticos característicos do "flavour" de chocolate, seguindo-se a secagem, torração, descascamento, prensagem para extração da manteiga de cupuaçu e formulação dos produtos em tabletes (NAZARÉ, 1990).

No caso do cacau, uma etapa essencial no sentido de obter amêndoas de boa qualidade consiste numa adequada fermentação natural das sementes. Com a atividade dos microorganismos envolvidos no processo fermentativo, ocorre a hidrólise da mucilagem das sementes, que facilita sua remoção morte do embrião e reações

bioquímicas no interior dos cotilédones, provocando o desenvolvimento dos precursores do sabor de chocolate.

A semelhança com o cacaueiro e seguidos relatos em trabalhos científicos, levaram a um aprofundamento nos estudos para o aproveitamento deste material tendo-se em vista não a substituição das amêndoas de cacau na elaboração do chocolate, mas a valorização de uma matéria-prima rica, do ponto de vista nutricional, e talvez, a introdução de um produto com características organolépticas próprias, na dieta regional.

II. OBJETIVOS

- 1) Caracterizar física e quimicamente as sementes e amêndoas de cupuaçu, antes, durante e após o processo fermentativo.
- 2) Determinar as transformações ocorridas nos açúcares, ácidos (citríco, láctico e acético) e álcool, que são compostos presentes em fermentações de cacau.
- 3) Estudar o efeito do processo e sua influência na composição aminoacídica das sementes e amêndoas.

III. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. O Cupuaçuzeiro

De acordo com a classificação botânica internacional, o cupuaçuzeiro pertence a divisão Anthopyta, subdivisão Angiospermae, classe das dicotiledôneas, subclasse Dilleniidae (= Choripetalae), superordem Malvanae, ordem Malvales (= Columniferae), subordem Malvinea, família Sterculiaceae, gênero *Theobroma* e espécie *Theobroma grandiflorum* (Willdenow ex Sprengel) Schumann) (WETTSTEIN, 1944; MAAS & WESTRA, 1993 *apud* DA SILVA, 1996)

A árvore do cupuaçu, vulgarmente conhecida por cupuassu, cupuaçu, cupu ou cupu-do-mato (MONTEIRO, 1996) assim como as árvores dos gêneros *Herrania*, *Guazuma* e *Cola*, é constituída basicamente de espécies arbustivas, com altura variando de 5 m a 15m, podendo, algumas delas chegar a alcançar 20 m. As espécies são, em geral, umbrófilas vivendo no estrato inferior da mata (MONTEIRO, 1996).

As 22 espécies do gênero *Theobroma* estão restritas à América Tropical (CUATRECASAS, 1964 *apud* VENTURIERI, 1993). Destas, 9 são encontradas na Amazônia brasileira: *T. cacao*, *T. camargoanum*, *T. bicolor*, *T. grandiflorum*, *T. microcarpum*, *T. obovatum*, *T. speciosum*, *T. subicanum*, *T. sylvestre*. Todas produzem frutos comestíveis e com pelo menos cinco das primeiras espécies acima citadas, acredita-se poder fazer um produto semelhante ao chocolate (DUCKE, 1953; LE COINTE, 1934; PESCE, 1941; CALZAVARA *et al.*, 1984; VENTURIERI & AGUIAR, 1988; NAZARÉ *et al.*, 1990 *apud* VENTURIERI, 1993).

A árvore do cupuaçu ocorre naturalmente na parte oriental da Hiléia Amazônica, região que compreende o sul e sudeste do Estado do Pará, parte do Maranhão e Tocantins, as áreas mais elevadas da região do médio Tapajós, o Rio Tocantins (Alcobaça), o rio Guamá (entre Ourém e Bragança), o rio Xingu (entre Victoria e Altamira) e o rio Anapu, e, mesmo em sua área natural, essa árvore é escassa.

O cupuaçu é freqüentemente cultivado em quase toda a Amazônia, chegando até o estado de São Paulo. Fora do Brasil é cultivado em alguns países, tais como Venezuela, Equador, Costa Rica, Colômbia, Trinidad Tobago, Gana, Martinica, e São Tomé (CAVALCANTE, 1991; VILLACHICA, 1996). De modo que, o cupuaçu pode ser encontrado em quase toda América tropical e úmida; seu cultivo tem sido testado na

Flórida – USA (WHITMAN, 1994 *apud* VENTURIERI, 1998), e Austrália (YAN, 1997 *apud* VENTURIERI, 1998), com relativo sucesso nesta última área.

3.2. Classificação do cupuaçu

O cupuaçu é classificado em variedades ou grupos populacionais, de acordo com suas características morfológicas:

- Cupuaçu redondo: fruto com as extremidades arredondados e peso médio de 1.500g, casca em torno de 6 a 7 mm (de espessura), sementes médias;
- Cupuaçu casca fina: semelhante ao redondo, porém com casca de 4 a 5 mm de espessura, com formato cilíndrico levemente anguloso nas laterais;
- Cupuaçu mamorana: Chegando a pesar até 4 Kg com casca grossa, 7 a 9 mm de espessura, anguloso nas laterais;
- Cupuaçu de colares: Peso levemente superior ao grupo redondo com casca com 6 a 7 mm de espessura, sem angulações nas laterais, sementes médias, largo na parte próxima ao pedúnculo e estreito na posterior;
- Cupuaçu mamau: Peso médio de 1.500 g, sem sementes, com formato semelhante ao do cupuaçu redondo, casca de 6 a 7 mm de espessura, encontrado no município de Cametá, localidade de Pacajás – Pará. (CALZAVARA, 1970, 1987, VENTURIERI & ALVES, 1984 *apud* ARAGÃO, 1992; RIBEIRO, 1992; CHAAR, 1980).

3.3. A árvore e os frutos de cupuaçu

Como já foi mencionado, a árvore do cupuaçu é típica de floresta tropical úmida, onde ocorre normalmente como um componente do extrato intermediário, chegando a atingir o dossel superior, porém não o ultrapassando. No estado silvestre, chega com frequência a 20 m de altura e 45 cm de diâmetro do caule à altura do peito. O tronco geralmente é reto, com casca marrom – escura fissurada. Nos indivíduos cultivados, o porte varia de 6 a 8 m, com copas em andares podendo alcançar 7 m de diâmetro (VENTURIERI *et al.*, 1985 *apud* VENTURIERI, 1993; CAVALCANTE, 1991).

Cupuaçuzeiros originados de plantas selecionadas iniciam sua floração e frutificação a partir do 2º ano de plantio estando em ponto de colheita 4 a 4,5 meses após a floração, entretanto, em virtude do tamanho do fruto, recomenda-se eliminar as primeiras florações, a fim de não prejudicar o seu crescimento vegetativo (CALZAVARA, 1970).

De modo geral a época de frutificação varia em função da região; em Belém, (PA), a safra inicia-se no mês de outubro, prolongando-se até maio do ano seguinte, com picos de produção nos meses de dezembro, janeiro e fevereiro (VILLACHICA, 1996)

O fruto é uma baga capsulácea de 12 a 25 cm de comprimento e 10 a 12 cm de diâmetro, pesando em média 1.200 g (Figura 01). Seu epicarpo é lenhoso, coberto por um indumento ferrugíneo que, quando raspado, expõe uma camada clorofilada; o seu mesocarpo é esponjoso, pouco resistente e levemente mais rijo que o endocarpo, que é macio, fino, claro e limitado internamente por uma película



FIGURA 01 - Frutos de cupuaçu

Fonte: RIBEIRO (1992)

Os frutos podem conter entre 20 e 50 sementes, sendo que a média de sementes encontradas é 36. As sementes apresentam aproximadamente 2,5 cm de

largura X 0,9 cm de espessura, superpostas em cinco colunas em torno de um eixo central, vulgarmente chamado talo. Cada uma das sementes é envolvida por uma abundante polpa branco - amarelada de sabor ácido e aroma agradável. A semente ao ser cortada apresenta um cotilédono sem pigmentação, com cor branca (CORRÊA, 1926/1969, ADDISON & TAVARES, 1951, CUATRECASAS, 1964, GUERRA, 1986, CAVALCANTE, 1988, VENTURIERI, 1992 *apud* VENTURIERI, 1993; VILLACHICA, 1996).

3.4. Colheita

Completada a maturação, os frutos caem ao solo, devendo ser recolhidos diariamente. Os frutos caem mais a noite (50%) e pela manhã (30%). A coleta porém é mais produtiva quando realizada no final da manhã (MULLER & CARVALHO, 1997 *apud* VENTURIERI, 1998). Devido à cicatriz deixada pelo pedúnculo, o fruto fica muito exposto ao ataque de fungos, bactérias e insetos (VENTURIERI, 1993 *apud* VENTURIERI, 1998). Após colheita podem permanecer em torno de uma semana em condições satisfatórias para o consumo ou beneficiamento. A partir daí, caso não sejam beneficiados, entram em rápido processo de deterioração. A viabilidade do fruto para consumo pode ser testada raspando-se o indumento ferruginoso que recobre o fruto: este indumento, quando recém colhido apresenta a casca verde, e, quando impróprio para o consumo, amarronzada. Um outro sintoma da deterioração do fruto é a presença de manchas escuras "oleosas" ou "molhadas", que podem ser percebidas até mesmo quando não se raspa o indumento.

Recomenda-se que a maturação do cupuaçu se complete na planta, pois, uma vez colhido, o fruto geralmente não completa sua maturação e não desenvolve o sabor e os aromas característicos, tornando-se assim inaproveitável.

O transporte dos frutos é realizado de acordo com as condições do produtor e a localização do plantio em relação ao centro consumidor. Normalmente utiliza-se sacos para o transporte da produção, a qual pode ser feito por via fluvial, pelo sistema rodoviário, ou por qualquer outro transporte disponível (ARAGÃO, 1992).

3.5. Rendimento e quebra dos frutos

O rendimento dos frutos, assim como na maioria das outras frutas, é variável de acordo com o tamanho, a procedência, o período de safra e o método de extração. Os frutos pesam em média 1,275g, com 43,4% de casca, 38,5% de polpa, 17,19% de semente e 2,85% de placenta (VENTURIERI, 1993). Essa variação pode ser visualizada na Tabela 01

Tabela 01 – Dados biométricos do cupuaçu

Componentes		Autores							
		1972	1978	1980	1981	1984	1989	1990	MÉDIA
		**	*	*	*	**	*	**	
Diâmetro (cm)	-	-	10,30	12,50	10,50	11,27	-	11,72	11,25
Comprimento (cm)	-	-	20,00	17,50	17,00	17,96	-	23,70	19,29
Número de sementes	-	-	47,50	35	41,50	35,30	-	44,80	40,82
Peso úmido do fruto (g)	-	1531,00	1200,00	1250,00	1300,00	1329,50	746,70	1570,00	1275,00
Casca (%)	-	46,47	42,00	37,50	44,40	46,03	38,43	49,02	43,40
Polpa (%)	-	36,79	40,00	45,50	38,40	36,38	38,54	33,82	38,49
Sementes (%)	-	16,74	18,00	15,00	17,20	18,95	19,54	14,93	17,19
Placenta (%)	-	-	-	-	-	-	3,49	2,21	2,85

SANTOS & CONDURU, 1972; BARBOSA *et al*, 1978; CHAAR, 1980; OLIVEIRA, 1981; CALZAVARA *et al*, 1984; MIRANDA, 1989; VENTURIERI, 1990.

* Despolpados manualmente

** Despolpados mecanicamente

Fonte: VENTURIERI (1998)

O aproveitamento do fruto é iniciado com a quebra manual da casca. Segue-se a despolpa que pode ser realizada manualmente, com o auxílio de tesoura doméstica por exemplo, ou mecanicamente. O despulpamento mecânico deixa a polpa uniforme e menos viscosa. O rendimento da polpa extraída mecanicamente é bastante variável dependendo da máquina utilizada. A despolpa mecânica é utilizada por produtores, revendedores ou indústrias de maior porte ou de maior poder aquisitivo (BARBOSA, 1979; OLIVEIRA, 1981; CALZAVARA, 1987; CHAAR, 1980; MIRANDA, 1989 *apud* ARAGÃO, 1992; VENTURIERI, 1998).

A polpa do cupuaçu, obtida por despolpa manual ou mecânica, geralmente é acondicionada em sacos plásticos (1 a 2 Kg) e, em seguida, congelada, sendo assim mantida por tempo indeterminado até a época da utilização (ARAGÃO, 1992). Na cooperativa agrícola mista de Tomé-Açu (CAMTA), por exemplo, utiliza-se embalagens de 100g a 1Kg, congeladas, para comercialização imediata. A polpa excedente é estocada em sacos plásticos com capacidade aproximada de 100L, em barris metálicos, armazenados em câmaras com temperatura de aproximadamente -20°C .

3.6. Produção, comercialização e usos

A produtividade por árvore é bastante variável, nas primeiras produções têm-se em média 1 fruto/planta. A produção aumenta gradualmente com a idade da planta, a partir do quarto ano de plantio ocorre um acréscimo substancial na produção, do quinto para o sexto ano a cultura atinge produção comercial em (média de 15 frutos/planta x ano). Dependendo do tratamento dispensado à cultura desde o início de sua implantação, a produção tende a evoluir nas safras seguintes, podendo alcançar uma média de 20 – 30 frutos/planta x ano, por volta dos 10 anos. Todavia, registra-se plantas com 10 – 20 anos de idade produzindo 100, e, mais raramente, 200 frutos/planta x ano (RIBEIRO, 1992).

No início da década de 1980, os agricultores nipo-brasileiros de Tomé-Açu, PA, foram os primeiros a explorar de forma organizada, as vantagens da cultura como atividade econômica (HOMMA, 1996).

Atualmente observa-se uma tendência para a substituição de áreas de ocorrência de culturas de cupuaçu nativas por áreas com cultivos racionais; mesmo em regiões como Marabá (PA), onde há concentração de algumas áreas de

cupuaçuzeiro nativos, com densidade de 6 pés/hectare, e rendimento que alcança 50 frutos/planta.

Na Amazônia o cupuaçu é amplamente comercializado *in natura* nas feiras, durante o período de colheita, que vai de novembro a julho. Depois desse período, a polpa congelada é a principal forma de comercialização. Existe na região uma crescente indústria artesanal de bombons, compotas e outras variedades de tipos de doces, que são vendidos por ambulantes ou em casas de doces finos. Em outras regiões do Brasil existe um mercado crescente para polpa de frutas congeladas, especialmente para a produção de sucos e gelados comestíveis (VENTURIERI, 1993; VILLACHICA, 1996).

O Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), tem recebido consultas por parte de empresas dos Estados Unidos, Inglaterra, Japão e Suécia, interessadas em adquirir grandes quantidades de polpa, com vistas à sua industrialização para seus respectivos mercados. A França através do seu órgão de cooperação técnica, tem em curso um projeto de estudos tecnológicos para processamento de frutos amazônicos direcionados para as preferências dos consumidores europeus. Entre as frutas a serem estudadas está o cupuaçu (VENTURIERI, 1993).

O cupuaçu é consumido de diversas maneiras, sendo a preferida o consumo da polpa, diretamente *in natura*. O uso mais popular é em forma de refresco. Existem ainda muitas outras formas de utilizar o cupuaçu, como o sorvete, picolé, doce em pasta, doce sólido denominado de "salame", recheio de balas, bolos, tortas, pudim, creme nevado, licor, geléia, suco concentrado, néctar (CAVALCANTE, 1991; VENTURIERI & AGUIAR, 1988 *apud* ARAGÃO, 1992; VENTURIERI, 1993).

Industrialmente vem sendo utilizado na fabricação de sorvetes, iogurtes e compotas (CALZAVARA, 1970; CAVALCANTE, 1991; SILVA, 1988; VILLACHICA, 1996).

ALVES & JENNINGS (1979), identificaram, através de cromatografia gasosa com espectrometria de massa, 11 compostos voláteis responsáveis pelo aroma na polpa de cupuaçu enlatada e submetida previamente a um aquecimento a 85° C por 12 a 15 minutos. Alguns destes compostos pareceram ser de natureza aldeídica, principalmente ésteres. O butirato de etila foi o componente mais abundante, em pequenos teores também foram identificados o acetato de etila, acetato de butila, isobutirato de butila e butirato de butila. Nenhum destes compostos isoladamente

reproduziu o aroma do cupuaçu, sendo sugerido que o aroma característico da fruta seja resultante da mistura dos componentes.

VELHO *et al.* (1991) *apud* VENTURIERI (1993), também estudaram os compostos responsáveis pelo aroma da polpa e das sementes do cupuaçu usando métodos similares aos de ALVES & JENNINGS (1979), porém com a utilização de polpa fresca. De acordo com estes autores os compostos voláteis responsáveis pelo aroma mais abundantes, na polpa foram os ácidos 9-octadecanóico, hexadecanóico e a piperazina, também encontrados nas sementes. Nas sementes, o composto volátil encontrado em maior quantidade foi o acetoaldeído benzênico.

A diferença entre os dados de ALVES & JENNINGS (1979), e de VELHO *et al.* (1991), mostram que o aquecimento da polpa pode ter promovido modificações na constituição química dos componentes responsáveis pelo aroma.

LE COINTE (1939) *apud* CHAAR (1980), afirmou que as sementes de cupuaçu apresentam, 48% de uma graxa branca e aromática, perfeitamente digerível ao homem, análoga à "manteiga de cacau" e que também pode ser utilizada para os mesmos fins. CALZAVARA (1968, 1970) *apud* CHAAR (1980), confirma o aproveitamento da gordura das sementes na produção de chocolate branco de fina qualidade.

De acordo com CORRÊA, (1926/1969) *apud* VENTURIERI, (1993), as sementes do cupuaçu são muito ricas em gordura (57% do peso seco), com digestibilidade de 91,1% em humanos.

Segundo SILVA (1988), apesar desta gordura possuir constantes físico-químicas similares às do cacau, não possui o mesmo comportamento durante sua fusão; a gordura de cupuaçu possui um processo de fusão mais tênue e, por isso, não poderia ser usado como sucedâneo direto. Porém, de acordo com este autor, uma adição de até 10% de gordura de cupuaçu, ou de sua estearina, à gordura de cacau não modificaria demasiadamente o padrão de fusão estabelecido para a gordura de cacau. Nas Tabelas 02, 03 e 04 podemos visualizar uma comparação entre as gorduras das sementes de cupuaçu e de cacau, no que se refere às suas composições química, ácidos graxos e constantes físico químicas respectivamente

VENTURIERI (1993), apresenta em seu trabalho um fluxograma para a utilização de vários produtos a partir do fruto de cupuaçu (Figura 02)

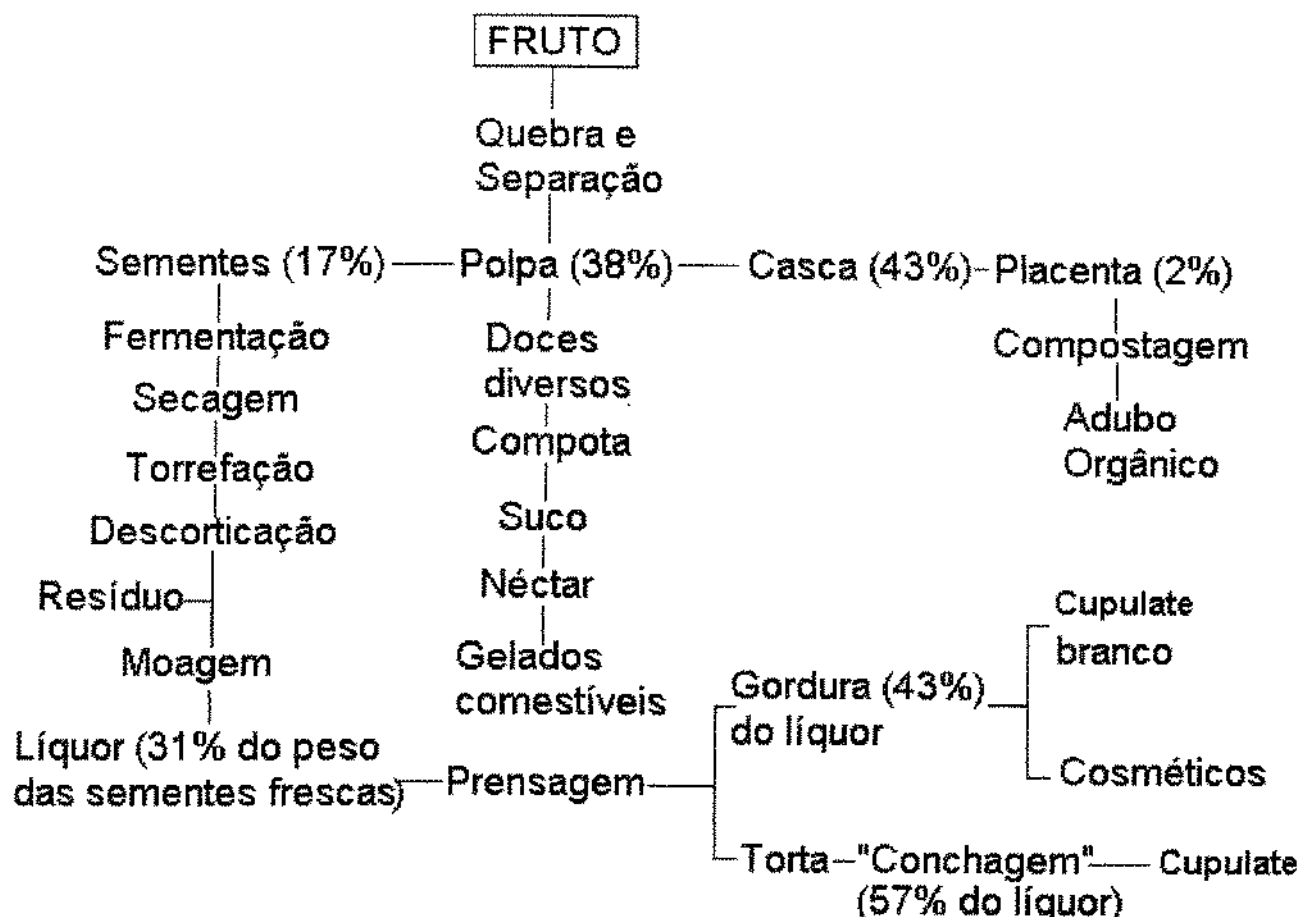


Figura 02 – Fluxograma de aproveitamento do fruto do Cupuaçu

Fonte: VENTURIERI (1993)

As amêndoas, entretanto, não têm seu potencial de utilização reconhecido, sendo na maioria das vezes usadas como adubo ou simplesmente encaradas como resíduos, apesar de possuírem uma gordura fina, de alta digestibilidade, muito semelhante à manteiga de cacau (VASCONCELOS *et al.*, 1975; LE COINTE, 1947; PESCE, 1941 *apud* VENTURIERI, 1988).

BAUMANN & WANNER, (1980); SCHULTES, (1978) e VASCONCELOS *et al.* (1975) *apud* VENTURIERI (1993) realizaram trabalhos investigando os teores de alcalóides presentes em sementes do cupuaçu, foi encontrado o ácido 1,3,7,9-tetrametilúrico, sugerido como precursor da cafeína. Esses pesquisadores em concordância com HAMMERSTONE *et al.* (1994), entretanto, não conseguiram detectar teobromina nem cafeína, como haviam sugerido outros autores (FREISE, 1935 *apud* VENTURIERI, (1993).

Tabela 02 – Composição centesimal das sementes de cupuaçu e de cacau.

	Umidade (% do peso fresco)	Proteínas	Gorduras	Carboidratos (% do peso seco)	Fibras	Cinzas
Cupuaçu						
(2)	56,6	20,0	50,8	15,9	9,6	3,7
(4)	8,38	11,86	57,73	24,25	1,94	4,0
(5)	5,06	19,86	63,13	-	-	-
(6)	-	-	-	-	-	-
Cacau						
(4)	36,0	12,92	48,15	9,23	4,9	4,0
(6)	-	-	60,5	-	-	-

(2) CHAAR (1980); (4) PHILOCREON (1962); (5) PESCE (1941); (6) BERBERT (1981).

Fonte: VENTURIERI (1998)

Tabela 03 – Composição de ácidos graxos de sementes de cupuaçu e cacau.

	Mirístico	Palmitico	Palmitoleico	Heptadecanoico	Estearico	Oleico	Linoleico	Linolênico	Araquídico	Galadoleico	Beêni-co
	C14:0	C16:0	C16	C17:0	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3	C20:0	C20:1	C22:0
Cupuaçu											
(1)	Traços	7,2	0,1	0,2	30,8	43,9	4,6	traços	11,0	0,4	1,8
(2)	-	6,7	-	-	35,5	45,0	3,3	-	9,1	-	-
(3)	-	5,8	-	-	38,3	42,8	8,3	-	4,8	-	-
(6)	Traços	11,5	-	-	31,8	40,3	5,6	1,0	9,8	-	-
Cacau											
(1)	0,1-0,3	25,0-28,0	0,4-0,7	-	33,0-37,0	31,0-35,0	2,0-3,5	traços-0,2	0,6-1,0	-	0-0,1

(1) SILVA (1988); (2) CHAAR (1980); (3) VASCONCELOS *et al.*, (1975); (6) BERBERT (1981).

Fonte: VENTURIERI (1998)

Tabela 04 – Constantes físico químicas da gordura de cupuaçu.

	pH	Ponto de Fusão	Densidade específica	Insaponificáveis (%)	Índices			
					Refração	Acidez	Iodo	Saponificação
Cupuaçu								
(1)	-	29-30	-	1,2	1,4583	3,3	34-35	191,0
(3)	5,7	32-34	0,9074	0,6	1,4583	4,2	45,9	174,6
(5)	-	19-30	-	-	1,4559	-	43,4	187,5
(6)	-	31	-	-	-	-	46,8	-
Cacau								
(1)	6,3	34-36	0,9730	0,3-0,8	1,456-1,457	1,0-4,0	35-40	192-198
(6)	-	32	-	-	33,0-37,0	-	35,1	-

(1) SILVA (1988); (3) VASCONCELOS *et al.*, (1975); (5) PESCE (1941); (6) BERBERT (1981).

Fonte: VENTURIERI (1998)

VENTURIERI (1988) relatou em seu trabalho a utilização de um produto semelhante ao chocolate de cacau só que feito a partir do cupuaçu na dieta dos antigos caboclos do rio Solimões, Madeira e Tocantins. Atualmente porém, quase não se observa o consumo deste produto nestas regiões, provavelmente devido à perda de tradições e valores, geralmente ligados aos hábitos alimentares.

No Brasil, a produção do "Cupulate" (produto obtido de sementes fermentadas de cupuaçu, denominado por NAZARÉ, 1990), comercializado com o nome comercial de "Chocam", é distribuída em Manaus, Belém, Fortaleza, São Luiz, Brasília e exportado para os Estados Unidos. Esta produção tende a crescer em um futuro próximo pois, o montante produzido atualmente atinge apenas 10% do comércio de achocolatados comercializados no Estado do Amazonas (LOZANO, 1994 *apud* DA SILVA, 1996)

3.7. Pré-processamento do cupuaçu

3.7.1. Fermentação

De acordo com ARAGÃO (1992), o aproveitamento da semente do cupuaçu já havia sido estudado pela semelhança botânica e composicional, baseando-se nos métodos utilizados para o cacau.

O processo de aproveitamento das sementes de cupuaçu, para produção de "cupulate", envolve etapas de fermentação, secagem, torração e moagem.

MEIRA PENA (1946) *apud* COUTINHO (1969), fez referência em seu trabalho "das sementes (do cupuaçu) torradas prepara-se uma espécie de chocolate", o que levou a autora a estudar a possibilidade de uma semelhança entre os produtos obtidos de sementes de cacau e sementes de cupuaçu.

As sementes quando levemente fermentadas, germinam mais rápido, no entanto, se a fermentação for prolongada, ocorre a morte do embrião sendo assim a semente passa a ser denominada amêndoa (VENTURIERI *et al.*, 1985)

COUTINHO (1969), fermentando sementes de cupuaçu, observou que a polpa aderida às sementes resistiram à fermentação, havendo necessidade de elevação do pH para 6.0, através da adição de carbonato de cálcio em pó. Caso contrário, haveria

desenvolvimento de *Aspergillus niger* e formação de uma massa de coloração negra. Em seu trabalho após tratar a massa até o pH desejado, o material foi colocado em caixas de madeira com ventilação e deixados para fermentar por oito dias, período que, de acordo com a pesquisadora, não deve ser ultrapassado sob o risco de deterioração do produto. A mesma autora, não forneceu detalhes da metodologia aplicada.

NAZARÉ *et al.* (1982) *apud* ARAGÃO (1992), relataram que para serem fermentadas, as sementes de cupuaçu devem ser colocadas em caixas de madeira, por períodos variando de 24 a 30 h com um pH entre 3,4 a 4,0. Após esse período, haveria a necessidade de elevação do pH para 5,5 a 6,0 através da adição de cerca de 1% de CaCO_3 (p/p). Nessas condições a fermentação estaria completa em cinco dias

PITA *et al.* (1988) *apud* ARAGÃO (1992), montaram um experimento utilizando sementes de cupuaçu despulpadas manualmente, colocados em cochos de madeira (volume de 3.750 cm^3), com aeração e homogeneização por revolvimentos a 24, 48, 96 e 144 h após o início da fermentação. Durante 20 dias o processo fermentativo foi avaliado com relação a concentração de CO_2 , xantofila e matéria seca. Concluíram afirmando ser necessário inibir o processo germinativo e apressar o fermentativo pela inclusão de uma mistura de glicose e ácido acético com molaridade conhecida, uma vez que as sementes germinaram e não fermentaram.

NAZARÉ *et al.* (1983) *apud* ARAGÃO (1992), verificaram que a massa de sementes de cupuaçu com pesos de 2 a 9 Kg, não fermentavam naturalmente, devido ao baixo pH da polpa. Foi sugerido uma elevação deste pH para 5,0 ou 6,0 pelo uso de carbonato de cálcio (cerca de 1% p/p) adicionado ao material 24 a 30h após o início da fermentação, e no caso de massa contendo de 10 a 20 Kg, reduzir a concentração de carbonato para 0,6 a 0,7%. Em testes utilizando 25 a 29 Kg de sementes, com e sem a adição de carbonato, não houve desenvolvimento de mofos, assim como o odor manteve-se bom e bastante pronunciado, indicando que houve fermentação.

Em um novo teste fermentativo no qual foi utilizado 60 Kg de sementes, NAZARÉ *et al.* (1985/1987) *apud* ARAGÃO (1992), relataram que não houve necessidade de adição de CaCO_3 . Uma vez que logo após o processo fermentativo, houve lavagem e despolpa das sementes em despolpadeira, sugere-se que tenham sido utilizados sementes sem despolpar.

Em um experimento conduzido por VENTURIERI & AGUIAR (1988), sementes de cupuaçu, após despolpa manual com auxílio de tesouras, foram colocadas para fermentar por um período de cinco dias em uma caixa de madeira de 30 x 30 x 40 cm,

com furos de 3/8 de polegadas no fundo, que permitiam a exsudação de eventuais líquidos, e o material foi coberto com um saco de aniagem. Após o primeiro dia foi efetuado um revolvimento. Por mais duas vezes, 24 e 72h após o primeiro revolvimento, foi repetida a operação. O produto em bastão, foi obtido artesanalmente, ou seja as amêndoas secas e descascadas foram apiloadas até formar uma massa homogênea, moldadas em bastões e postas para secar a sombra, conforme metodologia descrita por um caboclo amazonense.

NAZARÉ *et al.* (1990), relataram um procedimento em que as sementes, após despolpa sem incorporação de água, foram colocadas para fermentar em caixas de madeira com capacidade de 80Kg. Após 24h, à temperatura ambiente e abrigadas de chuva, foi adicionado ao material uma solução a 38° C contendo 30% de açúcar, (na proporção de 1% de solução em relação ao peso do material). Transcorridas 48h do início do processo fermentativo, adicionou-se nova solução de açúcar, nas mesmas condições anteriores. Recomendou-se ainda que efetue-se dois revolvimentos diários. O processo terminou entre o quinto e sétimo dia.

ARAGÃO (1992), estudou um processo fermentativo de sementes descongeladas e sementes frescas. Utilizando caixas de madeira com dimensões de 40 x 40 x 60 cm. De acordo com este autor, o fundo da caixa continha frestas de 0,5 cm de largura. As caixas foram colocadas sobre uma bandeja de madeira forrada com plástico, com a finalidade de coletar o líquido drenado durante a fermentação, e abrigadas do sol e chuva em um pequeno galpão aberto. O volume fermentado correspondeu à altura de 40 cm na caixa (cerca de 0,064 m³). A cada 24h foi efetuado um revolvimento, com auxílio de pá de madeira. Após o revolvimento, as sementes foram passadas para a caixa seguinte, após sete dias de processo o material foi retirado. De acordo com o autor a fermentação foi efetiva visto que, após o processamento, um produto com características similares ao cacau foi obtido.

CUNHA *et al.* (1997), estudaram as alterações que ocorrem na estrutura celular das amêndoas durante o processo fermentativo e relataram a presença de material fenólico na testa das amêndoas, evidenciada pelo acúmulo, em alguns pontos, de pequenas esferas agrupadas. Destacaram, ainda, que tanto o corante AT (Azul de Toluidina) como o XP (Xylidine Ponceau) evidenciaram uma redução na espessura da camada parenquimática durante o processo fermentativo, especialmente nas células mais próximas ao cotilédone. Essas células passaram a apresentar aspecto mais alongado após algumas horas de fermentação em relação ao material não fermentado,

que possui células arredondadas. Notaram ainda, com muita evidência, um maior número de rompimentos celulares no material fermentado em relação ao não fermentado.

CUNHA *et al.* (1997), relata que provavelmente a principal substância de reserva dos cotilédones do cupuaçu possa ser de caráter lipídico e que o material estudado apresentou abundância de proteínas nos cotilédones, parecendo que o material protéico desse tecido não sofreu alterações significativas durante o processo fermentativo.

Os cotilédones apresentam também uma quantidade considerável de grãos de amido, sendo provável que eles possuam um teor maior de amilopectina que amilose. Assim sendo, o amido do cupuaçu deve ser mais solúvel e digerível que, por exemplo, o do feijão. Embora tal fato não tenha sido documentado, os grãos de amido do material fermentado são aparentemente menores que os do não fermentado. Destaca-se que a distribuição do amido não é homogênea, havendo maior concentração nas regiões mais periféricas do cotilédone (não documentado). Ao se realizar uma pequena amostragem do número de grãos de amido no material fermentado e no não fermentado (na região central e na periférica), não houve diferenças estatísticas consideráveis (CUNHA *et al.* 1997).

3.7.2. Secagem

COUTINHO (1969), afirmou que após o processo fermentativo, as amêndoas devem ser lavadas com água e postas para secar ao sol, torrando-as em seguida à temperatura de 110 – 120° C, durante 4 horas, o que, de acordo com a autora, seria essencial para o desenvolvimento do sabor e aroma característicos do chocolate.

NAZARÉ *et al* (1982; 1983) *apud* ARAGÃO, (1992), descreveram que após o processo fermentativo, as amêndoas lavadas, deveriam ser secas até o máximo de 6% de umidade residual. Os autores utilizaram uma chapa elétrica com temperatura variando de 105 e 150° C durante 180 min, para torrar as amêndoas, variando os tempos de exposição.

VENTURIERI & AGUIAR (1988), secaram amêndoas fermentadas ao sol por três dias, torrando-as em seguida em tacho de torrar farinha.

NAZARÉ *et al* (1990), estudaram em seu trabalho a fermentação durante um período que variou de cinco a sete dias. Após esta fermentação, as amêndoas foram secas ao sol e, em seguida, torradas em estufa à 150° C. Após descascamento as amêndoas foram utilizadas na formulação de diversas formulações, com e sem a adição de gordura de cupuaçu.

ARAGÃO (1992), estudou a secagem de amêndoas obtidas num processo fermentativo, em galpão coberto, no qual foram realizados revolvimentos diários com rodo de madeira; as amêndoas permaneceram nessas condições até atingirem a umidade de equilíbrio com o ambiente. Após este procedimento, as amêndoas foram secas ao sol, acondicionadas em sacos de poliestireno e armazenadas a temperatura ambiente. As amostras obtidas foram torradas a 150° C por um tempo de 30 min., descascadas manualmente, trituradas, peneiradas, acondicionadas em vidros a temperatura ambiente. O material assim estocado foi utilizado no preparo de um creme. O mesmo autor relata que, o creme, obteve boa aceitação em análise sensorial.

3.8. O Cacau

3.9. Classificação do cacau

O cacau (*Theobroma cacao* L.), assim como o cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) são da mesma família, *Sterculiaceae*.

Do ponto de vista comercial, três grupos são fundamentais no reconhecimento do cacaueiro. Eles são o Criollo, o forasteiro e o trinitário.

- Cacau criollo: caracteriza-se pela forma alongada, com uma ponta proeminente. Sua superfície externa é enrugada, possuindo cinco sulcos longitudinais profundos e pronunciados. Suas sementes são ovais e encontram-se relativamente soltas na polpa. Os seus cotilédones não contêm células pigmentadas, portanto, caracterizam-se pela cor branca. Possui um aroma suave e agradável. O cacau criollo pode ser subdividido em grupos "América Central" e "América do Sul". Essa subdivisão pode ser dividida em criollo do México (Chiapa), Pentagona ou Lagarto

(indígenas do México e Guatemala). Criollo Nicaragüense e Colombiano. Atualmente, quase não se possui cultivos da variedade criollo.

- O cacau forasteiro: Apresentam frutos de forma mais arredondada, com casca dura de superfície quase lisa. As sementes estão firmemente alojadas na polpa e são achatadas, de forma quase triangular. Possuem cotilédones de cor violeta. Possui sabor mais ácido e mais adstringente, que as outras variedades. O tipo Forasteiro, por serem mais produtivas e também resistentes a pragas e enfermidades, representam praticamente a totalidade do cacau de consumo no mundo atual. O cacau forasteiro inclui as seguintes variedades: amelonado (Brasil e África Ocidental), comum (Brasil), África Ocidental (Costa do Marfim, São Tomé, Gana e Costa do Togo), cacau nacional (Equador), Ceilão (Costa Rica e México) e Guiana (Suriname). O forasteiro Amazônico, corresponde ao cacau produzido no Brasil e na África Ocidental.
- O cacau trinitário: A origem deste cacau é normalmente atribuída ao resultado da hibridização entre árvores de cacau tipo criollo e forasteiro. Entretanto, evidências bioquímicas recentemente descobertas, sugerem que o cacau trinitário seja mais próximo do cacau criollo. Árvores de cacau trinitário e criollo, produzem um produto considerado por muitos como de alta qualidade (CHATT, 1953; LAJUS, 1982; MINIFIE, 1989; URBANSKI, 1992; BECKETT, 1994).

O cacau puro criollo difere do forasteiro e dos híbridos no que se refere a esse possuir uma testa fina e um sabor menos adstringente. A maior diferença visível é que os cotilédones do cacau criollo, não possuem antocianinas, pigmentos de cor arroxeada. KNAPP & HEARNE (1939) *apud* CHATT, (1953), relataram em seu trabalho a presença de leucoantocianinas que após tratamento com ácido clorídrico a 1% em ebulição, adquiria uma cor alaranjada. Tratamento similar com uma solução do mesmo ácido a 5%, produzia uma solução de cor marrom avermelhado.

Antes da fermentação, as células pigmentadas, compreendem em torno de 10%, de todo o tecido de semente púrpuras. Os ácidos produzidos na polpa pelos microrganismos são difundidos para o cotilédone provocando o início das reações de hidrólise e oxidação de pigmento. A composição desses pigmentos foi demonstrada por GUR'EVA & TSEREVITINOV (1979) *apud* SCHAW *et al.* (1990), segundo os quais as antocianinas são responsáveis pela coloração púrpura e o produto de condensação de flavonóides, pela coloração marrom. SCHAW *et al.* (1990), relataram em seu trabalho que a coloração externa das amêndoas, avaliada visualmente durante a

fermentação, variou progressivamente do branco-róseo ou castanho-claro para marrom-avermelhado, marrom e, finalmente, marrom-escuro.

3.10. A árvore e os frutos do cacau

A árvore do cacaueiro (Figura 03), necessita para seu desenvolvimento de áreas sombreadas, precipitação pluviométrica adequada, boas condições do solo e boas condições fitossanitárias. O cacaueiro possui de 4,5 a 7,5m de altura, podendo atingir até 15m, porém nas plantações sua altura é limitada a cerca de 8m devido à poda. A árvore começa a florir a partir do terceiro ano de vida, atingindo seu pleno desenvolvimento no décimo ano. Frutos e flores são encontrados durante todo o ano nas árvores. As flores com cerca de 1,5 cm de diâmetro crescem diretamente do caule, chegando a aparecer até seis mil flores por árvore, sendo que menos de 1% destas frutificam, resultando 20 a 50 frutos por ano (DIMICK & HOSKIN, 1981; LAJUS, 1982; BECKETT, 1994).

Os frutos do cacaueiro, após cinco ou seis meses estão completamente desenvolvidos. O fruto maduro consiste em uma casca relativamente grossa, que contém de 30 a 50 sementes imersas em uma polpa mucilagínosa. A forma e o aspecto do fruto, variam de acordo com o tipo de cacau. As suas sementes, possuem dois cotilédones, os quais são envolvidos por uma membrana chamada de endosperma. Os cotilédones servem como depósitos de nutrientes, que são utilizados no desenvolvimento da semente e para as duas primeiras folhas da planta, quando as sementes germinam. Dentro de cada semente existe um pequeno gérmen ou embrião. Este material é recoberto por uma casca, denominada testa. (ROHAN, 1964; LAJUS, 1982; BECKETT, 1994).



FIGURA 03 – Troncos com frutos de cacau

Fonte: BECKETT (1994)

3.11. Colheita

Na maioria dos países produtores distingue-se dois períodos de safra: a principal (outubro a março) e a secundária (abril a setembro), dependendo das condições climáticas de cada região. No Brasil, a safra principal ocorre de outubro a janeiro, e o temporão, de maio a agosto.

Amêndoas oriundas de frutos bem maturados, podem apresentar sementes germinadas, chegando a causar ruptura da casca e contaminação das sementes.

Nos frutos que ainda não atingiram o ponto ideal de maturação, a polpa contém reduzido teor de açúcares, apresentando baixo rendimento no processo fermentativo. Os frutos maduros são colhidos com auxílio de facão ou um tipo especial de foice, sendo amontoados na própria plantação, onde podem permanecer por um período de 3 a 4 dias. Esse intervalo entre colheita e quebra dos frutos influencia de maneira favorável o processo fermentativo, resultando em uma subida mais rápida da temperatura durante o processo (BCCCA, 1996). Um período superior, pode causar uma hidrólise da polpa, reduzindo o teor de açúcar, podendo existir o risco de germinação. As árvores de um plantio de cacau não maturam ao mesmo tempo, sendo que a colheita deve ser realizada durante vários meses. É essencial que os frutos sejam coletados no ponto ideal de maturação, o que é normalmente avaliado pela coloração da casca, e é normal ter períodos de maturação de 2 a 4 semanas (ROHAN, 1964; BECKETT, 1994). Deve-se evitar o arrancamento manual dos frutos da árvore, pois esta prática prejudicará futuras florações. Recomenda-se remover frutos secos e doentes durante a colheita, como medida profilática (LAJUS, 1982).

3.12 Quebra dos frutos

Os frutos são abertos manualmente, com auxílio de um facão ou machete. Esta operação consiste em cortar o pericarpo e retirar dos frutos as sementes, que separadas da placenta, serão submetidas a fermentação (LAJUS, 1982; BECKETT, 1994).

É normal transportar os frutos em mulas ou em canoas, até o local onde se realizará o pré-processamento das sementes (ROHAN, 1964).

3.13. Produção, comercialização e usos

O principal produto do fruto do cacau são as sementes, o que corresponde a 10% do peso do fruto. BONDAR (1938) *apud* LOPEZ, *et al.* (1984), relata em seu livro que o resíduo de cacau é altamente nutritivo.

LOPEZ, *et al.* (1984), descreve em seu trabalho a possibilidade de aproveitamento de partes do fruto como a casca e placenta. A polpa que envolve o

fruto contém entre 10 a 15% de açúcares, 1% de pectina e 1,5% de ácido cítrico. Uma parte da polpa é necessária para a produção de álcool e ácido acético, durante o processo fermentativo das sementes de cacau. Estima-se que entre 5 a 7%, dessa polpa, é perdida na forma de exsudação durante a fermentação (ADAMS *et al.* 1982).

Vários artigos descrevem metodologias para coleta, remoção, preservação da polpa de cacau, preparação de geléia e prensagem para extração de suco (OLIVEIRA e ALVES SOBRINHO, 1965; PEREIRA e ASSIS, 1971; BORGES, 1975; BORGES, GOMES e PEREIRA, 1978; SERRA, 1975; 1977 *apud* LOPEZ, *et al.* 1984).

ROSA & ROMEU, (1982), relataram em seu trabalho a produção de vinhos e vinagres a partir de polpa de cacau.

As cascas do fruto do cacau, compreendem 80% do peso do fruto fresco. Aproximadamente 85% do peso da casca é água, e o resíduo é pobre em proteínas, porém possui altos teores de fibras, minerais e carboidratos (BLAKEMORE, DEWAR e HODGE, 1966; MARAVALHAS e SOUZA, 1975 *apud* LOPEZ, *et al.* 1984). Sua utilização em alimentação animal é relatada por vários autores (OPEKE, 1956; GREENWOOD-BARTON, 1965; BATEMAN e LARRAGAN, 1966; ADOMAKO, 1981; BATEMAN e FRESNILLO, 1967; DEVENDRA, 1980 *apud* LOPEZ, *et al.* 1984).

3.14. Pré-processamento do cacau

3.14.1. Fermentação

O processo de produção de chocolate envolve várias etapas, iniciando-se pelo pré-tratamento do cacau, que abrange todas as definições de um processo normal de fermentação, com ação microbiológica, atividade enzimática e desenvolvimento de precursores de sabor e aroma. Dois principais eventos ocorrem durante esse processo: a) atividade microbiana na polpa mucilaginosa, produzindo álcool e ácidos e liberando calor; b) complexas reações bioquímicas no cotilédone, iniciadas pela difusão de produtos do metabolismo, produzidos por microrganismos. Assim como ocorre a morte do embrião da semente, causada pelas condições adversas do meio e posteriormente uma degradação, proporcionada pelo ataque de ácidos e da elevação

da temperatura, no tecido da semente, tornando a secagem da amêndoa mais fácil (SCHWAN, 1996).

A Figura 04 apresenta um desenho esquemático com as principais transformações que ocorrem na polpa e no cotilédone durante o processo de fermentação.

Os princípios básicos da fermentação são similares na maioria dos casos, mas o processo varia na maneira em que é conduzido, de país para país, chegando até há acontecer diferenças, entre fazendas em uma mesma região (KNAPP, 1937; ROHAN, 1964; LOPEZ & DIMICK, 1991). De acordo com LOPEZ & DIMICK, (1991), pesquisas conduzidas por FORSYTH & QUESNEL (1956), revelaram que a maioria do cacau no mundo, é processada em cestas, montes ou caixas. A fermentação em montes e cestas é utilizada em propriedades que possuem pequena produção de cacau, porém a maioria dos grandes produtores utiliza caixas de madeira.

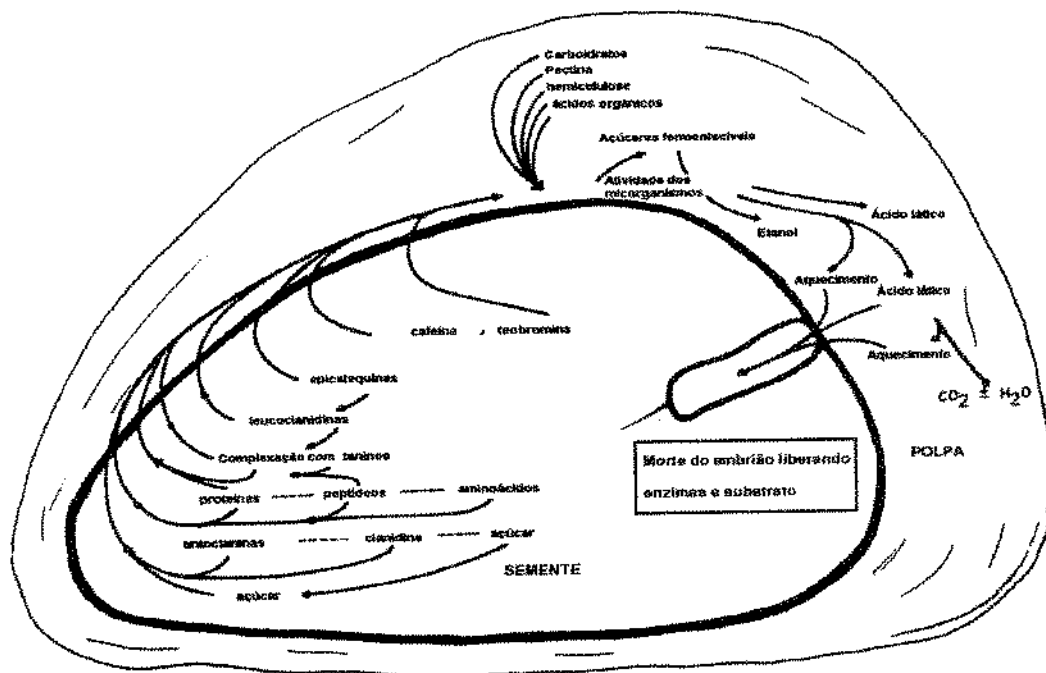


FIGURA 04 – Transformações nas sementes de cacau durante o processo fermentativo
Fonte: LOPEZ & DIMICK (1991)

FORSYTH & QUESNEL (1957), descrevem em seu trabalho as quatro metodologias mais utilizadas para fermentar cacau:

Fermentação em bandejas de secagem: Neste procedimento praticado quase que exclusivamente no Equador, após rompidos os frutos, as sementes são amontoadas em bandejas. Entretanto, em algumas partes do Equador emprega-se uma outra metodologia, denominada de "tenda de fermentação", na qual é feita uma fundação com pedras e areia. O cacau fresco é amontoadado até uma altura de aproximadamente 40cm, sendo logo após cobertos com bambu. O tratamento dura de 24 a 36h, efetuando-se uma remoção após 24h.

Fermentação em cestas: Este método utiliza cestas de vime, cheias com as sementes frescas, cobertas com folhas de palmeira. A exsudação decorrente do processo ocorre pelas frestas da cesta. O revolvimento é feito fazendo-se passar o material de uma cesta a outra. O tamanho da cesta varia (por exemplo 9 a 136Kg).

Fermentação em montes: É talvez o método mais popular de fermentação do cacau utilizado pelos pequenos produtores. As sementes frescas são amontoadas sobre um base feita de folhas de bananeira, sendo cobertas com esse mesmo material. Se o monte for muito pequeno, ocorre uma diminuição na temperatura, o que poderá provocar a germinação das sementes, proporcionando um produto com sabor adstringente.

Fermentação em caixas: Este método é mais utilizado para grandes quantidades de cacau. As caixas são construídas em madeira, possuindo dimensões variáveis, mas de um modo geral, possuem uma capacidade aproximada de 1 ton. Podem ser colocadas em seqüência em um mesmo plano ou em escada. Esta última disposição é útil por facilitar o revolvimento, que é feito pela simples passagem do material de uma caixa para outra. No fundo de cada caixa deve haver orifícios de exsudação, para facilitar a saída dos líquidos e permitir ventilação. O primeiro revolvimento da massa de sementes deve ser feito impreterivelmente após 24h, do início do processo fermentativo. O momento em que devem ser realizados os revolvimentos seguintes dependerá da magnitude do lote; Os revolvimentos deverão ser realizados rapidamente para impedir o resfriamento excessivo da massa de cacau.

GRIMALDI (1978), descreveu a utilização de uma caixa de fermentação contínua, a qual denominou T-60; esta caixa com três compartimentos, possui a forma e volumes adequados para cada uma das fases da fermentação (aeróbia e anaeróbia). No seu trabalho o autor relata que a massa a ser fermentada foi colocada no primeiro

compartimento, sendo então misturadas e cobertas com folhas picadas de bananeira. Para proporcionar uma inoculação, atribuída aos microrganismos existentes na superfície dessa folha. Em seguida observou-se uma subida rápida da temperatura (35 à 40° C). Após um período de 48 h a massa foi transferida para o segundo compartimento; neste compartimento a temperatura chegou a 50° C após 24 h, diminuindo depois para 45° C, e ocorreu a liberação de um odor de álcool; Completadas mais 48 h nesse compartimento, o material foi passado para o terceiro compartimento da caixa onde ocorreu um decréscimo de 2 a 3° C na temperatura da massa, devido ao revolvimento. A massa permaneceu no terceiro compartimento por 24 h, com a temperatura chegando novamente a 45° C. Após transcorrido esse período as amêndoas foram retiradas e secas. Com este procedimento o autor obteve uma boa homogeneização das amêndoas de cacau, além de processar continuamente de 6.000 a 7.500 frutos por semana, o que equivale a 250 a 300 Kg de cacau seco.

Na América Central e do Sul, a fermentação é conduzida em caixas de madeira com orifícios no fundo para drenagem do exsudado. No Brasil, a técnica usual é a fermentação em caixas dispostas em série, denominadas de cochos de fermentação. Segundo normas técnicas da CEPLAC, os cochos devem possuir compartimentos medindo 1,20 X 1,00 X 1,00 m de altura. O fundo deve ser ripado com espaçamento entre as ripas de 3 mm, ou ter furos de 9 mm de diâmetro, afastados 15 cm, para a drenagem do exsudado e arejamento da massa

Neste tipo de técnica o revolvimento é conduzido diariamente ou em dias alternados, sendo efetuado pela transferência das sementes de um recipiente para o outro. A duração da fermentação varia de 5 a 7 dias. Mudanças ocorrem, externa ou internas, indicando que o processo está completo. O cacau da Bahia, quando atinge grau de fermentação adequado, apresenta coloração vermelho-castanho, intensa, com os cotilédones de cor violeta pálida, aroma de vinagre e a temperatura varia de 47 a 50° C. Após a fermentação as sementes geralmente são secas ao sol em plataformas ou em bandejas, caso o tempo esteja adequado; senão, as sementes são secas artificialmente até um nível de umidade de 7 a 8% (LAJUS, 1982; LOPEZ & DIMICK, 1991).

As sementes no interior do fruto são microbiologicamente estéreis. No entanto após a sua abertura, a polpa é contaminada com uma variedade de microrganismos oriundos das mãos dos trabalhadores, de facas e foices, de cestos usados no

transporte das sementes, e de restos de mucilagem deixados por fermentações anteriores (SCHAW, 1996).

A polpa do cacau é composta de 82 - 87% de água, 10 - 15% açúcares, 2 - 3% pentosanas, 1 - 3% ácido cítrico e 1 - 1,5% de pectina (SCHAW, 1996). Proteínas, aminoácidos, vitaminas (principalmente vitamina C) e minerais. As concentrações de glucose, sacarose e frutose variam em função do estágio de maturação do fruto (SCHAW, 1996). Sua fermentação é iniciada no momento em que os frutos são abertos. BEBERT (1979) *apud* SCHAW, (1996), determinando o teor de açúcar em frutos recém colhidos e naqueles estocados por seis dias após a colheita relatou que o teor de glucose e frutose foi maior naqueles armazenados por seis dias do que nos frutos recém colhidos. Em um estudo comparativo com polpas de frutos provenientes da Costa do Marfim, Nigéria e da Malásia, PETTIPHER, (1986) *apud* SCHAW, (1996), encontrou diferentes valores para o teor de água, citrato, hemicelulose, lignina e pectina, o que demonstra a grande variabilidade existente entre os cultivos.

O cacau brasileiro tende a ser extremamente ácido, característica pouco desejada pois tem afetado o desenvolvimento do seu mercado internacional. Uma solução possível para esse problema é a remoção de parte da polpa, para ser utilizada em outros produtos (geléias, suco de cacau, polpa congelada, vinagre e licor de cacau). SCHAW, (1996), relatou que uma fermentação normal, ocorre quando há uma redução de até 25% do peso das sementes frescas. SCHAW & LOPEZ (1987) *apud* SCHAW, (1996), mostraram que uma remoção parcial (20%), da polpa de cacau acelerava o processo fermentativo.

Em muitas plantações utiliza-se uma prensa hidráulica, para remover parte da polpa antes da fermentação. Esse procedimento melhora a qualidade final do produto. Uma patente da Nestlé & Golden Hope Plantations (1991) *apud* BECKETT, (1994), descreve o uso de despulpadeira mecânica, seguido por uma pré-secagem. Esse procedimento produz amêndoas com boa qualidade, acidez e flavour similares ao do cacau africano.

Durante o processo fermentativo, as sementes, com restos de polpa aderida, perdem aproximadamente 25% do seu peso. Isso é atribuído a drenagem das substâncias exsudadas. Somente uma pequena porção dessa drenagem é atribuída a mudanças químicas na composição das sementes. As mudanças no peso não são igualmente distribuídas entre a testa, gérmen e cotilédones das sementes de cacau. Quando o cacau é processado de maneira adequada, a aparência da testa muda de

uma textura lisa, branca e bem aderida para uma textura rugosa, marrom claro e facilmente removível. As sementes não fermentadas são ovais e de algum modo achatadas. Durante a fermentação os cotilédones absorvem umidade e a amêndoa torna-se inchada (CHATT, 1953).

3.14.2. Microbiologia da Fermentação

Mudanças climáticas no local aonde está ocorrendo a fermentação podem influenciar a sequência de microrganismos envolvidos nessa etapa do processamento do cacau. Muitos autores têm observado a ocorrência de uma sucessão de grupos de microrganismos (ROMBOUTS, 1952; OSTOVAR & KEENEY, 1973; SCHAW *et al.*, 1983 *apud* SCHAW, 1996). No início da fermentação várias espécies de leveduras proliferam, produzindo entre outros metabólitos etanol e enzimas pectinolíticas. A acidez inicial da polpa (pH 3,6), decorrente da presença de ácido cítrico, juntamente com os baixos teores de oxigênio favorecem a colonização da mesma por leveduras (SCHAW *et al.*, 1990 *apud* SCHAW, 1996) capazes de metabolizar os carboidratos da polpa em condições aeróbias ou anaeróbias. As leveduras multiplicam-se rapidamente nas primeiras 12 h, mantendo uma população quase constante nas 12 h seguintes. Entretanto nas 24 h posteriores a essa, ocorre um rápido declínio seguido por uma redução mais lenta na população de leveduras. A conversão de sacarose, glucose e frutose para etanol e CO₂ é atividade primária das leveduras. Medidas no teor de etanol mostram claramente que o aumento da concentração deste, na polpa, faz com que ocorra uma penetração do mesmo na amêndoa. Várias leveduras isoladas, produzem ácidos orgânicos incluindo o acético, oxálico, fosfórico, succínico e málico. Esses ácidos orgânicos possuem poder tamponante, reduzindo as flutuações do pH (SCHAW, 1996).

As leveduras metabolizam ácido cítrico causando um aumento do pH da polpa. Estes fatores, inibem a população de leveduras e suas atividades, e criam um meio satisfatório para bactérias lácticas.

As condições da massa favorecem então o desenvolvimento de bactérias lácticas, que são tolerantes as condições descritas acima e a baixa tensão de oxigênio do meio. A população desses organismos alcança o pico, no momento em que a população de leveduras está em declínio. As bactérias lácticas exibem uma taxa de

crescimento mais rápida durante um período que vai de 16 a 48 h do início do processo fermentativo, sendo a população dominante por um curto período de tempo (SCHAW, *et al.* 1995 *apud* SCHAW, 1996; BECKETT, 1994; LOPEZ, 1991).

Nesta etapa, a aeração da massa é intensificada e a temperatura sobe acima de 37° C. As bactérias acéticas tornam-se então os organismos dominantes. Essas bactérias são responsáveis pela oxidação do etanol a ácido acético e, posteriormente, pela oxidação deste a CO₂ e água. Este estágio da sucessão microbiológica, reflete as mudanças na concentração de etanol (declínio), ácido láctico (declínio) e acético (aumento). As reações exotérmicas das bactérias acéticas aumentam a temperatura da massa para 50° C, provocando provavelmente, a diminuição do número de bactérias acéticas, a partir de 72 h. Além de induzir a acidez e a alta temperatura da massa, as bactérias acéticas são responsáveis pela difusão e hidrólise das proteínas do cotilédone. O forte odor de ácido acético, se torna evidente entre 48 e 112 h, decrescendo progressivamente até o final da fermentação (DIMICK & HOSKIN, 1981; URBANSKI, 1992; LOPEZ, 1991; BECKETT, 1994; SCHAW, 1996).

A Figura 05, mostra as principais transformações que ocorrem na polpa decorrentes da ação dos microrganismos envolvidos na fermentação.

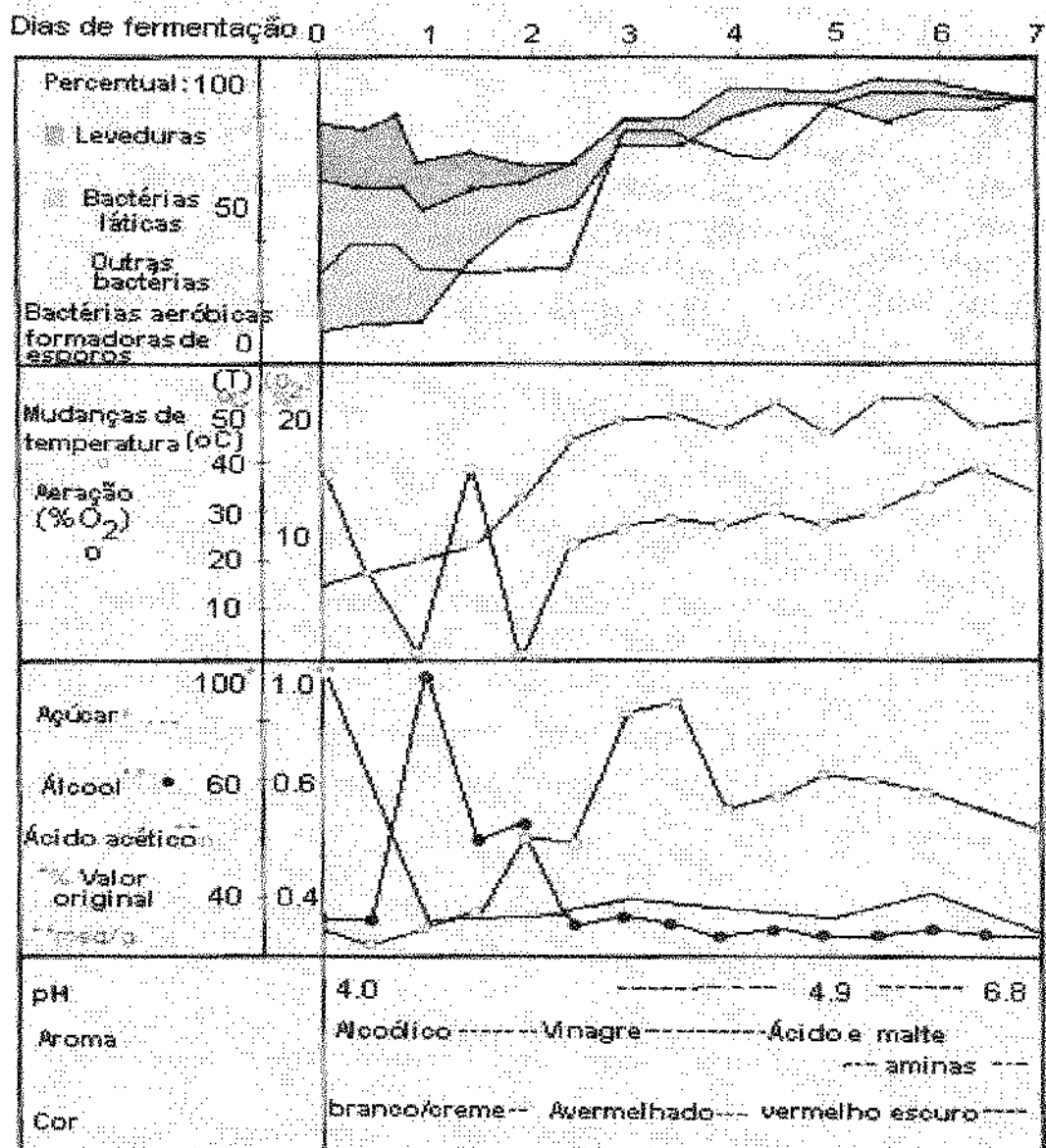


FIGURA 05 – Transformações na polpa de cacau durante o processo fermentativo

Fonte: BECKETT (1994)

3.14.3. Transformações no cotilédone

As principais partes da semente são dois cotilédones que são unidos por uma pequena base embrionária.

Durante o processo fermentativo as sementes adquirem a capacidade de absorverem umidade e incham-se (CHATT, 1953). Após o processo fermentativo, a testa, coberta com resíduos da polpa, passa a representar em torno de 12 a 16 % da semente em relação ao peso seco, dependendo do tamanho da semente e da degradação da polpa durante o processo fermentativo. O peso seco da semente varia consideravelmente, ficando geralmente em torno de 1,0 – 1,2 g.

Aproximadamente 80 % das células armazenam lipídios e proteínas, o maior volume porém, é composto de células armazenadoras de gordura. Os 20% restantes das células, são compostas de células armazenadoras de compostos polifenólicos. O interior destas células é quase que inteiramente ocupado por um vacúolo central que armazena todo polifenol e as purinas.

As estruturas no interior das células armazenadoras de lipídios e proteínas controlam as reações pré e pós morte das sementes, durante o processo fermentativo. O interior das células vivas pode ser descrito, de uma maneira grosseira, como possuindo uma fase lipídica dispersa (corpos lipídicos) em uma fase aquosa contínua (citoplasma). Durante o processo fermentativo, as células são degradadas pela elevação da temperatura e pela presença do ácido acético. Em baixas concentrações de ácido acético, os corpos lipídicos presentes no interior das células se rompem, formando uma pequena fase contínua lipídica. Entretanto, na presença de altas concentrações de ácido acético o rompimento dos corpos lipídicos é maior, causando uma completa agregação dos lipídios no centro da célula. Na primeira situação, a difusão intracelular dos componentes solúveis em água é reduzida pelas barreiras lipídicas. Na Segunda situação a difusão não é restringida. A organização das estruturas no interior das células exercem influência nas proteólises, nas reações de escurecimento, na difusão de ácidos e na formação dos precursores do flavour (MACRAE *et al.* 1993).

A ação das enzimas peroxidase e da polifenoloxidase em sementes de cacau durante o processo fermentativo, inicialmente é intensa nos cotilédones, porém, torna-se muito reduzida após dois dias de tratamento. No caso da peroxidase, essa pouca

estabilidade é atribuída as condições de temperatura e pH, durante a fermentação. De acordo com VILLENEUVE *et al.* (1985), a perda de compostos fenólicos observada entre o segundo e o terceiro dias de fermentação, não parece ser interpretada como um processo de oxidação enzimática.

Muito pouco é sabido sobre as reações anteriores à morte da semente, que é causada pelo calor e difusão do ácido acético. Em temperaturas de aproximadamente 40° C, favorecem um aumento na proteólise após a morte da semente, bem como a formação dos precursores do flavour durante a fermentação. Uma subsequente absorção de ácido acético pela semente, controla as atividades das enzimas, sob condições anaeróbias. Há um aumento no gradiente de ácido acético para o interior do tecido. O aumento da temperatura, e as mudanças no pH, também controlam as estruturas intracelulares. No momento em que as membranas plasmáticas são destruídas, proteínas, polifenóis e outros compostos são liberados e entram em contato com as enzimas. Nesse estágio o pH do cotilédone decresce e dependendo da concentração de ácido acético, fica em torno de 5,0 - 4,0. Como resultado da destruição celular e da degradação enzimática, uma variável quantidade de constituintes solúveis, flavonóides, aminoácidos, purinas e açúcares são perdidos através da exsudação. A perda de 10 - 40% das substâncias solúveis modifica a composição original da semente de cacau. O teor de açúcares livres na semente de cacau não é maior do que 2 - 4% (base seca). Sacarose é o componente presente em maior quantidade (aproximadamente 90% do total dos açúcares), seguida pela frutose e glucose (aproximadamente 6%). Durante a fermentação, ocorre uma grande diminuição do teor de sacarose, devido provavelmente à ação de invertases. Entretanto, a quantidade de frutose e glucose nas sementes fermentadas não é maior que 50% da quantidade inicial de sacarose. Esta porcentagem mostra que esses açúcares obviamente participam de outras reações (MACRAE *et al.* 1993; LOPEZ & DIMICK, 1991; BAIGRIE, 1994).

LAJUS (1982) relata em seu trabalho que a nível macroscópico, a morte das sementes é reconhecida por dois critérios: a perda da capacidade de germinação, e a difusão dos pigmentos para fora das células de depósito, colorindo o líquido intersticial. Além disso, ocorre um entumescimento das sementes, provavelmente devido a diferença na pressão interna existente dentro e fora da casca.

De acordo com FORSYTH (1952) *apud* LOPEZ (1974), as antocianinas são degradadas no início do processo fermentativo. As glicosidases do cacau são ativadas e o substrato é liberado para os sítios ativos, assim que a semente morre.

As cianidinas glicosídicas são hidrolisadas pelas glicosidases. Leucoantocianidinas são transformadas não enzimaticamente para uma forma mais complexa. Embora nenhuma reação entre catequinas tenha sido estabelecida, a perda de mais de 50%, sugere reações não enzimáticas oligoméricas. Os compostos adstringentes são liberados a partir de células que armazenam polifenóis (LOPEZ & DIMICK, 1991; BAIGRIE, 1994).

Nas amêndoas bem fermentadas, a globulina é a única proteína atacada pelas proteases quando em pH moderado ($\text{pH} > 5,0$). No entanto, após forte acidificação das sementes todas as proteínas são degradadas. Os peptídeos e aminoácidos liberados não parecem ser metabolizados, a menos que as sementes absorvam oxigênio, entretanto seus teores são alterados durante a secagem (MACRAE *et al.* 1993).

BIEHL & VOIGT (1996), relataram que duas das muitas proteínas das sementes são proteínas acumuladas e armazenadas em células do cotilédone, durante seu desenvolvimento e que são metabolizadas durante a germinação; a) 7S-globulina (vicilina) (43% do total de proteína, extraído de sementes não fermentadas); b) albumina (inibidor de tripsina) (52%). Sementes de cacau não contém 11S-globulina. Os precursores de aroma são gerados a partir da 7S-globulina e não da albumina.

BIEHL *et al.* (1996) relataram que ocorre uma enorme atividade da endoprotease aspártica (pH ótimo: 3,4), em sementes de cacau por germinar, aparecendo ao mesmo tempo em que o acúmulo de proteínas de reserva durante o desenvolvimento da semente atinge seu máximo, e que controla o tipo de oligopeptídeos formados durante a fermentação. A atividade da endoprotease aspártica nas sementes de cacau permanece constante durante os primeiros dias de germinação. Não há redução em sua atividade antes da degradação de 7S-globulina de reserva, após um intervalo de retardamento de 7 a 10 dias. A semente de cacau por germinar contém considerável atividade de carboxipeptidase (exoprotease de serina, pH ótimo: 5,8). Esta atividade aumenta durante a germinação e é responsável pela liberação de aminoácidos livres, originados de oligopeptídeos durante a germinação e fermentação.

DIMICK & HOSKIN (1981), descreveram como a ação das proteases pode ser combinada com a ação das oxidases durante a fermentação afim de produzir

compostos adicionais capazes de catalizar a deaminação oxidativa dos aminoácidos sem a intervenção da polifenoloxidase.

Uma reação importante que ocorre na ausência de oxigênio é a hidrólise das proteínas em peptídeos e aminoácidos. A proteólise na semente é iniciada após a absorção de ácido acético, completando-se dentro de poucas horas. Uma vez que os oligopeptídeos e os aminoácidos são precursores do flavour do cacau, o acúmulo predominante de leucina, alanina, fenilalanina e tirosina entre os aminoácidos liberados durante a fermentação de cacau e a significativa degradação dos aminoácidos, são considerados importantes na formação do flavour do chocolate KIRCHHOFF *et al.* (1989). Essa peculiaridade foi encontrada na fermentação normal por SEIKI (1973) que estudando a formação de aminoácidos livres em fermentações de cacau em montes e em bandejas, encontrou uma maior quantidade desses aminoácidos durante o segundo dia de processo.

ROHAN & STEWART (1967) *apud* MARTIN JR. (1980), em seu trabalho, relataram que a produção de aminoácidos livres durante a fermentação foi rápida, alcançando a concentração máxima de aminoácidos na semente em aproximadamente 4 dias.

MARAVALHAS (1972), confirmou em seu trabalho o aumento do conteúdo de aminoácidos livres na semente de cacau durante o processo fermentativo, seus dados mostraram que houve um suave aumento nos teores de arginina, leucina, lisina, fenilalanina, treonina, e valina durante a fermentação.

DIMICK & HOSKIN (1981), relataram que a proteólise e hidrólise da sacarose são rápidas após a morte da semente, além do que a concentração de aminoácidos livres e açúcares redutores alcançaram um valor máximo aproximadamente ao mesmo tempo durante a fermentação. Esses precursores do flavour são extremamente importantes na última etapa do processamento. É também reconhecido que alguns dos aminoácidos presentes provenientes da proteólise reagem, formando complexo com polifenóis oxidados (quinonas). Caso não ocorra essa complexação, o amargor atribuído a alguns aminoácidos, peptídeos e compostos polifenólicos, poderão afetar adversamente o flavour do chocolate.

Durante a fermentação do cacau, a ação de proteinase e polifenoloxidase é importante na formação de precursores do flavour de chocolate. Os produtos primários da oxidação enzimática de polifenóis, têm a capacidade de reagir com proteínas,

peptídeos e aminoácidos, que sofrem a reação de Maillard, produzindo substâncias que conferem sabor e odor (LAJUS, 1982).

De acordo com FINCKE (1965) *apud* LAJUS (1982), as reações podem ser resumidas da seguinte maneira: inicialmente, as catequinas monômeras condensam-se através da formação prévia de quinonas; formam-se taninos de grau médio de polimerização, solúveis em água, fracamente coloridos, que pouco contribuem para a cor do cacau; finalmente durante a fase de secagem do cacau, por reações de oxidação e condensação formam-se os flabofenos, taninos condensados, insolúveis em água, de cor marron a marrom-violeta, responsáveis pela cor do cacau fermentado e seco

O cacau destaca-se por conter uma quantidade apreciável de metilxantinas na sementes, o que é geneticamente variável, mas característico do cacau. Teobromina (1,0 – 2,0% em base seca) e cafeína (0,2% em base seca), juntamente com traços de teofilina e 7-metilxantina são encontrados. Esses compostos não são metabolizados durante a fermentação. A teobromina exerce um papel no sabor amargo do cacau (MACRAE *et al.*, 1993).

Durante a fermentação, as metilxantinas difundem dos cotilédones para a casca da semente, e conseqüentemente, há redução pronunciada do sabor amargo (LOPEZ & DIMICK, 1991). Segundo TIMBIE *et al.* (1978) *apud* LAJUS (1982), houve uma perda de 27% na concentração de teobromina dos cotilédones durante a fermentação em caixas.

3.14.4. Secagem

Após o processo fermentativo, as sementes completamente livres da polpa são secas, até um conteúdo de umidade de 6-7%. A secagem estabiliza a atividade microbiológica nas sementes e previne o crescimento de mofo. Além disso, é muito importante para se completarem as reações enzimáticas e químicas, que ocorrem dentro da semente durante a fase de fermentação das amêndoas. LAJUS (1982), descreve as reações de oxidação e de polimerização das catequinas e, das leucocianidinas livres ou combinadas com peptídeos. As antocianinas são destruídas por hidrólise ou por oxidação, ou mesmo ambas, dependendo da velocidade de penetração de oxigênio nas amêndoas. Ocorre o desenvolvimento da cor marrom

típica do cacau. Assim, na prática, o cacau fermentado é seco naturalmente no sol ou seco artificialmente (ar quente), apesar de que a secagem artificial pode causar problemas de sabores estranhos, produzidos por metodologias inadequadas ou aplicadas de maneira incorreta.

O primeiro passo da secagem deve ser efetivo afim de evitar a continuação do processo fermentativo ou o crescimento de fungos no cacau úmido, caso o pH interno esteja elevado. Nesse estágio, não existe perigo em se usar ar quente (ex: 100° C), embora a temperatura da amêndoa não deva exceder 40-60° C. Em camadas finas de amêndoas, a evaporação da água as manterá resfriadas. Entretanto, quando são utilizados camadas profundas (≥ 10 cm), o fluxo de ar poderá aquecer a amêndoa excessivamente. Após a secagem da camada externa das amêndoas, inicia-se o segundo estágio do procedimento, onde o material é seco, mais lentamente, de modo a facilitar o escurecimento enzimático dos cotilédones e permitir um teor estável de umidade nas amêndoas. No terceiro estágio o cacau deve ser completamente seco ($< 7,5\%$ de água peso/peso) (MACRAE *et al.*, 1993)

No Brasil, utiliza-se a secagem ao sol em barcaças, construções típicas constituídas por um lastro de madeira erguido sobre pilares de alvenaria, com uma cobertura que desliza sobre trilhos. Esta cobertura pode ser afastada para a exposição das amêndoas ao sol, ou fechada, para protegê-las contra a chuva e ou sereno; bem como contra o calor excessivo ao meio-dia (LAJUS, 1982).

Para a secagem natural, feita em barcaças, as amêndoas são espalhadas uniformemente por todo o lastro em camada de 5 cm de espessura. O revolvimento é feito constantemente nas amêndoas com um rodo de madeira dentado até que elas comecem a correr bem, ocasião em que um rodo liso passará a ser utilizado para revolvimentos com menor constância visando a obtenção de uma secagem homogênea. O período de secagem em barcaças varia de 5 a 15 dias, em média 10 dias, dependendo das condições climáticas (CEPLAC, 1980).

A secagem artificial, deve ser precedida sempre que possível por um a três dias de secagem em barcaça, para que se finalize o processo de fermentação conferindo assim uma melhor coloração interna às amêndoas e reduzindo a porcentagem de amêndoas ardósias. Em secadores artificiais, a altura da massa de cacau deve ficar em torno de 10cm. Deve-se evitar calor acima de 80° C, para que não haja torração parcial das amêndoas, tornando-as quebradiças (CEPLAC, 1980).

De acordo com BCCCA (1996), a utilização da secagem artificial deve ser utilizada desde que a temperatura do ar não exceda 40° C, permitindo uma secagem uniforme e a liberação dos compostos seja gradual.

A secagem artificial é uma alternativa em épocas de chuva ou quando o espaço disponível em barcaças não é suficiente para atender o volume da produção. No Brasil, em lugares onde a colheita coincide com a época chuvosa, a secagem artificial é extremamente importante (LAJUS, 1982 *apud* ARAGÃO, 1992).

Se as amêndoas mofarem, devido às más condições climáticas, sugere-se que as sementes devem ser juntas em um ou vários montes, borrifadas com um pouco de água e submetidas ao pisoteio. A água suaviza o atrito entre as amêndoas e entre estas e os pés dos operários, melhorando o aspecto externo da amêndoa (CEPLAC, 1980).

Terminada a operação de secagem, o cacau em amêndoas apresenta as características físicas, químicas e organolépticas decisivas para sua classificação e, por conseguinte, sua comercialização

3.14.5. Armazenamento

As amêndoas a serem ensacadas e armazenadas, devem apresentar um teor de umidade entre 7 e 8%, e estar isentas de impurezas. Na prática, o teor de umidade do cacau é o parâmetro mais importante para o controle de armazenamento (LAJUS, 1982; ROHAN, 1964).

Deve-se evitar o aparecimento de fungos no interior das amêndoas durante a armazenagem, pois estes podem produzir lipases, as quais agem sobre a fração lipídica. Na prática, a deterioração microbiológica influencia na qualidade do cacau, pois o sabor desagradável, do tipo rançoso ou mofado, não é eliminado pelo tratamento posterior, sendo perceptível na manteiga de cacau ou no próprio chocolate (LAJUS, 1982).

A estocagem em sacos com peso médio de 60 Kg é o método mais usual. Porém, é comum armazenar o produto a granel, ensacando-o por ocasião da comercialização. Em entrepostos ou fábricas de médio e grande porte, o cacau é

armazenado em silos (CORAL & BOVI, 1974; ALMEIDA *et al.*, 1977; LAJUS, 1982 *apud* ARAGÃO, 1992).

Ao se realizar o armazenamento de amêndoas em silos, deve-se observar as condições de temperatura e umidade relativa do ar além de dotar o silo de um sistema de ventilação forçada, com passagem de ar em sentido diagonal ou restrita a camadas do silo. Ventilação vertical de baixo para cima provou não ter o efeito desejado de sempre manter uniforme a umidade relativa do ar no interior do silo (LAJUS, 1982).

IV. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Material

4.1.1. Matéria-prima

Os frutos (safra de 1997), coletados na região de Tomé-Açu (PA) e imediatamente transportados por associados da Cooperativa Agrícola Mista de Tomé-Açu (CAMTA), foram processados em despoldadeiras de frutas, sem a adição de água. As amostras de polpa foram congeladas e armazenadas, e as sementes recém despoldadas e com aproximadamente 3% de resíduo de polpa, foram transportadas até o galpão da CAMTA, onde foram pré-processadas.

4.1.2. Amostragem

Inicialmente, realizou-se um teste de fermentação para avaliações preliminares da capacidade e eficiência do processo. Utilizou-se o procedimento usado para o cacau, o qual, dispensa a adição de açúcar e correção do pH, condições estas indicadas na bibliografia para fermentação de cupuaçu (NAZARÉ, 1990).

Amostras das polpas e sementes recém despoldadas foram imediatamente acondicionadas em sacos plásticos, selados com auxílio de uma seladora de embalagens plásticas. Os sacos foram mantidos congelados a uma temperatura de -20° C. O mesmo procedimento foi adotado para as amostras retiradas em períodos de 24 h durante o processo fermentativo e uma amostra no final da secagem.

4.1.3. Equipamentos e aparelhos

Os experimentos foram desenvolvidos no Laboratório de Frutas, Hortaliças e Produtos Açucarados; Departamento de Ciência da Nutrição da Faculdade de Engenharia de Alimentos da UNICAMP; Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrônômicas (CPQBA) e na Cooperativa Agrícola Mista de Tomé-Açu.

Torrador rotativo elétrico de laboratório, PROBAT-WERKE.

Moinho IKA-UNIVERSAL MÜLHE M20. Janke&Kunkel GmbH. CoKg.

pH-metro Micronal, modelo B – 374.

Mufla Engro, modelo 355 – L.

Estufa Fanem, modelo 204 – N.

Balança semi-analítica Mettler – Toledo modelo AB 204.

Espectrofotômetro mod. DU-70, Beckman.

Filtros Millex[®].(Millipore HATF 02500)

Balança Analítica - SAUTEP - mod. 414;

Balança Semi-analítica - METTLER - mod. P1210;

Polytron (modelo PT 2000);

Câmara de estocagem de 4° C e -20° C;

Triturador Waring (laboratory blender);

Moinho de cilindros – marca SUPREMA (Equipamentos para Indústria de Panificação), com motor de 3hp;

Destilador de nitrogênio - TECNAL - mod. TE-036

Bloco digestor de proteínas - TECHNICON - mod. BD-40;

Estufa com circulação forçada de ar - FANEN - mod. 320/sc 300;

Medidor de umidade de cacau, modelo HYGRON fabricado por Indústria e Comércio eletroeletrônica GEHAKA Ltda

Estufa à vácuo - FANEN - mod. 414;

Extrator e digestor de fibras - FANEN;

Extrator de gordura - Tipo SOXHLET FANEM, modelo 170-1;

Mufla - FORLABO - mod. 2133;

Potenciômetro - METROHN HERISAU - mod. 516;

Refratômetro - ABBE - marca PZ0 - mod. RL 1;

papel Whatman nº 4;

Espectrofotômetro UV/V BECKMAN, modelo DU-70

Forno elétrico, com termostato, Micro-Vulcão;

Circulador de água com refrigeração, POLYSCENE, model 9000;

Moinho piloto de rolos BRABENDER-SENIOR, mod. Quadromatic;

Cromatografo líquido de alta eficiência (CLAE) Waters modelo Prep LC 4000 system, acoplado a um módulo controlador de temperatura Waters, operando com detector de índice de refração Waters modelo R 401;

Integrador VDC 3390 A (Hewlett Packard);

Coluna catiônica Aminex HPX-87 H (300 x 7,8mm 9µ.) Bio-rad, acoplada a uma pré-coluna (30 x 4,6mm);

Outros aparelhos e materiais comuns de laboratório e planta piloto.

4.1.4. Reagentes

Os reagentes utilizados nas análises químicas foram aqueles próprios para análise (p.a.) e de diferentes procedências: Merck, Cinética Química Ltda. Grupo Química, Sigma e outros.

4.2. Métodos

4.2.1. Fermentação

As sementes recém despulpadas foram imediatamente colocadas em caixa de fermentação T-60, construídas de acordo com GRIMALDI (1978), (Figura 06) em madeira com dimensões de 190 X 120 X 60 cm de altura. O fundo de cada caixa possui espaços entre as tábuas de 0,2 cm de largura, para escoamento de líquidos durante o processo fermentativo. A caixa com capacidade de 153kg de sementes despulpadas, foi colocada ao abrigo do sol e chuva em um galpão.

O processo de fermentação seguiu o esquema apresentado na Figura 07. Inicialmente as sementes, juntamente com alguns fragmentos de folha de bananeira (*Musa spp*), foram colocadas no compartimento 1 da Figura 07, o qual foi coberto com folhas de bananeira e saco de aniagem para auxiliar a retenção do calor gerado durante a fermentação (quadros 1,2,3 da Fig. 07). Após 48h, com o auxílio de uma pá de madeira o material foi revolvido e transferido para o compartimento 2 (quadro 4 da Fig. 07), onde permaneceu por mais 48h até ser novamente revolvido e transferido para o compartimento 3 (quadro 7 da Fig. 07). O material foi mantido neste compartimento por mais 72h. Vinte e quatro horas antes do esvaziamento da caixa, as amêndoas foram submetidas ao último revolvimento (quadros 7, 8 e 9 da Fig.07).

As amostras retiradas imediatamente após a despolpa e em períodos de 24h de intervalo no processo, foram acondicionadas em sacos plásticos, seladas, congeladas e mantidas a -20°C . No término do experimento, as amostras congeladas foram

acondicionadas em caixa de isopor de 60L e transportadas por via aérea para Campinas, sendo então mantidas a -20°C na câmara frigorífica da Faculdade de Engenharia de Alimentos (FEA) da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), até o momento das análises.

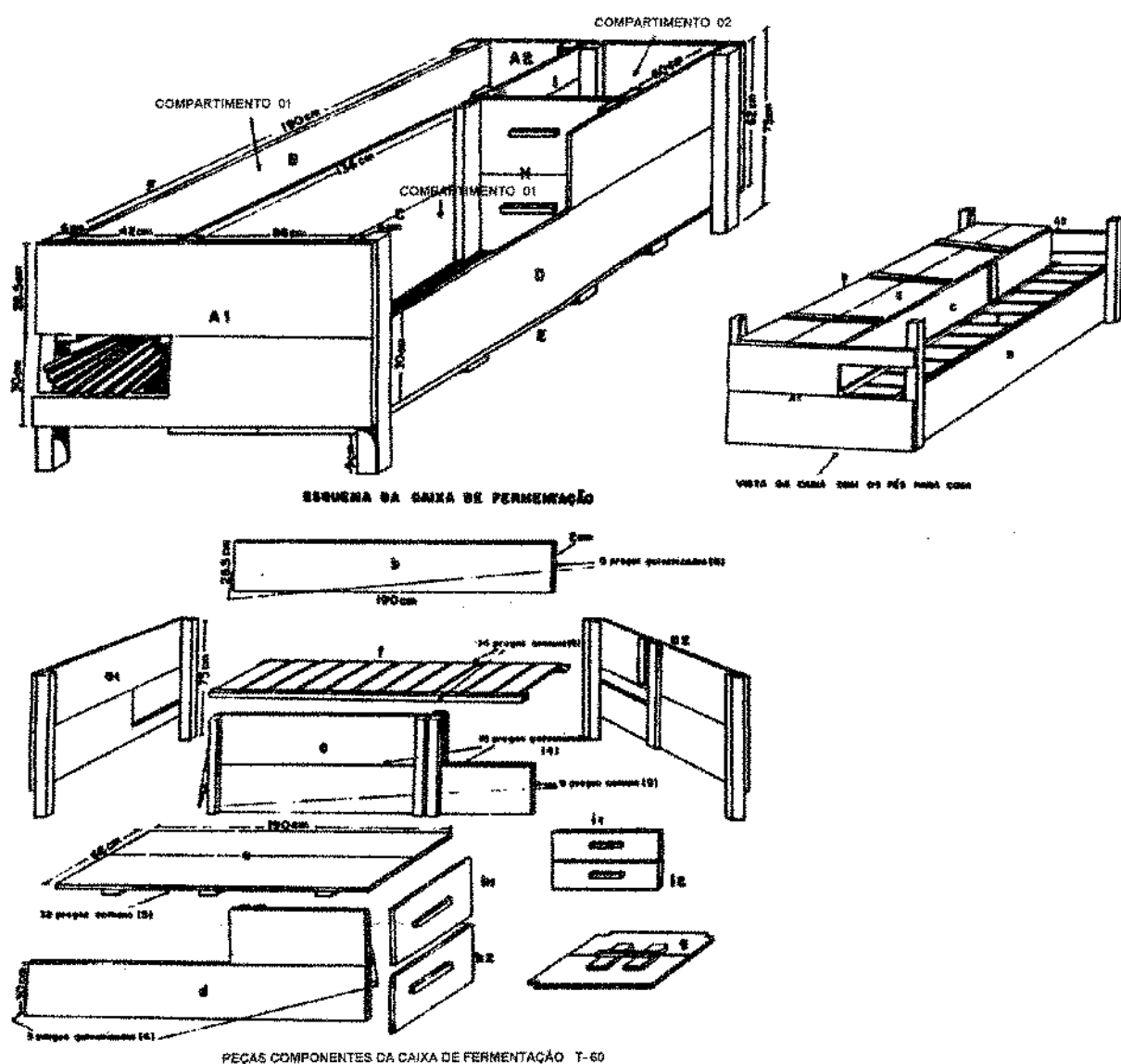


Figura 06 - Caixa de fermentação T-60, construída de acordo com GRIMALDI (1978)

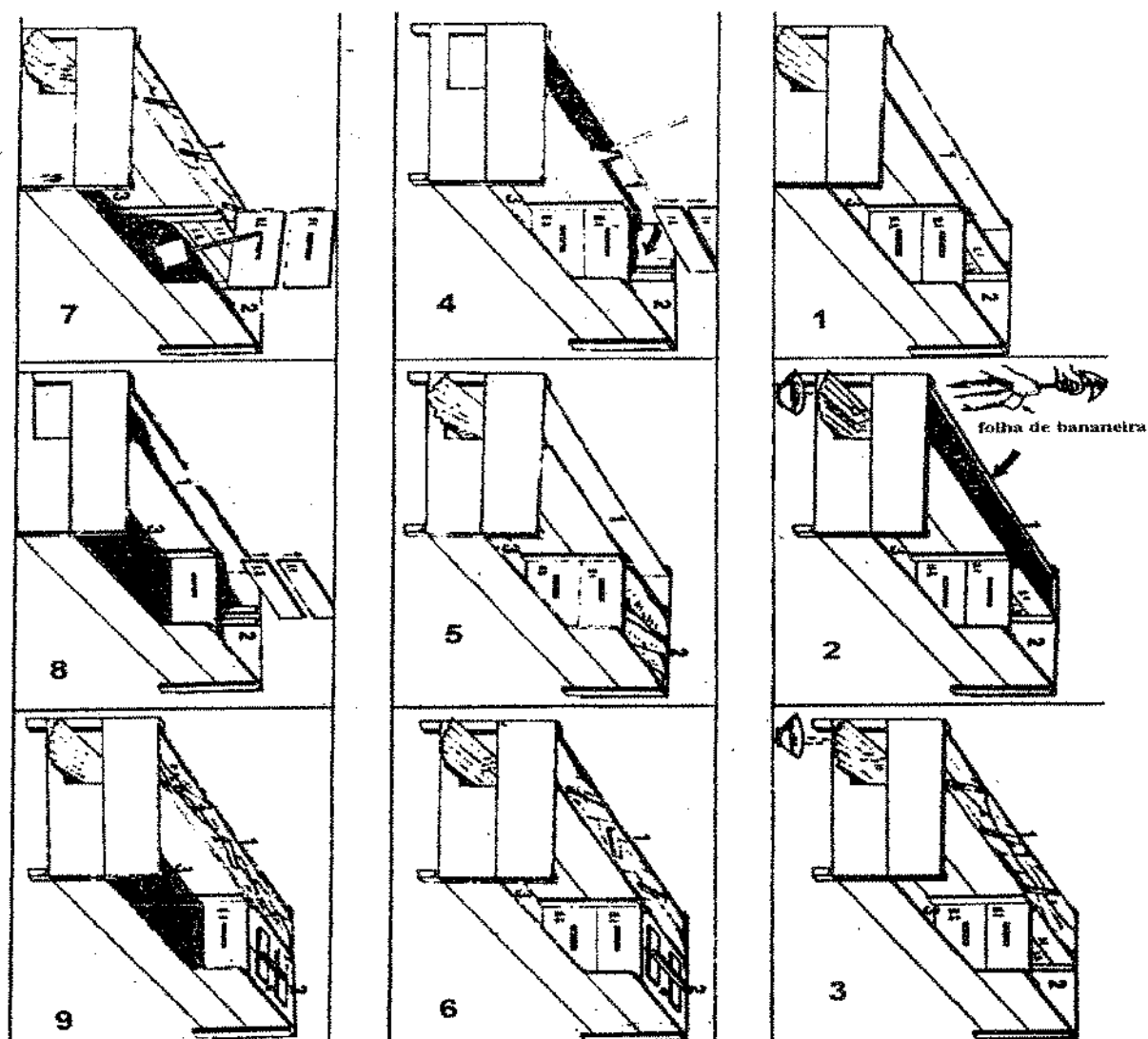


Figura 07 - Esquema de fermentação do cupuaçu em caixa T-60

4.2.2. Secagem

Após o término do processo fermentativo as amêndoas foram colocadas em barcaças utilizadas em cacau com teto móvel e secas naturalmente ao sol, sendo que a etapa de secagem demorou 8 dias. A umidade foi controlada com auxílio de um medidor de umidade de cacau, modelo HYGRON fabricado por Indústria e Comércio eletroeletrônica GEHAKA Ltda. Ao atingirem a umidade de 5%, registrada no aparelho, as amêndoas foram acondicionadas em sacos plásticos, lacrados e colocados em caixa de papelão. Assim acondicionadas as amostras secas foram transportadas para a FEA – UNICAMP onde foram mantidas a -20°C , em câmara fria até o momento das análises.

4.2.3. Determinação da temperatura da massa de sementes de cupuaçu durante a fermentação

As medidas de temperatura foram realizadas no início e a cada 24 h do processo fermentativo, os dados foram coletados em três diferentes níveis: superfície, meio e fundo da caixa. Utilizou-se um termômetro de mercúrio. A temperatura considerada foi a média de três leituras.

4.2.4. Determinação de pH nas sementes de cupuaçu durante o processo fermentativo

O pH da amostra foi medido no filtrado de uma diluição de 10g de cotilédone e testa moídos, em 90 mL de água fervente, à temperatura de $20 - 25^{\circ}\text{C}$, de acordo com o método 970.21 da AOAC (1997).

4.2.5. Determinação de acidez total titulável nas amêndoas de cupuaçu durante o processo fermentativo

A acidez total titulável nos cotilédones de cupuaçu foi medida de acordo com o método descrito por NAZARÉ *et al.* (1990).

4.2.6. Determinações físicas e químicas da polpa de cupuaçu

As determinações físicas e químicas da polpa de cupuaçu foram realizadas utilizando-se os métodos analíticos descritos a seguir:

4.2.6.1 Determinação de Sólidos solúveis (° BRIX)

O Brix da polpa mucilaginosa foi determinado, utilizando-se refratômetro - ABBE - modelo RL 1 da marca PZO.

4.2.6.2. Sólidos totais

O teor de sólidos totais da polpa foi obtido por diferença de peso após secagem em estufa a 70° C, até peso constante, segundo método 13.6.4 do Instituto Adolfo Lutz (1985).

4.2.6.3. Umidade

O teor de umidade foi obtido subtraindo-se do peso inicial da amostra o teor de sólidos.

4.2.6.4. pH

O pH da amostra foi medido de acordo com método 4.7.2. do Instituto Adolfo Lutz (1985).

4.2.6.5. Ácidos solúveis em água (acético, cítrico e láctico), açúcares (frutose, glucose e sacarose) e etanol

Os ácidos solúveis em água (acético, cítrico e láctico), açúcares (frutose, glucose e sacarose) e etanol foram determinados por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) de acordo com metodologia descrita por TOMLINS *et al.* (1990) com algumas modificações realizadas por VASCONCELOS *et al.* (1998), especificadas no item 4.2.8.2.

4.2.6.6. Acidez total titulável

A acidez total titulável na polpa de cupuaçu foi determinada de acordo com o método 13.6.2 do Instituto Adolfo Lutz (1985).

4.2.6.7. Teor de Proteínas

O teor de proteínas foi determinado pelo método micro Kjeldahl, baseado em hidrólise e posterior destilação da amostra, de acordo com método 13.011 da AOAC (1984).

4.2.6.8. Teor de Gordura

Teor de gordura foi calculado por extração em Soxhlet durante 8 horas e posterior evaporação do solvente, de acordo com método 31.4.02 da AOAC (1997).

4.2.6.9. Teor de Cinzas

O teor de cinzas foi calculado de acordo com metodologia 31.1.04 da AOAC (1997).

4.2.6.10. Teor de Fibras

O conteúdo de fibras na polpa de cupuaçu foi determinado pelo método ácido – detergente, segundo GOERING & VAN SOEST (1970).

4.2.7. Determinações físicas e químicas das sementes e amêndoas de cupuaçu

4.2.7.1. Umidade

O teor de umidade das sementes e amêndoas foi determinado de acordo com metodologia de número 31.1.02 da AOAC (1997).

4.2.7.2. Teor de Proteínas

O teor de proteínas foi determinado pelo método micro Kjeldahl, baseado em hidrólise e posterior destilação da amostra, de acordo com método 13.011 da AOAC (1984).

4.2.7.3. Teor de Gordura

Teor de gordura foi calculado por extração em Soxhlet durante 16 horas e posterior evaporação do solvente, de acordo com método 31.4.02 da AOAC (1997).

4.2.7.4. Teor de Cinzas

O teor de cinzas foi calculado de acordo com metodologia 31.1.04 da AOAC (1997).

4.2.7.5. Teor de Fibras

O conteúdo de fibras foi determinado pelo método ácido – detergente, segundo GOERING & VAN SOEST (1970), nas amostras de sementes recém despulpadas (c1) e sementes fermentadas e secas (c9).

4.2.7.6. Teobromina e cafeína

Os teores de teobromina e cafeína na amostra c9, foram determinados de acordo com metodologia descrita na AOAC (1984).

4.2.7.7. Ácidos solúveis em água (acético, cítrico e láctico), açúcares (frutose, glucose e sacarose) e etanol durante o processo fermentativo do cupuaçu

Os ácidos solúveis em água (acético, cítrico e láctico), açúcares (frutose, glucose e sacarose) e etanol foram determinados de acordo com a metodologia de TOMLINS *et al.* (1990) com algumas modificações realizadas por VASCONCELOS *et al.* (1998), descrita a seguir.

4.2.7.7.1 Reagentes e padrões

Os padrões de ácido acético, ácido cítrico e etanol foram obtidos da Merck e os de ácido láctico, sacarose, glucose e frutose, da Ecibra. Todos os padrões foram de grau analítico e utilizados na faixa de concentração de 0.01 a 0.2% (p/v) dissolvidos em água nanopure[®].

O eluente foi preparado com ácido sulfúrico P.A. Merck em água nanopure[®] na concentração de 0.013N, sendo filtrado em membrana 0.45 μ de porosidade da marca Millipore.

4.2.7.7.2 Preparo da amostra

As amostras coletadas em Tomé-Açu (PA), foram mantidas congeladas até o momento da extração.

Após a retirada manual do tegumento (testa), aproximadamente 500g de amostra foram moídas em triturador Waring (laboratory blender), com adição de gelo seco para preservar os seus componentes, e mantidas congeladas até extração.

4.2.7.7.3. Extração

A extração foi realizada em triplicata partindo-se de 10g de cada amostra triturada, diluída em 100mL de água nanopure[®].

As amostras foram extraídas em Polytron (modelo PT 2000), durante 3 min. e filtradas sob vácuo em papel Whatman nº 4.

Antes da análise, o extrato de *Theobroma grandiflorum* foi filtrado em Millex[®] (Millipore HATF 02500).

4.2.7.7.4. Análise cromatográfica (CLAE)

As análises foram determinadas usando um cromatografo líquido de alta eficiência (CLAE) Waters modelo Prep LC 4000 system, acoplado a um módulo

controlador de temperatura Waters, operando com detector de índice de refração Waters modelo R 401, o sinal foi determinado através de um integrador VDC 3390 A (Hewlett Packard). Utilizou-se uma coluna catiônica Aminex HPX-87 H (300 x 7,8mm 9 μ .) Bio-rad, acoplada a uma pré-coluna (30 x 4,6mm).

Uma solução de 0.013N de ácido sulfúrico foi utilizada como eluente em um fluxo de 0,7 mL/min. a 25^o C. O volume injetado de cada amostra em triplicata foi de 25 μ L. (a pressão máxima do eluente bombeado na coluna não deve exceder 1500 psi).

4.2.7.8. Determinação aminoacídica das proteínas do cupuaçu durante o processo fermentativo

Foram realizadas de acordo com metodologias descritas em BECKMAN, (1977); BLACKBURN, (1968); SPACKMAN, (1958).

As determinações foram feitas usando um CLAE TSP – Thermo Separation Products, com bomba degaseificadora, acoplada a um módulo de pré-reação Pickering Laboratories PCX 3100 post column reaction module, operando com detector de UV, nas faixas de 440 a 570 λ , modelo Spectro system UV2000, operando com programa TSP 1000. Utilizou-se uma coluna analítica Pickering laboratories 1193250 (Na⁺ 8 μ m, 3mm ID X 250mm), acoplada a uma pré-coluna Pickering laboratories 1192020 (Na⁺ 8 μ m, 2mm ID X 20mm).

Soluções de Na (3.15; 7.4; 0.2 N) foram utilizadas como eluente em um fluxo de 0,3 mL/min. a 55^o C, na coluna e 130^o C, no reator.

4.2.7.9. Avaliação sensorial

Para avaliação sensorial foram preparadas duas formulações de "cupulate" meio amargo. Substituindo-se o liquor de cacau por liquor de cupuaçu não fermentado (c1) e fermentado (c9), utilizou-se 55% de liquor e 45% de sacarose, de acordo com uma das formulações comerciais de chocolate amargo descrita por BECKETT (1994).

A produção do liquor de cupuaçu seguiu a seguinte metodologia:

4.2.7.9.1. Secagem das sementes

As sementes e amêndoas descongeladas, fermentadas e secas tiveram separadas a testa, gérmen e cotilédones, manualmente, com auxílio de facas

As sementes e amêndoas assim preparadas, foram secas em bandejas de madeira (0,43 X 0,39 X 0,05) com fundo telado com orifícios de 1,99mm, a uma temperatura de 40° C, até que a umidade estivesse entre 6 e 6,5%, valor obtido através da diferença do peso inicial e o peso final (MINIFIE, 1989).

4.2.7.9.2. Torração

Os cotilédones das amostras c1 e c9, foram secos de acordo com item 4.2.7.8.1. (secagem das sementes). A torração foi efetuada em forno elétrico, em lotes de 250g dos nibs, à temperatura de 150° C na câmara de torração, por um tempo de 40 minutos de acordo com metodologia desenvolvida por QUEIROZ (*no prelo*), em uma tese ainda não publicada nesta mesma faculdade, com o mesmo material.

4.2.7.9.3. Pré-moagem

As amostras de cotilédones c1 e c9 foram pré-moídas em moinho de cilindros – marca SUPREMA (Equipamentos para Indústria de Panificação) , com motor de 3hp.

4.2.7.9.4. Moagem

As amostras de cotilédones c1 e c9, torradas e pré-moídas foram moídas em moinho IKA-UNIVERSAL MÜLHE M20. Janke&Kunkel GmbH. CoKg, durante 3 minutos, até que a amostra estivesse liqüefeita, as amostras assim preparadas foram acondicionadas em embalagens de vidro com capacidade de 500mL e mantidas em refrigerador até utilização.

4.2.7.9.5. Análise sensorial

As amostras (c1 e c9), preparadas conforme descrito no item 4.2.8.7. (avaliação sensorial). Foram avaliadas quanto as suas características sensoriais, através de uma ficha com escala hedônica estruturada de 9 pontos (Figura 08).

Nome: _____ Data: _____

Por favor, avalie cada uma das amostras de cupulate **EM RELAÇÃO AO SABOR** e descreva o quanto você gostou ou desgostou **DO SABOR** usando a escala abaixo.

9. Gostei muitíssimo
8. Gostei muito
7. Gostei regularmente
6. Gostei ligeiramente
5. Nem gostei nem desgostei
4. Desgostei ligeiramente
3. Desgostei regularmente
2. Desgostei muito
1. Desgostei muitíssimo

Número da Amostra

Valor

Agora, comente, por favor, o que você mais gostou e menos gostou em **EM RELAÇÃO AO SABOR** de cada uma das amostras.

Número da Amostra

Mais gostei

Menos gostei

Muito obrigado!!!!

Figura 08 – Ficha utilizada na análise sensorial do cupulate

4.2.7.10. Análises estatísticas

Os dados dos testes sensoriais e da composição química, foram analisados estatisticamente, por Análise de variância (ANOVA), utilizando-se o pacote estatístico SAS (Statistical Analysis System) na versão 6.08.

V. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Monitorização do processo fermentativo

A temperatura, pH e acidez são determinações rápidas e precisas que podem ser realizadas durante a fermentação, assim como podem oferecer uma indicação rápida de um bom processo.

Os resultados obtidos para a variação de temperatura, pH e acidez durante o processo fermentativo do cupuaçu são apresentadas a seguir.

5.1.1. Temperatura da massa durante o processo fermentativo

A Figura 09 apresenta a variação da temperatura, na massa de sementes despulpadas de cupuaçu durante a fermentação.

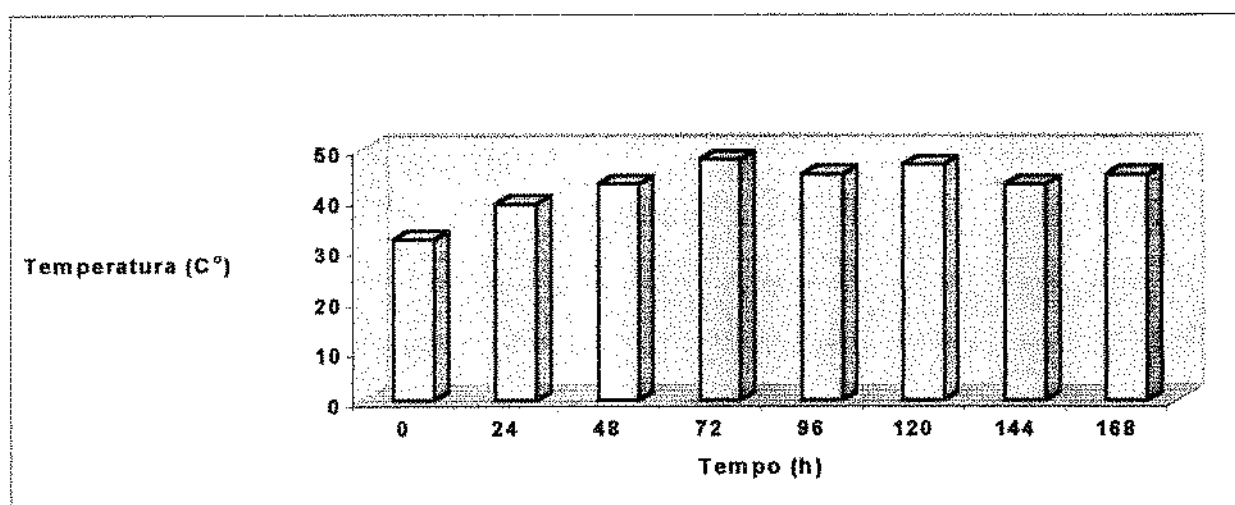


Figura 09 – Variação da temperatura na massa de sementes, de cupuaçu durante a fermentação.

Observou-se que a temperatura inicial da massa (c1), foi de 32° C; com 24 h a massa atingiu 39° C; após 48 h a temperatura atingiu 43° C. Com 72 h e 24 h após o primeiro revolvimento e subsequente transferência para o segundo compartimento da caixa T-60, o processo fermentativo alcançou sua maior temperatura que foi de 48° C.

As temperaturas sofreram, então uma suave redução e mantiveram-se constantes e estabilizadas entre 43 e 45° C até o fim do processo.

O comportamento da temperatura durante o processo fermentativo de cupuaçu foi semelhante ao obtido por NAZARÉ *et al.* (1990), diferenciando-se suavemente apenas nas últimas 48 h de processo, observando-se que neste caso não houve adição de xarope de açúcar e nem foi necessário uma correção de pH.

As temperaturas alcançadas no processo diferem daquelas observadas por ARAGÃO (1992), este autor também trabalhou com cupuaçu, e relatou em seu trabalho temperaturas um pouco inferiores, obtendo uma temperatura máxima de 40° C em 48h.

A liberação de calor é relativamente baixa durante a fase de multiplicação de leveduras, porém aumenta a medida que as bactérias produtoras de ácido acético se multiplicam.

Os resultados alcançados neste experimento mostram que houve boas condições para a fermentação, em concordância com os apresentados por CUBA (1994), que relatou que em boas fermentações comerciais de cacau, a temperatura da massa de sementes deve atingir 45 a 48° C, em aproximadamente 72 h após iniciado o processo fermentativo em cacau.

A variação da temperatura que se obteve durante a fermentação do cupuaçu; 43° C após 48 h, 48° C após 72 h e manutenção entre 43 e 45° C até o final do processo, indicam que é provável que assim como ocorre no cacau, houve morte da semente de cupuaçu e desencadeamento de reações decorrentes desta na amêndoa. Verificou-se ainda que comparativamente ao que ocorre para o cacau o aumento da temperatura na massa de cupuaçu nas primeiras horas de fermentação foi mais rápido, atingindo 39° C após 24h.

Para o cacau, segundo LAJUS (1982) a temperatura mantém-se geralmente entre 30 a 32° C nos dois primeiros dias de fermentação, mantendo-se na faixa de 46 a 50° C até o final da fermentação.

O aumento da temperatura (de 45 a 50° C) e a formação de álcool etílico e ácido acético são responsáveis em conjunto pela morte das sementes, ou seja a capacidade de germinação no sentido botânico.

A temperatura na fermentação, é influenciada pela quantidade da massa e pela aeração que é conferida e permitida pelo recipiente utilizado no processo fermentativo, em sementes de cacau (CHATT, 1953).

No entanto LOPEZ e PASSOS (1984) *apud* JINAP (1994), indicaram que uma remoção parcial da polpa antes da fermentação do cacau, proporciona uma aceleração no processo fermentativo, com uma rápida elevação na temperatura e maior produção de ácido acético.

Acredita-se portanto, que o fato de usarmos sementes despulpadas, favoreceu a aeração da massa e portanto acelerou o aumento da temperatura já nas primeiras horas do processo.

De acordo com ROHAN (1964), uma temperatura de 44 a 47° C, alcançada em 48 h, bastaria para promover a decomposição completa das células do cotilédone do cacau, promovendo a dissolução dos componentes celulares, dentro do cotilédone.

As diferenças de tempo para se atingir a temperatura adequada em fermentações de cacau, podem ser atribuídas as condições climáticas, volumes do material fermentado, metodologias adotadas e outros fatores.

Após a morte das sementes, as barreiras bioquímicas que protegem as células são derrubadas, e as reações enzimáticas se iniciam, controladas primeiramente pelas mudanças de temperatura e pH, resultantes da fermentação da polpa.

SCHAW *et al.* (1990), relataram que se pode observar uma rápida elevação da temperatura, condicionada pelos revolvimentos iniciais, favorecendo o desenvolvimento de microrganismos aeróbicos, cujo metabolismo é gerador de reações exotérmicas. A transformação de etanol em ácido acético pelas bactérias acéticas é considerada como o fator principal de elevação da temperatura na massa de cacau em fermentação e considera-se que essa elevação é dependente da aeração das sementes

5.1.2. Variação do pH no cotilédone e testas durante o processo fermentativo

Podemos observar na Figura 10 o comportamento do pH em cotilédones de cupuaçu durante o processo fermentativo.

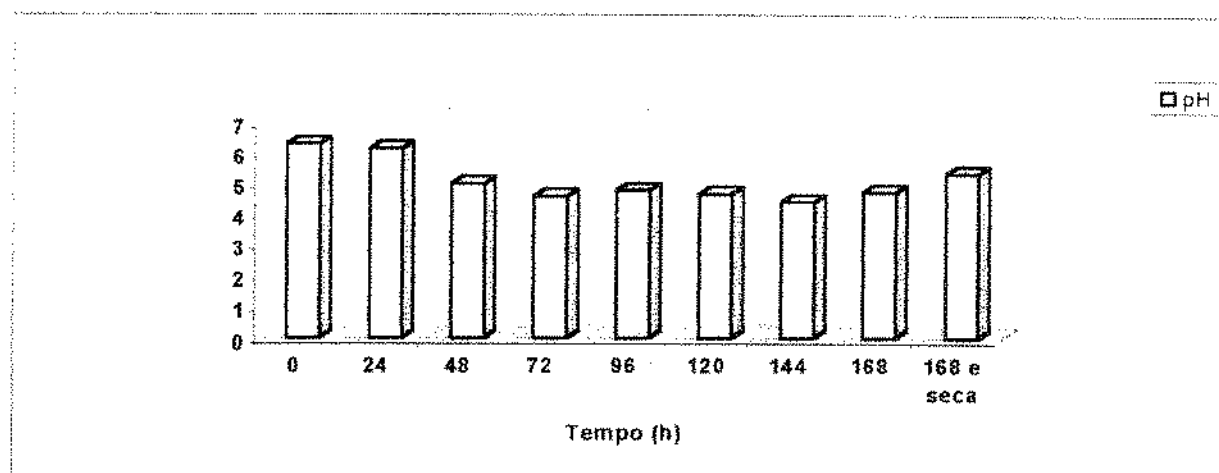


Figura 10 – Variação dos valores de pH durante o processo fermentativo nos cotilédones de cupuaçu.

Os valores obtidos mostram a influência do processo fermentativo na redução do pH. O valor do pH para a amostra recém despulpada ou c1 foi de 6,30 variando para 6,14 após 24 h de processo. Após 48 h, o valor do pH caiu para 4,99. Em 144 h e 168h após o início da fermentação, os valores do pH foram de 4,39 e 4,71, respectivamente. Observou-se que os menores valores para o pH foram alcançados ao final do processo fermentativo. Porém após a secagem o pH subiu para 5,34, provavelmente devido a perdas por evaporação do ácido acético.

Os resultados obtidos mostram que o valor final do pH nos cotilédones situou-se na faixa considerada ideal para o cacau fermentado e seco, que de acordo com ARAGÃO (1992), fica em torno de 5,0.

O cacau que possui um pH de aproximadamente 6,6 na semente e ao longo do processo fermentativo absorve pequenas quantidades de ácidos, principalmente ácido acético, reduzindo assim o seu pH para aproximadamente 5,0 no final do processo (MINIFIE, 1970)

JINAP (1994), descreve que após a fermentação do cacau, um pH final entre 4,5 - 5,5 e 6,5 - 6,8 são comuns para os cotilédones e polpa, respectivamente.

CUBA (1994) relata que amêndoas de cacau com pH entre 5,20 e 5,46, são classificadas na faixa de pH médio, encontrando-se nessa faixa os cotilédones de cupuaçu.

BIEHL *et al.* (1985) *apud* ARAGÃO (1992), relataram em seu trabalho que cotilédone cujo o pH é inferior a 4,5, apresentam um baixo potencial de flavour, enquanto naqueles com pH maior do que 5,0 esse potencial é aumentado.

Podemos observar na Figura 11, o comportamento do pH durante o processo fermentativo nas testas de cupuaçu.

Os resultados mostram um aumento linear nos valores, de 3,63 até atingir 5,07 na amostra com 96 h (c5) do processo fermentativo, a partir daí o valor é reduzido suavemente, estabilizando-se até o final do processo.

O baixo valor inicial do pH da testa é atribuído ao ácido cítrico, principal ácido encontrado na polpa de cupuaçu. A constante elevação do pH na testa durante a fermentação é atribuída a assimilação desse ácido cítrico pelas leveduras e bactérias lácticas e sua substituição por ácido lático e ácido acético (ROELOFSEN, 1958 *apud* ROHAN, 1964).

Os valores de pH obtidos durante a fermentação demonstraram a influência dos vários ácidos produzidos ao longo do processo principalmente o ácido acético assim como sua possível redução após secagem natural, o que pode ser visualizado pelo aumento na amostra seca naturalmente (c9), que atinge 6,27.

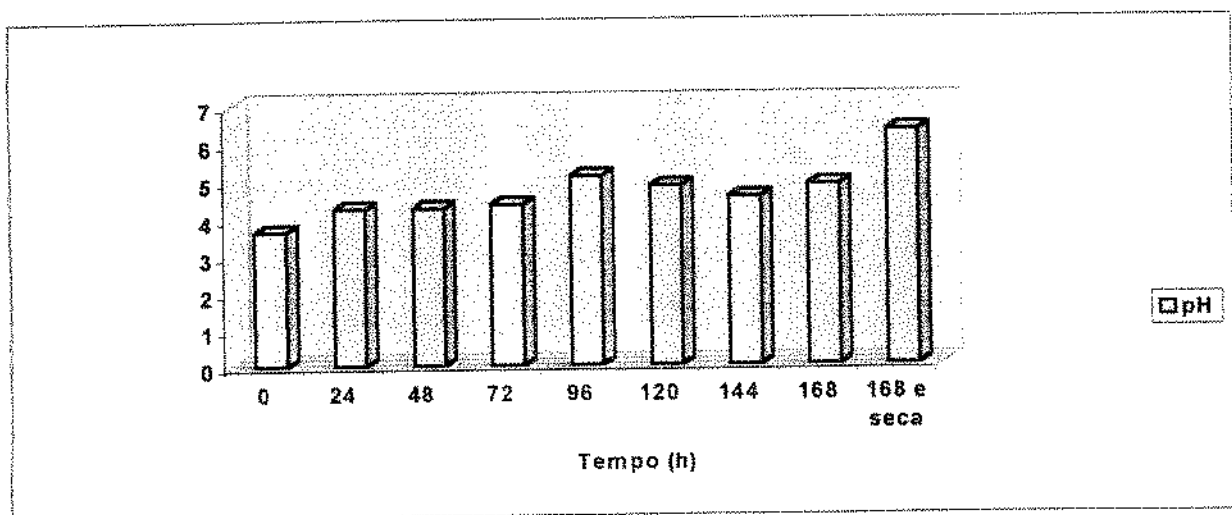


Figura 11 – pH nas testas das amostras ao longo do processo fermentativo.

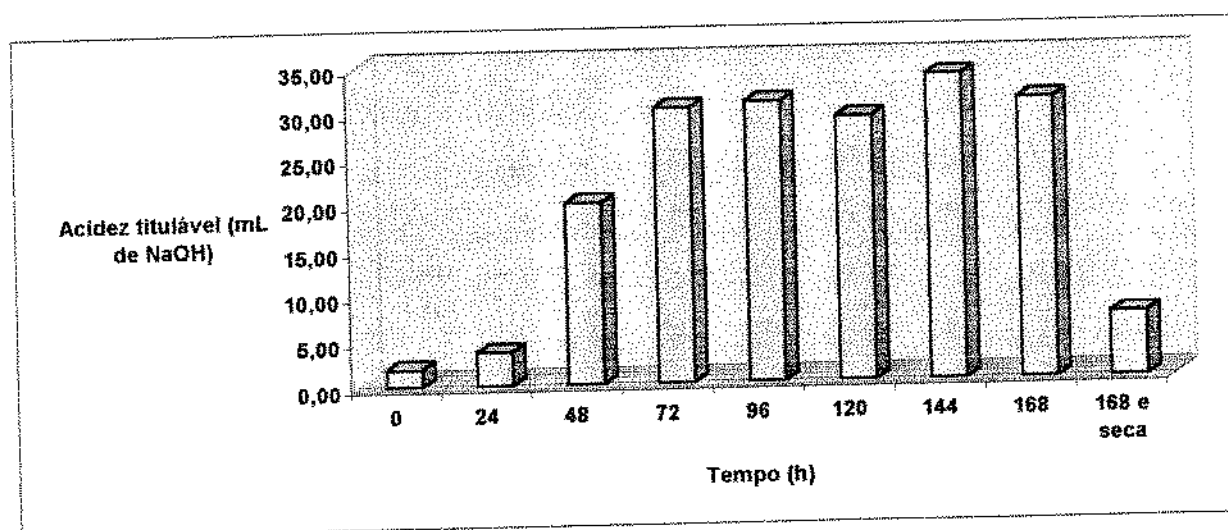
Os valores para o pH determinados nas testas de cupuaçu são comparáveis aos obtidos por vários autores (SEIKI, 1973; ROHAN, 1964; NAZARÉ, 1990; ARAGÃO, 1992).

5.1.3. Variação da acidez total titulável durante o processo fermentativo

Podemos observar na Figura 12, os valores obtidos para a acidez total titulável nos cotilédones de cupuaçu.

Observou-se um leve aumento na acidez dos cotilédones nas primeiras 24 h. O valor máximo foi alcançado após 48 h do início da fermentação, coincidindo a maior produção de ácido acético.

Após atingir o seu maior valor, a acidez caiu, permanecendo quase inalterada até o final do processo. Os resultados obtidos para acidez total titulável foram semelhantes aos encontrados por ARAGÃO (1992), com a ressalva de que em seu trabalho, o valor máximo foi atingido com 24 h após o início da fermentação.



Obs.: em base seca

Figura 12 – Acidez titulável dos cotilédones de sementes de cupuaçu ao longo do processo fermentativo.

Observa-se que os valores de acidez possuem quase que uma relação simétrica com o pH, ou seja, ao se diminuir um, o valor do outro aumenta.

5.2. Caracterização da polpa do cupuaçu

5.2.1. Composição centesimal da polpa do cupuaçu

Após a avaliação do teor de: Sólidos solúveis ($^{\circ}$ Brix), sólidos totais, pH, acidez total titulável, umidade, proteínas, lipídios, cinzas, fibras, foram obtidos os resultados apresentados a seguir.

O valor encontrado para o Brix (14°) foi maior que o da bibliografia consultada, que vai de 10 a 11° Brix (VENTURIERI, 1993).

Os resultados obtidos na análise da composição química da polpa de cupuaçu (Tabela 05) estão em concordância com aqueles apresentados por CAMPOS (1951); PHILOCREON (1962); BARBOSA *et al.* (1978); OLIVEIRA (1981) *apud* VENTURIERI (1993) e CHAAR (1980); MIRANDA (1989). Porém o valor encontrado para proteína (8,08%), encontra-se acima do encontrado na bibliografia consultada.

O valor de pH encontrado foi 3,62, corresponde ao pH relatado na bibliografia, (CAMPOS, 1951; PHILOCREON, 1962; BARBOSA *et al.*, 1978; OLIVEIRA, 1981 *apud* VENTURIERI, 1993 e CHAAR, 1980; MIRANDA 1989).

A acidez total titulável determinada na polpa do cupuaçu foi de 1,73 expressa em mL de NaOH por 100 g de amostra.

Tabela 05 – Composição centesimal da polpa de cupuaçu

Composto	% p/p
Umidade	83,28
Sólidos totais	16,72
Cinzas	0,78 *
Proteína	8,08 *
Lipídios	2,56 *
Fibra	1,06 *
Carboidratos por diferença	4.24*

Obs.: *em base seca

A função da polpa como substrato para as leveduras e bactérias é muito importante na fermentação natural. A atividade microbiana exotérmica proporciona um aumento na temperatura e acidez que são suficientes para causar a morte da semente (ROHAN, 1964).

Essa atividade microbiana é iniciada espontaneamente e começa assim que as sementes são expostas ao ar quando o fruto é aberto. A inoculação accidental é causada pela exposição ao meio ambiente, através das mãos dos trabalhadores, instrumentos de trabalho e outros.

As duas maiores mudanças que ocorrem durante a fermentação da polpa, é primeiramente a conversão de açúcares à álcool. Ao mesmo tempo ocorre o rompimento das células da polpa, provavelmente pela ação de enzimas péclicas, liberando um líquido de cor amarelada e turvo, conhecido no processamento do cacau, como "mel do cacau". Essa exsudação a princípio é composta por açúcares e mais tarde por álcool e ácido acético (CHATT, 1953)

5.2.2. Ácidos solúveis em água (acético, cítrico e láctico), açúcares (sacarose, frutose e glucose) e etanol na polpa de cupuaçu.

Os resultados obtidos pelas análises dos ácidos solúveis em água, açúcares e etanol na polpa de cupuaçu podem ser visualizados na Tabela 06 e na Figura 13. O respectivo cromatograma pode ser visualizado no Anexo 11.

Tabela 06 - Ácidos solúveis em água (acético, cítrico e láctico), açúcares (sacarose, frutose e glucose) e etanol na polpa de cupuaçu .

Compostos	Valores expressos em % p/p
Sacarose	4,87*
Glucose	1,22*
Frutose	1,29*
Ácido cítrico	1,49*
Ácido láctico	< 0,2%*
Ácido acético	< 0,1%*
Etanol	0,28*

Obs.: *em base úmida

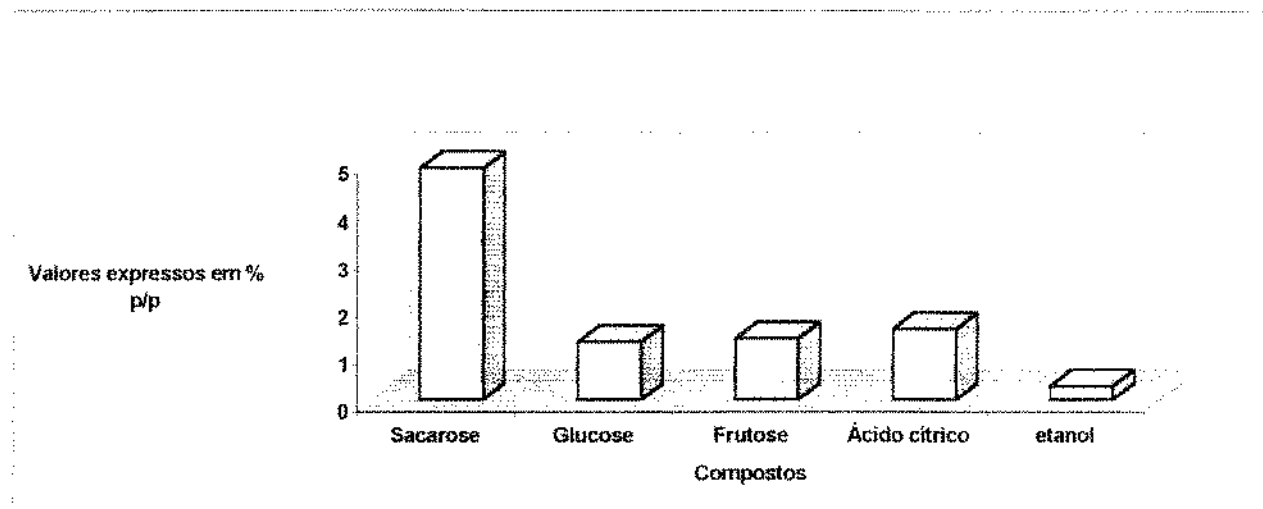


Figura 13 - Ácido solúvel em água (cítrico), açúcares (sacarose, frutose e glucose) e etanol na polpa de cupuaçu (em base úmida).

Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), é utilizada na indústria e ciência de alimentos, agricultura, bioquímica e outras áreas para análise de ácidos orgânicos, açúcares e álcool entre outros compostos químicos. Seu alto índice de repetibilidade, precisão e rapidez, são as principais vantagens para justificar sua utilização.

Os valores determinados para o teor de açúcares e ácido cítrico presentes na polpa de cupuaçu encontram-se dentro da faixa descrita na literatura (CAMPOS, 1951; PHILOCREON, 1962; BARBOSA *et al.*, 1978; OLIVEIRA, 1981 *apud* VENTURIERI, 1993 e CHAAR, 1980; MIRANDA, 1989).

Dentre os ácidos avaliados somente o ácido cítrico foi detectado, os outros ácidos pesquisados encontram-se abaixo do limite de detecção do método utilizado. Dentre os compostos citados como presentes no cupuaçu, o ácido ascórbico é relatado como presente na polpa fresca (BARBOSA *et al.*, 1978; VENTURIERI, 1993)

Açúcares e ácidos são os principais compostos em frutas; possuindo uma menor susceptibilidade a mudanças durante estocagem e processamento, sendo mais estáveis que pigmentos e compostos aromáticos.

É provável que o etanol encontrado na polpa, apesar de sua pouca quantidade (0,28 %p/p), pertença à fração dos componentes voláteis, relatados por vários autores (ALVES & JENNINGS, 1979; FISCHER *et al.* 1995). Como a polpa foi coletada

imediatamente após a despolpa e congelada, é pouco provável que o etanol detectado seja um produto da fermentação dos açúcares, por microrganismos.

ALVES & JENNINGS (1979), descreveram em seu trabalho a presença de vários compostos voláteis em polpa de cupuaçu, muitos dos quais não foram identificados por não haver um espectro similar na literatura, vários aparentemente são de natureza aldeídica. Os compostos identificados através de cromatografia gasosa, são principalmente ésteres, dentre os compostos identificados foi encontrado hexanol.

FISCHER *et al.* (1995), estudando a polpa do cupuaçu identificou vários álcoois entre eles 3-metil butanol, cis-3-hexenol; hexanol e linalol e descreve estes como de grande importância para a fração aromática do cupuaçu .

5.3. Análises das determinações físico-químicas das sementes e amêndoas de cupuaçu

5.3.1. Umidade

Os valores de umidade encontrados para as sementes e amêndoas antes, durante e após o processo fermentativo, encontram-se na Figura 14, e são compatíveis com os obtidos por ARAGÃO (1992).

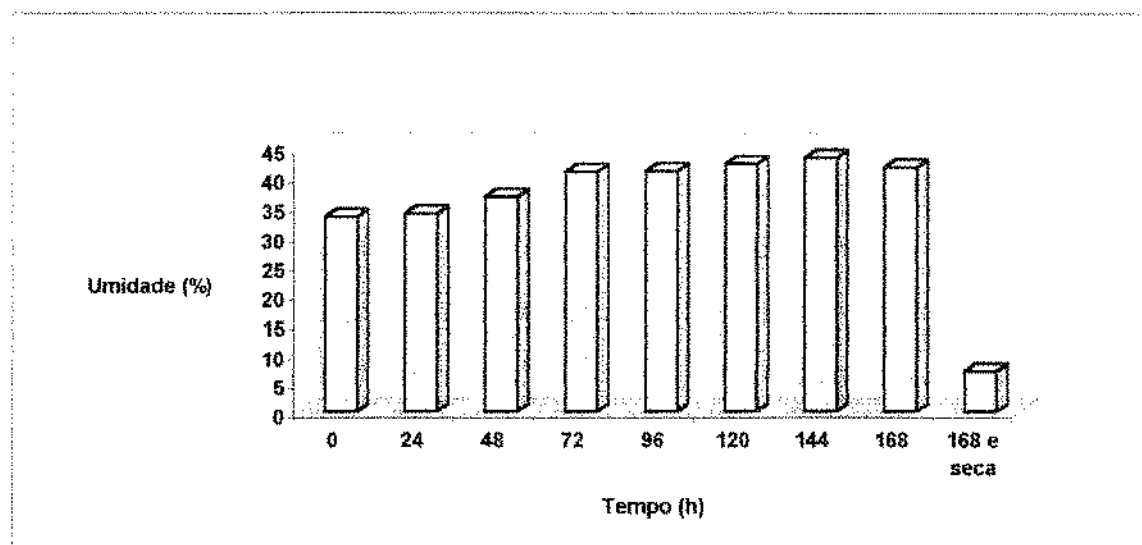


Figura 14 - Teor de umidade das amostras de cupuaçu antes, durante e após o processo fermentativo.

Os cotilédones apresentaram um aumento no teor de umidade de 33,18 % a 40,87% na amostra c4 durante as primeiras 72 h do processo, mantendo porém uma taxa de absorção um pouco menor do que a inicial durante todo o processo sendo que a amostra c7 apresentou uma umidade de 43,28%.

ROHAN (1958), estudando o processo fermentativo em sementes de cacau, relata que o aumento da umidade pode ser atribuído à absorção de umidade da polpa.

A nível macroscópico, ocorre um entumescimento das sementes, provavelmente devido a diferença na pressão existente dentro e fora da casca

De acordo com BIEHL *et al.* (1982) *apud* ARAGÃO (1992), existe um aumento de 3 a 5% no peso do cacau fresco durante a fermentação, atribuindo-se esse ganho à prévia absorção da água pela semente antes da sua morte.

A umidade final atingida após a secagem natural está de acordo com a recomendada por MINIFIE (1989), que descreve que uma umidade entre 6 e 8% evita mofos durante a estocagem e transporte.

5.3.2. Ácidos solúveis em água (acético, cítrico e láctico), açúcares (frutose, glucose e sacarose) e etanol durante o processo fermentativo do cupuaçu)

Os resultados das análises da presença de ácidos solúveis em água, açúcares e etanol nos cotilédones de cupuaçu podem ser visualizados na Tabela 07 e na Figura 15. Os respectivos cromatogramas podem ser visualizados nos Anexos (01 até 10).

Tabela 07 - Ácidos solúveis em água (acético, cítrico e láctico), açúcares (sacarose, frutose e glucose) e etanol nos cotilédones de cupuaçu antes, durante e após o processo fermentativo.

Amostras	sacarose.	glucose.	frutose.	Ácido cítrico	Ácido. acético	Ácido láctico	etanol
C1	1,84	< 0,09	< 0,07	0,43	< 0,1	< 0,2	< 0,1
C2	1,34	< 0,09	0,23	0,3	0,23	0,15	0,56
C3	0,6	0,36	0,71	0,16	1,02	0,28	0,2
C4	< 0,07	0,6	0,98	0,15	1,57	0,33	< 0,1
C5	< 0,07	0,49	0,81	0,15	0,75	0,25	< 0,1
C6	< 0,07	0,47	0,74	0,14	0,85	0,3	< 0,1
C7	< 0,07	0,49	0,85	0,16	1,2	0,51	< 0,1
C8	< 0,07	0,46	0,77	0,15	0,82	0,46	< 0,1
C9	< 0,07	0,24	0,6	0,11	0,17	0,46	< 0,1

Obs.: em base seca

A sacarose foi o açúcar predominante nos cotilédones da amostra c1 e na c2 (1,84 e 1,34 %p/p). Após 48 h de processo (amostra c3), o açúcar predominante foi a frutose que atingiu seu maior valor na amostra com 72 h, (c4 – 0,98 %p/p), após o término da secagem a frutose manteve-se como o açúcar predominante nos cotilédones de cupuaçu com 0,6 %p/p. A glucose começa a aparecer após 48 h (0,36 %p/p), atingindo seu maior valor na amostra com 72 h (0,6 %p/p), mantendo-se quase que constante até o final do processo de fermentação (c8 – 0,46 %p/p) das amêndoas.

REINECCIUS *et al.* (1972), relataram que os valores encontrados para os açúcares redutores estão entre 0,34 a 1,38% por peso dos cotilédones, em amostras

de amêndoas de cacau comercial originado de vários países. O teor de sacarose, por sua vez, desapareceu quase que completamente durante a fermentação.

ROHAN e STEWART (1967) *apud* REINECCIUS *et al.* (1972), descreveram em seu trabalho que ocorreu uma rápida formação de açúcares redutores em amêndoas africanas, esses valores atingiram sua maior concentração entre 48 e 72 h do início do processo em montes.

A fermentação é essencial para a formação dos precursores do "flavour", porém o aroma típico de chocolate não se desenvolve até que as amêndoas sejam torradas. De acordo com ROHAN e STEWART (1966) *apud* REINECCIUS *et al.* (1972), durante a torração ocorre um quase completo desaparecimento dos açúcares redutores e uma redução significativa nos açúcares totais. As mudanças nos teores dos açúcares são, sem dúvida, importantes variáveis que afetam a formação de compostos voláteis.

Dentre os ácidos, o que predominou nos primeiros dias de processo foi o ácido cítrico (c1 – 0,43; c2 – 0,3; c3 – 0,13 %p/p); a partir da amostra c4 (0,15 %p/p) os valores permaneceram sem alteração diminuindo suavemente até atingir, na amostra c9 (0,11 %p/p). O ácido láctico, que não foi detectado na amostra c1, começou a aparecer na amostra c2 (0,15 %p/p), mantendo-se em suave crescimento até o final do processo (0,46 %p/p). O ácido acético foi o ácido que predominou a partir da amostra c4, atingindo seu maior valor na mesma amostra c4 (1,57 %p/p). O ácido acético foi reduzido durante a etapa da secagem, tendo o seu valor diminuído de 0,82 na amostra c8 para 0,17 %p/p na amostra c9.

O etanol foi detectado nas amostras c2 e c3 (0,56 e 0,2 %p/p), porém não foi identificado na mostra c1, ou seja não houve influência do etanol detectado na polpa do cupuaçu, o etanol detectado desaparece, provavelmente metabolizado pelos microrganismos envolvidos na fermentação do cupuaçu.

BECKETT (1994), descreve uma patente obtida pelas empresas Nestlé e Golden Hope Plantation, na qual utiliza-se uma despolpa mecânica e um processo de pré-secagem, utilizando-se esse procedimento obteve-se um cacau, com baixos níveis de acidez e um sabor similar ao cacau Africano.

A remoção da polpa nas sementes de cupuaçu, não afetou o processamento fermentativo posterior, pois o teor residual (em torno de 3% do peso inicial da polpa) serviu como substrato para o desenvolvimento dos microrganismos.

A sequência básica dos microrganismos presentes na fermentação de sementes de cacau foi originalmente relatada por ROELOFSEN (1958) *apud* SCHAW *et al.* (1990), sendo constituída de leveduras, bactérias lácticas, bactérias acéticas e bactérias formadoras de esporos.

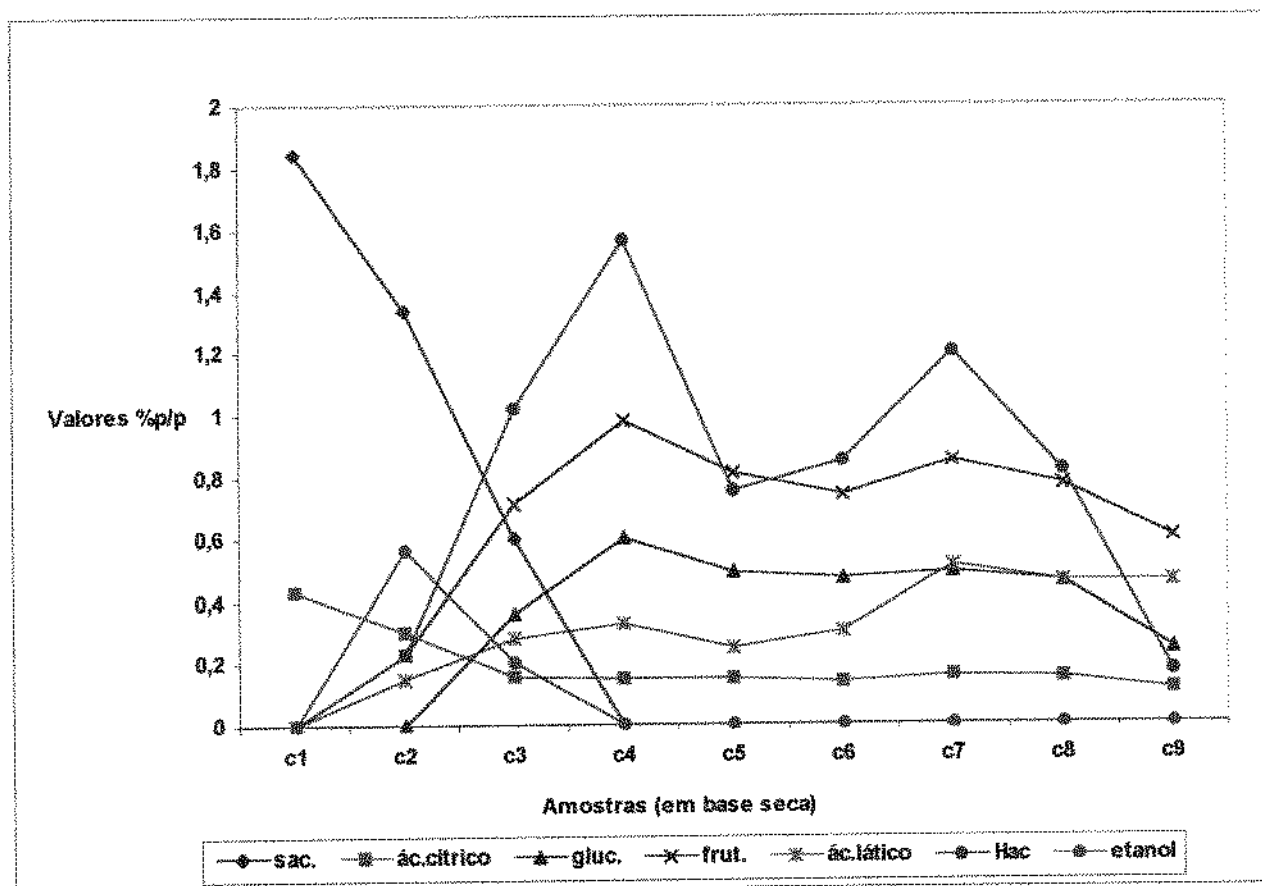


Figura 15 - Ácido solúvel em água (cítrico), açúcares (sacarose, frutose e glucose) e etanol nos cotilédones de cupuaçu antes, durante e após o processo fermentativo.

As condições iniciais de alto teor de açúcares, baixo pH e baixa tensão de oxigênio favorecem o desenvolvimento de leveduras que dominam a primeira fase da fermentação convertendo açúcar em álcool. As leveduras metabolizam ácido cítrico causando uma elevação no pH da polpa, proporcionando o desenvolvimento de bactérias. Isso mais a elevação nos teores de álcool e aeração da massa, inibem as leveduras e sua atividade. A conversão de sacarose, glucose e frutose para etanol e

CO₂ é a primeira atividade das leveduras. Medidas do etanol mostram claramente o aumento de sua concentração na polpa e penetração no cotilédone. Entretanto, é creditado ao ácido acético a morte das sementes FORSYTH e QUESNEL (1963) *apud* SCHAW (1996).

Várias leveduras isoladas produzem ácidos orgânicos, incluindo, acético, oxálico, fosfórico, succínico e málico. Estes ácidos orgânicos podem vir a ter uma ação tamponante e vão tender a reduzir flutuações no pH, SCHAW (1996).

A grande maioria das bactérias lácticas isoladas durante a fermentação de cacau, utilizam a glucose, entretanto, algumas espécies utilizam glucose via hexose monofosfato para formar 50% de ácido láctico e, etanol, ácido acético, glicerol, manitol e CO₂ SCHAW (1996).

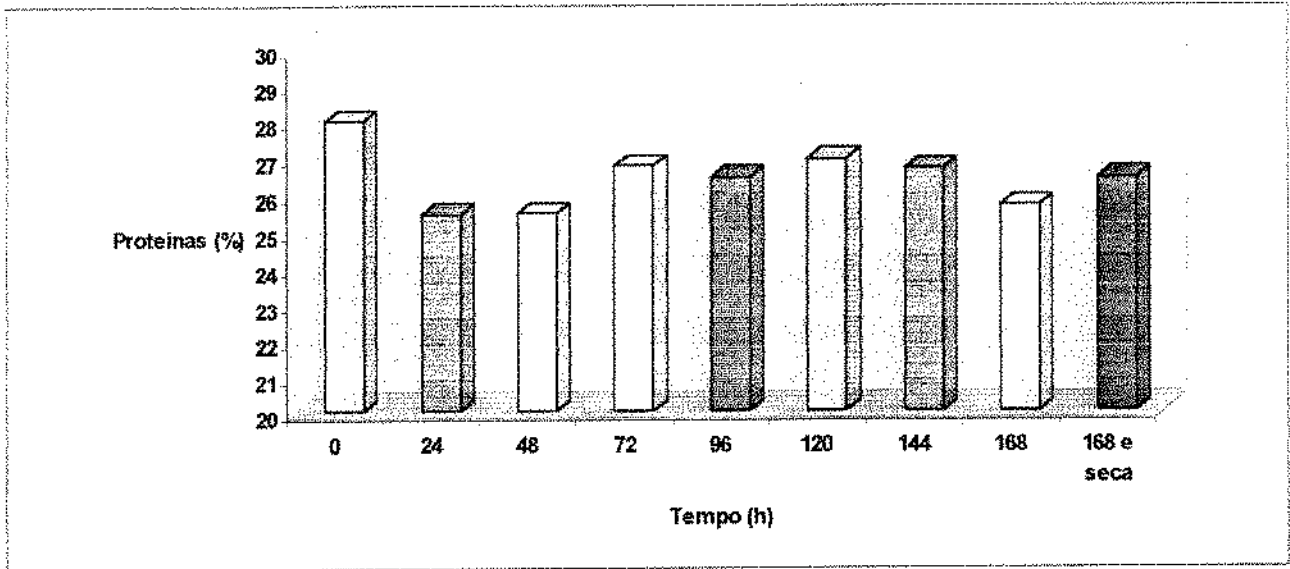
Após o declínio da população das leveduras e bactérias lácticas, a massa se torna mais aerada, criando as condições para as bactérias acéticas. No geral, são encontradas mais freqüentemente bactérias do gênero *Acetobacter* que as do gênero *Gluconobacter*.

As bactérias produtoras de ácido acético são responsáveis pela oxidação do etanol para ácido acético seguindo-se sua oxidação a CO₂ e água. As reações exotérmicas das bactérias acéticas elevam a temperatura da massa fermentativa, algumas vezes para mais de 50° C. A elevada acidez, a alta temperatura e a difusão e hidrólise da proteína nos cotilédones podem ser atribuídas ao metabolismo desses microrganismos

É provável que a mesma microflora relatada para o cacau, a qual é composta de leveduras, bactérias produtoras de ácido láctico, bactérias produtoras de ácido acético e bactérias esporulantes (nesta sequência de acordo com LAJUS, 1982), tenha atuado no processo fermentativo do cupuaçu, é claro que pode acontecer uma variação natural de acordo com as condições existentes e com a atividade microbiana envolvida.

5.3.3. Avaliação do teor de proteínas durante o processo fermentativo

Os valores das proteínas encontradas antes, durante e após o processo fermentativo podem ser visualizadas na Figura 16.



Obs.: *em base seca desengordurada

Figura 16 - Teor de proteínas em diferentes estágios de fermentação do cupuaçu

O teor de proteínas decresceu a partir do primeiro dia de processamento, porém, a porcentagem de proteína à partir da amostra c4 (26,77 %) aumentou levemente. Somente as amostras c1 (27,98 %), c2 (25,44 %), c3 (25,48 %), c5 (26,44 %), c8 (25,71 %) e c9 (26,49 %), diferiram estatisticamente ($p < 0,05$), quanto ao teor de proteínas presentes.

Os teores determinados encontram-se acima do relatado pela bibliografia, tanto para sementes de cupuaçu quanto para sementes de cacau. CHAAR (1980), e PESCE (1941) *apud* VENTURIERI (1993), encontraram um teor de 20% e 19,86% de proteínas em amêndoas de cupuaçu, respectivamente.

ESCRIVÁ (1997), estudando as propriedades reológicas do cacau, descreve em seu trabalho um teor protéico de 17,78% em amêndoas secas.

De acordo com OFFEM (1990), amêndoas de cacau F3 Amazonas e Trinitário apresentaram um valor de 23,82% e 26,26% para proteínas totais.

Durante o desenvolvimento das sementes, há um grande acúmulo de proteínas, que servem como fonte de nitrogênio, enxofre e compostos de carbono, que serão utilizados na germinação (SHOTWELL & LARKIN, 1988 *apud* BIEHL & VOIGT, 1993). OSBORNE (1924) *apud* BIEHL & VOIGT (1993), mostrou que a maioria das proteínas em sementes podem ser classificadas, em base operacional, em quatro classes de solubilidade: albuminas (solúveis em água), globulina (solúveis em sais), prolamina (solúveis em álcool) e glutelina (solúveis em soluções diluídas de ácidos ou álcali). A semente do cacau possui albuminas, globulinas, prolaminas e glutelinas, sendo a albumina a maior fração existente no cacau.

Durante a fermentação, ocorre uma seletiva degradação das células de estocagem de proteína. E observa-se que a seletividade e o grau do processo de proteólise, assim como a participação da proteína no desenvolvimento do sabor são influenciados pelas condições da fermentação, especialmente pela duração da acidificação, causada pela ação dos microrganismos na polpa do cacau (BIEHL *et al.*, 1982; BIEHL *et al.*, 1985; *apud* BIEHL, 1993).

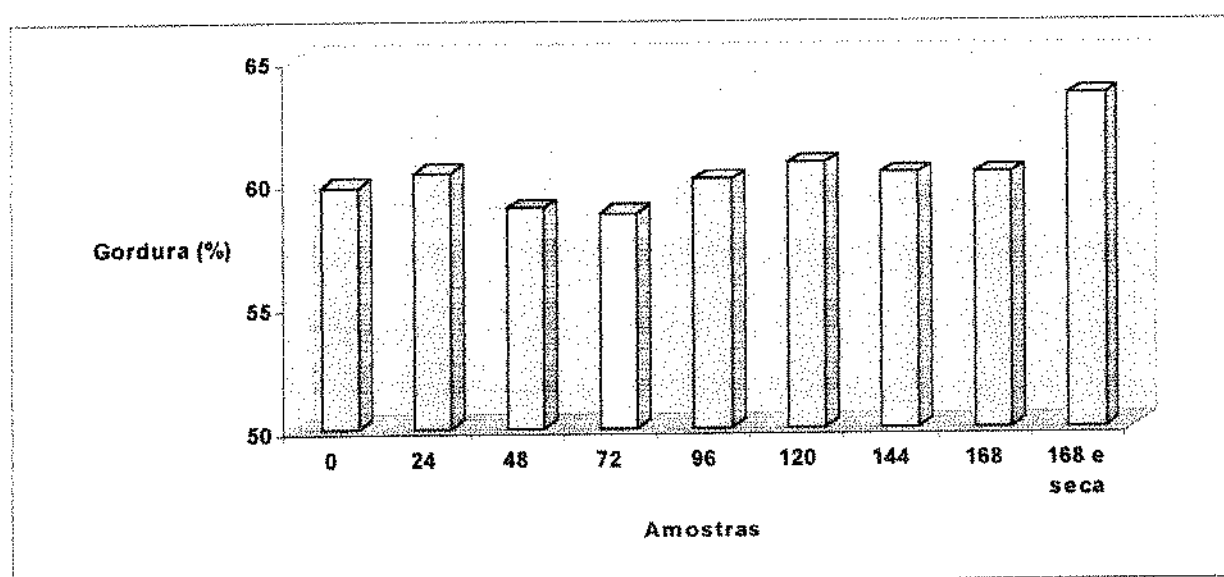
O estudo da fração protéica durante o processo fermentativo, assim como o estudo das reações bioquímicas no interior das sementes ao longo desse processo são muito complexos.

De acordo com LAJUS (1982), o teor de proteína total da semente de cacau, varia levemente durante a fermentação. Na fase final ZAK e KENNEY (1976) *apud* LAJUS (1982), conseguiram extrair apenas um terço da fração protéica encontrada em sementes não fermentadas. A fração de proteína extraível torna-se gradativamente menos pura, indicando possivelmente a reação de proteínas e polifenóis.

De acordo com ARAGÃO (1992), que estudou o processo fermentativo em sementes descongeladas e frescas, nas descongeladas, o teor de proteínas decresceu até o quinto dia de processamento, a partir do qual elevou-se ligeiramente.

5.3.4 Teor de gordura durante o processo fermentativo

Os valores encontrados para o teor de lipídios antes, durante e após o processo fermentativo podem ser visualizadas na Figura 17 e estão de acordo com aqueles obtidos por ARAGÃO (1992). Somente as amostras c1 (59,74 %), c3 (58,9 %), c4 (58,68 %) e c9 (63,49 %) diferiram estatisticamente ($p < 0,05$) quanto ao teor de gordura.



Obs.: em base seca.

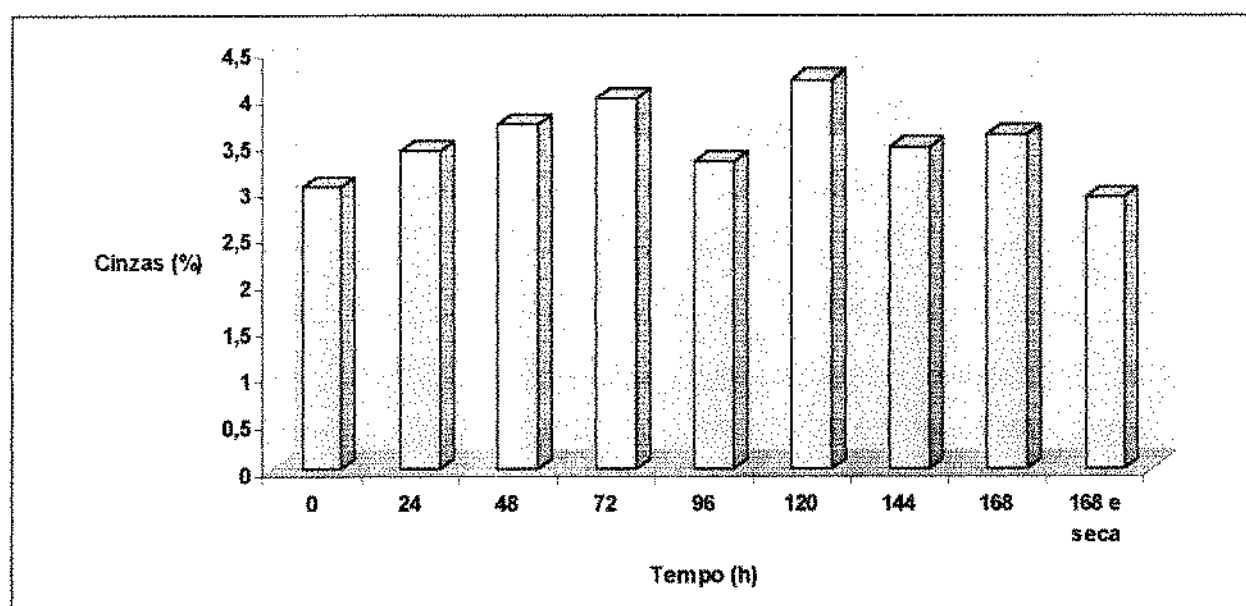
Figura 17 - Teor de gordura em diferentes tempos de fermentação do cupuaçu

CUNHA *et al.* (1997), relata que provavelmente a principal substância de reserva dos cotilédones do cupuaçu possa ser de caráter lipídico.

SILVA (1988), relatou em seu trabalho a obtenção de 60% de gordura em relação à massa de sementes de cupuaçu utilizadas.

5.3.5. Teor de cinzas durante o processo fermentativo

Os valores encontrados para as cinzas antes, durante e após o processo fermentativo podem ser visualizadas na Figura 18. Não houve diferença estatística entre as amostras estudadas ($p < 0,05$).



Obs.: em base seca

Figura 18 - Teor de cinzas nas amostras durante o processo fermentativo do cupuaçu

Os valores encontrados para cinzas nas amostras de cupuaçu apresentam-se dentro da faixa descrita por CHAAR (1980); PHILOCREON (1962) *apud* VENTURIERI (1993).

5.3.6. Teor de fibras nas sementes (c1) e amêndoas (c9)

As duas amostras estudadas diferiram entre si ($p < 0,05$) em relação ao teor de fibras encontrado, apresentando um valor de 7,43% de fibras na amostra c1 e 5,46% de fibras na amostra c9, esses resultados mostraram que o processo fermentativo provocou uma redução no teor de fibras totais, provavelmente pela ação dos ácidos e da temperatura durante o processo fermentativo. Os valores obtidos estão de acordo com CHAAR (1980).

ARAGÃO (1992), relatou que os valores obtidos para as fibras nos cotilédones de cupuaçu mantiveram-se praticamente constante, ao longo do processo fermentativo tanto para as sementes frescas quanto para as descongeladas e que nas testas de cupuaçu os valores de fibra decresceram, ARAGÃO (1992), atribuiu essa redução a ação de enzimas específicas, durante o processo fermentativo, relatando também a ação de celulasas em sementes de cacau frescas, germinadas e em processo fermentativo.

RIBEIRO (1990) *apud* ARAGÃO (1992), relatou que 75% dos microrganismos isolados em fermentações de cacau conseguiram em testes "in vitro", hidrolisar a celulose.

5.3.7. Composição aminoacídica das proteínas do cupuaçu antes, durante e após o processo fermentativo.

Os valores encontrados para os aminoácidos antes, durante e após o processo fermentativo estão descritos na Tabela 08. Os histogramas das amostras referentes aos aminoácidos estão nos Anexos (21 até 30). Os cromatogramas obtidos se encontram nos Anexos (12 até 20).

Tabela 08 – Teores de aminoácidos antes, durante e após o processo fermentativo.

Amostras									
Componente gAa/100g	c1	c2	c3	c4	c5	c6	c7	c8	c9
Aspártico	4,6274 ^a	3,9184 ⁱ	3,9346 ^h	4,0113 ^g	4,5304 ^b	4,3523 ^c	4,3137 ^d	4,1921 ^f	4,2757 ^e
Treonina	1,9727 ^a	1,5967 ^c	1,3353 ⁱ	1,3374 ^h	1,5597 ^d	1,4444 ^g	1,5387 ^e	1,5018 ^f	1,5973 ^b
Serina	1,6265 ^f	1,4029 ^j	1,7417 ^d	1,7343 ^e	1,4703 ^h	1,5689 ^g	1,7613 ^c	1,8296 ^b	1,8896 ^a
Ácido glutâmico	4,5758 ^a	3,8806 ^f	3,5909 ^h	3,6700 ^g	4,2658 ^b	4,0532 ^d	4,0748 ^c	3,9595 ^e	4,0533 ^d
Prolina	0,8042 ^b	0,7004 ^d	0,7255 ^c	1,0371 ^a	0,4469 ^j	0,5465 ^e	0,4488 ^h	0,4707 ^g	0,5357 ^f
Glicina	0,1690 ^h	0,1410 ⁱ	0,3998 ^g	0,4100 ^f	0,5119 ^a	0,4808 ^c	0,4743 ^d	0,4656 ^e	0,4883 ^b
Alanina	1,7106 ^a	1,4536 ^e	1,4522 ^f	1,4889 ^c	1,5309 ^b	1,4738 ^d	1,4440 ^g	1,4247 ^h	1,4065 ⁱ
Cistina	0,7375 ^a	0,5329 ^e	0,6941 ^b	0,6830 ^c	0,5766 ^d	0,3855 ⁱ	0,4745 ^g	0,4732 ^h	0,4956 ^f
Valina	2,9638 ^a	2,5842 ^b	2,0438 ^h	2,0548 ^f	2,4634 ^c	2,1496 ^d	2,0471 ^g	2,0603 ^e	1,9212 ^j
Metionina	0,2361 ^b	0,2159 ^e	0,2281 ^d	0,1549 ^h	0,2134 ^f	0,1745 ^g	0,2326 ^c	0,1525 ⁱ	0,2588 ^a
Isoleucina	1,5731 ^a	1,3722 ^b	1,0807 ^g	0,9977 ⁱ	1,1243 ^f	1,2466 ^c	1,2078 ^d	1,0730 ^h	1,1840 ^e
Leucina	2,8761 ^a	2,5363 ^b	2,0753 ^f	1,9632 ^h	1,8909 ^j	2,1319 ^d	2,1003 ^e	1,9864 ^g	2,1702 ^c
Tirosina	1,2672 ^a	1,0636 ^g	0,9225 ^h	1,1403 ^f	0,8850 ^j	1,1808 ^c	1,1617 ^d	1,1606 ^e	1,2110 ^b
Fenilalanina	1,1478 ^g	0,9342 ^h	1,3314 ^b	1,2433 ^f	0,6496 ⁱ	1,3480 ^a	1,2985 ^d	1,2722 ^e	1,3117 ^c
Lisina	0,9937 ^e	0,8491 ⁱ	1,1510 ^b	0,9406 ^g	1,0431 ^d	1,0520 ^c	1,4343 ^a	0,9248 ^h	0,9445 ^f
Histidina	0,4053 ^h	0,3723 ^j	0,4814 ^e	0,5177 ^d	0,6168 ^a	0,5443 ^c	0,5718 ^b	0,4635 ^g	0,4745 ^f
Arginina	0,1338 ^h	0,1191 ⁱ	0,5084 ^f	0,4132 ^g	0,5574 ^a	0,5501 ^b	0,5481 ^c	0,5382 ^d	0,5202 ^e
Amônia	0,1295 ⁱ	0,1426 ^h	0,4261 ^e	0,4381 ^d	0,5404 ^b	0,7348 ^a	0,5299 ^c	0,4179 ^j	0,3585 ^g
Total	27,9500 ^a	23,8190 ^j	24,1230 ^h	24,2360 ^g	24,8768 ^e	25,4180 ^c	25,6622 ^b	24,3660 ^f	25,0966 ^d

Médias com expoente com letras iguais não diferem significativamente entre si (teste de Tukey; $p < 0,05$)

Embora os resultados dos testes estatísticos apresentem diferenças significativas entre os valores obtidos para os aminoácidos nas amostras de cupuaçu, as diferenças, em termos de valores absolutos foram pequenas.

Os aminoácidos com os maiores valores encontrados estão colocados em ordem decrescente: Aspártico; Ácido glutâmico; Valina; Leucina; Treonina; Alanina; Serina; Isoleucina; Tirosina.

A hidrólise ácida das proteínas liberam seus aminoácidos constituintes e mais o íon amônio, o qual pode ser visualizado na tabela 08.

Podemos observar na Tabela 08 uma redução na maioria dos aminoácidos ao longo do processo fermentativo, os que melhores exemplificam essa redução são o aspártico, treonina, ácido glutâmico, prolina, alanina, cistina, valina, isoleucina, leucina, tirosina e arginina.

Alguns dos aminoácidos estudados apresentaram um suave aumento no seu teor, comparando-se as amostras c1 e c9, dentre eles podemos citar a serina, glicina, metionina, fenilalanina e arginina.

Observando os valores dos aminoácidos totais, podemos notar que a amostra c1 ou "in natura" apresenta um valor total maior que as amostras subsequentes, mostrando que ocorreu uma leve redução no teor dos aminoácidos totais ao longo do processo, porém não foi possível observar um comportamento linear nas amostras avaliadas.

As diferenças nos teores de aminoácidos podem ter sido decorrentes da metodologia adotada não avaliou os aminoácidos livres e sim os aminoácidos totais. Dentre os aminoácidos que podem ser perdidos durante a hidrólise ácida podemos citar: triptofano, cistina, serina, treonina, tirosina, prolina, asparagina, glutamina, sendo que o triptofano é totalmente destruído.

Não existe dúvida que os aminoácidos livres contribuem para o sabor nas amêndoas torradas de cacau, e que as substâncias precursoras são formadas durante a fermentação das amêndoas. O mecanismo de formação ainda é pouco compreendido. É bastante aceitável que alguns compostos importantes nessa reação são frações de peptídeos, aminoácidos, açúcares, e polifenóis.

Certamente que alguns produtos da fermentação, que ainda não estão bem caracterizados, contribuam para o grande grupo dos precursores do sabor do cacau, principalmente na torração das amêndoas através da reação de Maillard.

LOPEZ e DIMICK (1991) descrevem em seu trabalhos, que na semente fresca do cacau, os polifenóis e as proteínas, estão armazenados em células distintas. Durante o processo fermentativo, as barreiras celulares são destruídas, e os componentes se misturam. Proteínas são hidrolisadas para peptídeos e aminoácidos, fenol glicosídeos para cianidinas e açúcares para monossacarídeos e os polifenóis são polimerizados e oxidados. Os produtos dessas reações, e suas interações, proporcionam os precursores do sabor.

OFFEM (1990), estudando aminoácidos em amêndoas de cacau de variedades F3 Amazonas em, três épocas diferentes, cacau amelonado e trinitário não encontrou diferença significativa entre as amostras avaliadas, e que as pequenas diferenças encontradas entre as amostras poderiam ser atribuídas muito mais ao meio ambiente e diferenças ecológicas do que diferenças entre as variedades.

MARAVALHAS (1972), relata em seu trabalho, que não encontrou diferença significativa entre amêndoas fermentadas e amêndoas não fermentadas de cacau, quanto aos valores referentes aos aminoácidos.

5.3.8. Teobromina e cafeína

A determinação dos teores de teobromina e cafeína, utilizando-se uma metodologia usada para amostras de cacau e seus produtos, apresentou um valor de 120 mg/100mL para a teobromina e de 28 mg/100mL para a cafeína, para a amostra c9.

HAMMERSTONE *et al.* (1994), estudando os alcalóides no gênero *theobroma*, não detectou teobromina e cafeína em *Theobroma grandiflorum*, somente conseguiu detectar um composto denominado tetrametilúrico.

Dados obtidos por BAUMANN & WANNER (1980); SCHULTES (1978); VASCONCELOS *et al.* (1975) *apud* VENTURIERI (1993), que analisando a semente do cupuaçu determinaram o ácido 1,3,7,9-tetrametilúrico, sugerido por esses autores como precursor da cafeína, não detectando outros compostos.

É possível que a metodologia utilizada para o cacau, não seja a indicada para o cupuaçu, pois este pode ter interferentes que induzam a uma determinação equivocada dos alcalóides teobromina e cafeína, sendo também possível que algumas grupos populacionais do cupuaçu possuam esses compostos e outros não.

Alcalóides em sementes de cacau sofrem um decréscimo em sua concentração durante o processo fermentativo, mas isso é resultante da exsudação das amêndoas, durante o processo. Os teores de alcalóides variam de acordo com a variedade cultivada, em Gana, o cacau apresenta um teor de 0,196% de cafeína e de 3,95% de teobromina (ROHAN, 1964).

5.3.9. Avaliação sensorial

A análise sensorial foi realizada com as amostras c1 e c9, formuladas com 55% de líquido de cupuaçu e 45% de açúcar refinado, de acordo com formulação descrita em BECKET (1994), para chocolate amargo. As amostras assim preparadas foram imediatamente submetidas a avaliação sensorial. Foi empregado o teste de aceitação, escala hedônica de 9 pontos, com a nota 9 significando gostei muitíssimo e a nota 1, desgostei muitíssimo. O teste de aceitação foi realizado para o atributo sabor. As fichas da avaliação sensorial estão apresentadas no item 4.2.7.9.

Os testes sensoriais foram realizados em bancada com a utilização de luz branca e aplicados a trinta e cinco provadores não treinados, mas consumidores de chocolate. Foram apresentadas duas amostras aos provadores, correspondendo as amostras c1 e c9, servidas em copos plásticos de poliestireno, codificados, de 50 mL contendo aproximadamente 20g do produto formulado. Todas as amostras foram servidas a temperatura ambiente, acompanhadas de água e das fichas de avaliação do sabor.

Observando a tabela 09, verifica-se que no teste sensorial houve diferença entre as amostras. Isto significa que o processo fermentativo aplicado, alterou as propriedades sensoriais das amostras. Essa alteração sensorial foi percebida de modo significativo pelos provadores ($p < 0,05$), havendo diferença a nível de 5% na avaliação hedônica para o sabor.

Tabela 09 – Média das notas da avaliação hedônica quanto ao sabor das amostras formuladas.

Amostras	Avaliação do sabor
c1	5,0 ^b
c9	6,6 ^a

(a, b) médias com o expoente diferentes diferem estatisticamente ($p < 0,05$)

Analisando de maneira geral, para a amostra c1, pode-se concluir que os provadores não gostaram nem desgostaram, e para a amostra c9, pode-se dizer que os provadores gostaram ligeiramente, como pode ser observado no histograma da Figura 19.

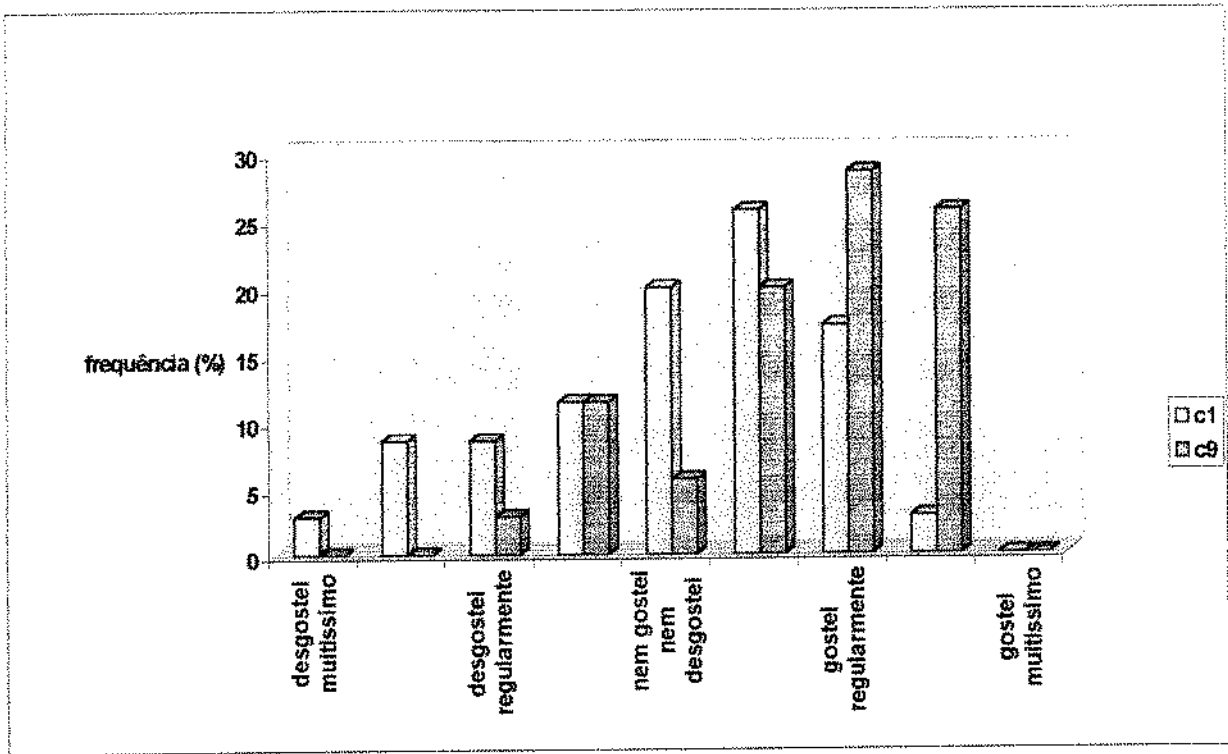


Figura 19 - Histograma da avaliação quanto ao sabor do produto obtido de amêndoas de cupuaçu dos tratamentos c1 e c9

V. CONCLUSÕES

A metodologia utilizando a caixa T-60, mostrou-se adequada, por apresentar-se como uma alternativa para pequenos e médios produtores rurais, não necessitando de aditivos, nem de metodologias complicadas para se obter um produto de sementes de cupuaçu com características similares à um produto obtido de sementes de cacau.

Acredita-se portanto, que o fato de usarmos sementes despulpadas, favoreceu a aeração da massa e portanto acelerou o aumento da temperatura já nas primeiras horas do processo.

A partir dos resultados obtidos para o pH (0h - 4,71; 168h - 6,3 no cotilédone) , acidez total titulável (0h - 1,84mL NaOH; 168h - 30,57mL NaOH no cotilédone) e a temperatura (0h - 32° C; 168h - 45° C), podemos dizer que o processamento do cupuaçu, em termos de valores é similar aos obtidos em fermentações de cacau.

As transformações que ocorrem ao longo desse processamento nos açúcares, ácidos e álcool, durante o processo fermentativo do cupuaçu , assemelham-se àquelas descritas na literatura para o cacau.

A fração aminoácídica estudada mostrou que houve um suave acréscimo nos valores de alguns aminoácidos (serina, glicina, metionina, fenilalanina e arginina) e decréscimo em outros (aspártico, treonina, ácido glutâmico, prolina, alanina, cistina, valina, isoleucina, leucina, tirosina e arginina).

Os comentários obtidos durante à avaliação sensorial, descrevem a amêndoa fermentada do cupuaçu , como um produto com aroma de fruta e de castanhas, o que pode ser muito semelhante as descrições do cacau "criollo", obtidas na literatura.

VI BIBLIOGRAFIA

- ANDRADE, F. G. e SÁ, C. P. Uma visão prospectiva da cadeia produtiva do cupuaçu no Acre e vilas Nova Califórnia e Extrema. I Workshop sobre as culturas de cupuaçu e pupunha, 1996, Manaus. Anais. Manaus – AM: Embrapa – CPAA, 1996. p 170.
- ANDRADE, J. de S. Aproveitamento tecnológico do cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*, Schum); Pesquisas realizadas no INPA. I Workshop sobre as culturas de cupuaçu e pupunha, 1996, Manaus. Anais. Manaus – AM: Embrapa – CPAA, 1996. p 170.
- ALVES, S & JENNINGS, W. G. Volatile Composition of Certain Amazonian Fruits **Food Chemistry** 2(4): 149-53. 1979
- AOAC. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists: edited Ig W. Horwitz 13^a ed. Washington, 850p, 1984.
- AOAC. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists: edited Ig W. Horwitz 16^a ed. Washington, 850p, 1997. v. 2.
- ARAGÃO, C. G. Mudanças Físicas e Químicas da semente do Cupuaçu (*Theobroma grandiflorum* Schum) durante o Processo Fermentativo. Manaus. 115 p. 1992. Tese (Mestrado) Fundação Universidade do Amazonas.
- BAIGRIE, B. D. Cocoa flavour. In: Understanding natural flavors. 1^a ed. Glasgow: Chapman & Hall, 1994, chapter 17: p 268-282
- BAKER, D. M.; TOMLINS, K. I. & GAY, C. Survey of Ghanaian Cocoa Farmer Fermentation Practices and Their Influence on Cocoa Flavour. **Food Chemistry**. 51(4): 425-431. 1994.

- BAREL, M.; GUYOT, B. & VICENTE, J. C. Les Fractions Protéique du Cacao avant et après Torréfaction. Influence de La Fermentacion. **Café Cacao Thé**. (27): 127-144. 1983
- BCCCA. The biscuit, cake, chocolate & confectionary alliance. Fourth editition. Bedford Row, London, october, 1996. 27p.
- BECKETT, S. T. Industrial Chocolate manufacture and use. Edited by S. T. BECKETT, 2ed. Imp. London: Blackie Academic, 1994, 408p.
- BECKMAN INSTRUMENTS, INC Beckman 118/119 BL, 118/119 CL Amino acid Analyser. Instruction Manual. Spinco Division, Palo Alto, 1977.
- BERBERT, P. R. F. Determinação do teor de ácidos graxos e características físicas das gorduras das sementes do *Theobroma grandiflorum* L. e do *Theobroma bicolor* L. e comparação com a gordura do *Theobroma cacao* L. **Revista Theobroma** 11(2): 91-98. 1981.
- BIEHL, J. V. B. & WAZIR, S. K. S. The Major Seed Proteins of *Theobroma cacao* L. **Food Chemistry**: 47(2) 145-151, 1993.
- BIEHL, B; HEINRICHS, H.; VOIGT, J; VOIGT, G; BYTOF, G and SERRANO, P. Nature of proteases and their action on storage proteins in cocoa seeds during germination as compared with fermentation. In: 12º CONFERÊNCIA INTERNACIONAL DE PESQUISA EM CACAU, Salvador – BA, novembro, 1996.
- BIEHL, B and VOIGT, J. Biochemistry of chocolate flavour precursors. In: : 12º CONFERÊNCIA INTERNACIONAL DE PESQUISA EM CACAU, Salvador – BA, novembro, 1996.
- BLACBURN, S. Amino acid determination. Methods and techniques. Marcel Dekker, INC. New York, 1968.
- BRANDEAU, J. EL cacao. Barcelona, Editorial Blume, 1970. 297 p.

- CAVALCANTE, P. B. Frutas comestíveis da Amazônia. Belém, 5ª ed., Museu Paraense Emílio Goeldi, Edições CEJUP : CNPQ. p. 90-96, 1991.
- CLEMENT, C. R & VENTURIERI, G. A. Bacuri and Cupuassu. IN: NAGY, S.; SHAW, P. E. and WARDOWSKI, W. F. – Fruits of tropical and subtropical origin: Composition, Properties and Uses. Lake Alfred, Florida: Florida Science Source, 1990. p 178-192.
- CHATT, E. M. Cocoa. New York, Interscience Publishers. 1953. Vol. III. 302 p.
- CHAAR, J. M. Composição do cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*, Schum) e conservação do seu néctar por meios físicos e químicos, 1980. 87p. Dissertação (Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Decanato de pesquisa e pós-graduação, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.
- COMISSÃO EXECUTIVA DO PLANO DE LAVOURA CACAUEIRA (CEPLAC) Normas técnicas para cultivo de cacau no Recôncavo Baiano. Ilhéus, Centro de Pesquisas do Cacau, 1980.43 p
- COUTINHO, R. B. S. Industrialização das sementes do cupuaçu. **Revista de Farmácia Bioquímica da Amazônia**, Manaus-AM, 2 (4): 7 – 10. 1969.
- CORRÊA NETO, R. da S. Desenvolvimento de processo de acondicionamento do suco de laranja pasteurizado em garrafas de polietileno tereftalato (PET). Campinas, 1998. 75p. Dissertação (Mestre em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.
- CROS, E.; VILLENEUVE, F. & VINCENT, J. C. Recherche d'un indice de fermentation du cacao. I. Evolution des tanins et des phénols totaux de la fève. **Café Cacao Thé**. (26): 109-114. 1984.

- CUNHA, C. R.; JACKIX, M. N. H.; CORTELAZZO, A. e VASCONCELOS, M. A. M. Alterações na Microestrutura das Amêndoas durante a Fermentação de Sementes de Cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*). In: II Simpósio Latino Americano de Ciência de Alimentos, 14 de novembro de 1997. Campinas – SP
- DA SILVA, R. M. Estudo do Sistema Reprodutivo e Divergência Genética em Cupuaçuzeiro. Piracicaba, 1996. 151 p. Tese (Mestrado). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo
- DIMICK, P. S. & HOSKIN, J. M. Chemico-Physical Aspects of Chocolate Processing - A Review. **Journal of Canadian Institute of Food Science and Technology**. Vol 14 (4): 269-282, 1981.
- DIONEX. TECHNICAL NOTE 20. Analysis of carbohydrates by high performance anion exchange chromatography with pulsed amperometric detection (HPAE-PAD).
- DRUMMOND, M. C. de M. Estudo da influência do grau de torração do cacau (*Theobroma cacao* L.), no comportamento de ratos de laboratório. Campinas, 1998. 93 p. Dissertação (Mestre em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.
- DUCKE, A. Plantas de cultura precolombiana na Amazônia Brasileira. Notas sobre as espécies ou formas espontâneas que supostamente lhes teriam dado origem. IPEAN, Bol. Técnico, Belém - PA 8:11, p.11, 1946
- ESCRIVÁ, M. V. G. Comparação das propriedades reológicas da massa de cacau torrada convencionalmente e por microondas. Campinas, 1997. 88p. Dissertação (Mestre em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.

- FISCHER, N.; HAMMERSCHMIDT, F. J. & BRUNKE, E. J. Contribution to the analysis of the flavor of cupuaçu fruit (*Theobroma grandiflorum* Spreng*) **Fruit Processing**, v 05, n.03, p. 61-65, 1995.
- FRANCO, G. Tabela de Composição Química dos Alimentos, 9ª ed. São Paulo-SP: Livraria Atheneu Editora, 1992. 308 p.
- FRAYNE, R. F. Direct Analysis of the Major Organic Components in Grape Must and Wine Using High Performance Liquid Chromatography. **American Journal of Enology and Viticulture.**, v37, n.04, p. 281-287, 1986.
- GOERING, H. K.; VAN SOEST, P. J. Forage fibre analysis. Agri-handbook: Agriculture Research Service, U. S. Dept. Agriculture, p 375, 1970.
- GRIMALDI, J. Les Possibilités D'amélioration des Techniques D'ecabossage et de Fermentation dans le Processus Artisanal de la Préparation du Cacao. **Café Cacao Thé**. (22): 303-316. 1978.
- HAMMERSTONE, J. F. JR.; ROMANCZYK, L. J. JR and AITKEN, W. M. Purine alkaloid distribution within *Herrania* and *Theobroma* – **Phytochemistry**, London, v. 35, n. 5, p. 1237-1240, 1994.
- HOARE, M.; JONES, S. and LINDSAY, J. Total Vitamin C analysis of Orange Juice. **Food Australia**, Australia, v. 45, n. 7, p. 341-345, 1993
- HOMMA, A. K. O. Cupuaçu: Potencialidade e mercado, algumas especulações. In: I Workshop sobre as culturas de cupuaçu e pupuha, 1996, Manaus. Anais. Manaus – AM: Embrapa – CPAA, 1996. p 170.
- JENKE, D. R. Chromatographic Method Validation: A Review of Current Practices and Procedures. III. Ruggedness, Revalidation and System Suitability. **Journal Liquid Chromatography.&Rel. Technology**, v. 19, n. 12, p. 1873-1891, 1996.

- JINAP, S. Organic acids in cocoa beans - A review. **ASEAN Food Journal**, v. 09, n. 01, 1994.
- KIRCHHOFF, P. M.; BIEHL, CRONE, G. Peculiarity of the accumulation of free amino acids during cocoa fermentation. **Food Chemistry**, London, v. 31, p 295-311, 1989.
- KIRCHHOFF, P. M.; BIEHL, B; ZIEGELER – BERGHAUSEN, H; HAMMOOR, M; LIEBEREI, R. Kinetics of the formation of free amino acids in cocoa seeds during fermentation. **Food Chemistry**, London, v. 34, p 161-179, 1989.
- LAJUS, B. Estudo de alguns aspectos da tecnologia do cacau. São Paulo, 1982. 81 p. Dissertação (Mestre) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo.
- LEVANON, Y & ROSSETINI, S. M. O. // Processamento e Microbiologia da Fermentação de Amêndoas de Cacau // In: AQUARONE, E.; BORZANI, W. & LIMA, U. de A. - Tópicos de Microbiologia Industrial. São Paulo, Edgard Blücher, Ed da Universidade de São Paulo, 1975, p174-187.
- LIMA, H. C.; MIRANDA, R. M.; DELLA MODESTA, R. C. Estudo para a melhoria tecnológica do cupulate em pó. In: I Encontro Norte/Nordeste da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos – SBCTA, 13 a 16 de junho de 1995. Fortaleza, CE.
- LOPEZ, A . S. The contribution of volatile compounds to the flavour of chocolate and their development during processing. Tinidad, 1974. 172. Thesis (Doctor of Philosophy in the faculty of agriculture) – Cacao Research Unit, The University of West Indies.
- LOPEZ, A . S. Limitação da "Prova de corte" no Controle de Qualidade do Cacau Comercial. **Revista Theobroma** (Brasil) 14(3): 199-207, 1984.

- LOPEZ, A . S. & MacDONALD, C. R. A Definition of Descriptors to be Used for the qualification of Chocolate Flavours in Organoleptic Testing. **Revista Theobroma** (Brasil) 11(3): 209-217, 1981.
- LOPEZ, A . S. & MacDONALD, C. R. Preliminary Test of a Simple and Inexpensive System for the Mechanical Aeration of Box-Type Cacao Fermentation. **Revista Theobroma** (Brasil) 12(2): 57-83, 1982.
- LOPEZ, A . S. F. Factors Associated with Cacao Bean Acidity and the Possibility of its Reduction by Improved Fermentation. **Revista Theobroma** (Brasil) 13(3): 233-248, 1983.
- LOPEZ, A .S.; FERREIRA, H. I. S.; LLAMOSAS, A .C. Present Status of Cacao by-products Utilization in Brazil. **Revista Theobroma** (Brasil) 14(4): 271-291, 1984.
- LOPEZ, A. S. & DIMICK, P. S. – Enzymes involved in cocoa curing. In: edited by FOX, P. F. Food Enzymology. Ireland: Elsevier applied science, 1991. Vol. 2, chapter 25. 211-236.
- MacDONALD, H. M.; MASTERS, K. E. & PETTIPHER, G. L. Partial Purification of Cocoa Seed Proteins and Studies Into The Degradation of Cocoa Storage Protein. **Café Cacao Thé**. 32(2)119-124, 1994.
- MACRAE, R; ROBINSON, R. K. & SADLER, M. J. Cocoa. In: Encyclopaedia of food science food technology and nutrition. London: Academic Press, 1993. Vol. 2, p. 1073-1097.
- MARTIN, R. A. JR. Chocolate. In: Advances in food research. Nova York: Academic Press, 1987. v. 31, p 211-342.

- MEDLICOTT, A. P. & THOMPSON, A. K. Analysis of sugars and organic acids in ripening mango fruits (*Mangifera indica* L. var Keitt) by high performance liquid chromatography. **Journal Science Food Agriculture**, London, v. 36, n 7, p. 561-566, 1985.
- MEURSING, E. H. Cocoa powders for industrial processing, 3^a ed. Holland, Cacaofabriek de Zaan b.v., Koog aan de Zaan, 126p. 1983.
- MIRANDA, R. M. Conservação da polpa de cupuassu (*Theobroma grandiflorum*, Schum. Manaus, 1989. 104p. Dissertação (Mestre em Tecnologia de Alimentos), INPA.
- MINIFIE, B. W. Chocolate, cocoa and confectionary: science and technology, 3. Ed. New York, Na AVI Book published by Van Nostrand Reinhold, 1989. 940p.
- MONTEIRO, W. R. Gênero *Theobroma*: Distribuição e importância econômicas. I Workshop sobre as culturas de cupuaçu e pupunha, 1996, Manaus. Anais. Manaus – AM: Embrapa – CPAA, 1996. p 170.
- NAZARÉ, R. F. R. Processamento tecnológico do cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*). I Workshop sobre as culturas de cupuaçu e pupunha, 1996, Manaus. Anais. Manaus – AM: Embrapa – CPAA, 1996. p 170.
- NAZARÉ, R. F. R. Processos agro-industriais para o desenvolvimento de produtos de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*). I Workshop sobre as culturas de cupuaçu e pupunha, 1996, Manaus. Anais. Manaus – AM: Embrapa – CPAA, 1996. p 170.
- NAZARÉ, R. F. R. de; BARBOSA, W. C. & VIÉGAS, R. M. F. Processamento das sementes de cupuaçu para a obtenção de cupulate. Belém: EMBRAPA-CPATU-Pará, 38p, 1990.

- OFFEM, J. O. Individual variation in the amino acid and chemical composition of defatted cocoa bean meal of three varieties of cocoa (*Theobroma cacao*) from south-eastern Nigeria. **Journal Science Food Agriculture**, London, v. 52, p. 129-135, 1990.
- PAIVA, M. & JANICK, J. Variability of Alkaloid Production in *Theobroma cacao* L. **Revista Theobroma** (Brasil) 13(3): 249-262, 1983.
- PICHA, D. H. Organic Acid Determination in Sweet Potatoes by HPLC, **Journal Agric. Food Chemistry**, Florida, v. 33, n. 4, p. 743-745, 1985.
- PILANDO, L. S and WROLSTAD, R. E. Compositional profiles of fruit juice concentrates and sweeteners. **Food Chemistry**, Oregon, v. 44, n. 1, p. 19-37, 1992.
- PREGNOLATTO, W & PREGNOLATTO, N. P. Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz, Métodos Químicos e Físicos para Análise de Alimentos. Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, 3 ed. Vol 1. 533 p, 1985.
- QUEIROZ, M. B. Estudo dos parâmetros de torração de amêndoas de cupuaçu. Dissertação (Mestre em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas. No prelo
- REINECCIUS, G. A.; ANDERSEN, D. A.; KAVANAGH, T. E. and KEENEY, P. G. Identification and quantification of free sugars in cocoa beans, **Journal Agr. Food Chem**, v. 20, n2, 1972.
- REYES, F. G. R.; WROLSTAD, R. E.; CORNWELL, C. J. Comparison of enzymic, gas-liquid chromatographic, and high performance liquid chromatographic methods for determining sugars and organic acids in strawberries at three stages of maturity. **Journal Assoc. Off. Anal. Chem.**, v.65, n.1, 1982.

- RIBEIRO, C.C. Influencia da homogeneização, através de homogeneizador de pressão, sobre algumas características do néctar de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum* Schum.). 82p. 1990. São Paulo Tese (Mestrado) Escola Politecnica da USP.
- RIBEIRO, C.C. Perspectivas de utilização tecnológica da polpa de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*, Schum). I Workshop sobre as culturas de cupuaçu e pupuha, 1996, Manaus. Anais. Manaus – AM: Embrapa – CPAA, 1996. p 170.
- RIBEIRO, G. D. A cultura do cupuaçuzeiro em Rondônia. Porto Velho: EMBRAPA-CPAF-Rondônia, 32p, 1992.
- RIBEIRO, G. D. Situação atual e perspectivas da cultura do cupuaçuzeiro (*Theobroma grandiflorum*, Schum) no estado de Rondônia, Brasil. I Workshop sobre as culturas de cupuaçu e pupuha, 1996, Manaus. Anais. Manaus – AM: Embrapa – CPAA, 1996. p 170.
- RIBEIRO, N. C. de A. & LOPEZ, A. S. Fungos Produtores de Ácidos Isolados Durante a Fermentação e Secagem do Cacau. **Revista Theobroma** (Brasil) 13(4): 293-301, 1983.
- RODRIGUES, D. Projeto estudo pluridisciplinar de transformação dos frutos da Amazônia visando sua valorização comercial pelas organizações de pequenos agricultores existentes - cadeia de produção dos frutos da Amazônia, naturais e transformados do Estado do Pará... Belém, 1995. Caps. 3 e 7.
- RODRIGUES, D. M. e SANTANA A. C. de. Aspectos da produção e da comercialização do cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*, Schum) no estado do Pará. I Workshop sobre as culturas de cupuaçu e pupunha, 1996, Manaus. Anais. Manaus – AM: Embrapa – CPAA, 1996. p 170.
- ROHAN, T. H. El beneficio del cacao bruto destinado al mercado. FAO: Estudio Agropecuários. 223p, 1964.

- ROSLI, W. I. W.; JINAP, S. and RUSSLY, A. R. Effect of roasting time and temperature on volatile component profiles during nib roasting . In: 12^o CONFERÊNCIA INTERNACIONAL DE PESQUISA EM CACAU, Salvador – BA, novembro, 1996.
- SCHWAN R. F. Microbiology of cocoa fermentation: A study to improve quality. In: 12^o CONFERÊNCIA INTERNACIONAL DE PESQUISA EM CACAU, Salvador – BA, novembro, 1996.
- SCHWAN R. F.; LOPEZ A .; SILVA, D. O .& VANETTI, M. C. D. Influência da frequência e intervalos de revolvimento sobre a fermentação do cacau e qualidade do chocolate. **AGROTIPICA** 2(1): 22-31, 1990.
- SEGUINE, E. S. Tempering The Inside Story. **The Manufacturing Confectioner**. 71(5): 117-125, 1991.
- SEIKI, K. Chemical Changes During Cocoa Bean Fermentation using the Tray Method in Nigeria - **International-Chocolate-Review** 28(2): 38-42, 1973.
- SHAW, P. E. & WILSON, C. W. Ascorbic acid content of some tropical fruit products determined by high-performance liquid chromatography. **Journal Agric. Food Chem.**, Florida, v.30, n 2, 394-396, 1982.
- SHAW, P.E.; WILSON, C.W. Determination of organic acids and sugars in loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.) by high-pressure liquid chromatography, **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Florida v. 32, n. 12, p. 1242-1246, 1981.
- SILVA, W. G. Gordura de Cupuaçu, Sucedâneo da Manteiga de Cacau. São Paulo, 1988. Tese (Doutorado). Universidade São Paulo - Faculdade de Ciências Farmacêuticas.
- SPACKMAN, D. H.; SETEIN, W. H. & MOORE, S. Automatic recording apparatus for use in the cromatography of amino acids. *Analytical Chemistry*., 30: 1190, 1958.

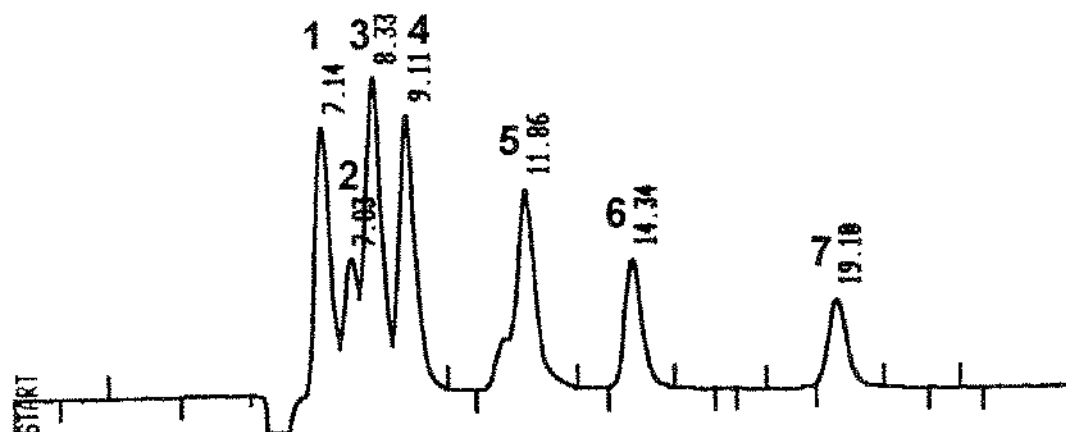
- STONE, H. & SIDEL, J. L. Descriptive Analysis. In: STONE, H. & SIDEL, J. L. Sensory Evaluation Practices. Academic Press Inc., London. 1985. Cap.6. p. 202-226
- TIMBIE, D. J. and KEENEY, P. G. Extraction, fractionation, and amino acid composition of brazilian comun cocoa proteins. **Journal of Agriculture Food Chemistry** v. 25, p. 424-426, 1977
- TIMBIE, D. J. and KEENEY, P. G. Comparison of several types of cocoa beans relative to fractioned protein components. **Journal of Agriculture Food Chemistry** v. 28, p. 472-474, 1980
- TOMLINS, K. I.; BAKER, D. M. & DAPLYN, P. Effect of Fermentation and Drying Practices on the Chemical and Physical Profiles of Ghana Cocoa. **Food Chemistry**. 46: 257-263, 1993.
- TOMLINS, K. I.; BAKER, D. M.; McDowel, I. J. HPLC Method for the Analysis of Organic Acids, Sugars, and Alcohol in Extracts of Fermenting Cocoa Beans. **Chromatographia**, , v 29, n 11/12, 557-561, July, 1990.
- URBANSKI, J. J. - Chocolate Flavor/Origins and Descriptions. The Effects of Process and Bean Source. **The Manufacturing Confectioner**. 72(11): 69-74, 76-82, 1992.
- VASCONCELOS, M. A. M de. Utilização de Polpa de Graviola (*Annona muricata*, Linn.) na Produção de Néctar, Doce em Pasta e Geléia. Belém-PA, 1994. 60p. Dissertação (Especialista em Tecnologia de Alimentos) – Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal do Pará.

- VASCONCELOS, M. A. M.; JACKIX, M. N. H; RODRIGUES, M. V. N ;and SERRA, G. E. HPLC Determination of Organic Acids, Sugars and Ethanol in Fermenting Cupuassu Seeds. In: 22nd International Symposium on Chromatography, 13 – 18 de setembro de 1998. Roma, It. Anais...Roma, It, 1998. P 646.
- VASCONCELOS, M. A. M; RODRIGUES, M. V. N; JACKIX, M. N. H; DIB TAXI, C.;and SERRA, G. E. Free Sugars Determination by High Performance Liquid Chromatography in Exotic Amazonian Fruits In: 22nd International Symposium on Chromatography, 13 – 18 de setembro de 1998. Roma, It. Anais...Roma, It, 1998. P 647.
- VASCONCELOS, M. N. L.; DA SILVA, M. L.; MAIA, J. G. S. & GOTTLIEB, O. R. Estudo Químico das Sementes do Cupuaçu. **ACTA AMAZÔNICA**, 5(3): 293-295, 1975.
- VENTURIERI, G.A., - Base de dados do cupuaçu . Disponível na Internet: <http://www.ufpa.br/centros/ccb/citogenetica/cupu/>, 22.11. 1998
- VENTURIERI, G.A. - CUPUAÇU: A Espécie, sua Cultura, Usos, e Processamento. Belém: Clube do Cupu. 1993, 103p.
- VENTURIERI, G.A. & AGUIAR, J.P. Composição do chocolate caseiro de amêndoas de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum* (WILLD EX SPRENG) SCHUM). **ACTA AMAZÔNICA**, 18(1/2): 3-8,1988.
- VIDAL VALVERDE, C.; VALVERDE, S.; MARTIN VILLA, C.; BLANCO, I. and ROJAS HIDALGO, E. High performance liquid chromatographic determination of soluble carbohydrates in commercial drinks. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. Madrid, v. 36, n. 1, p. 43-48, 1985.

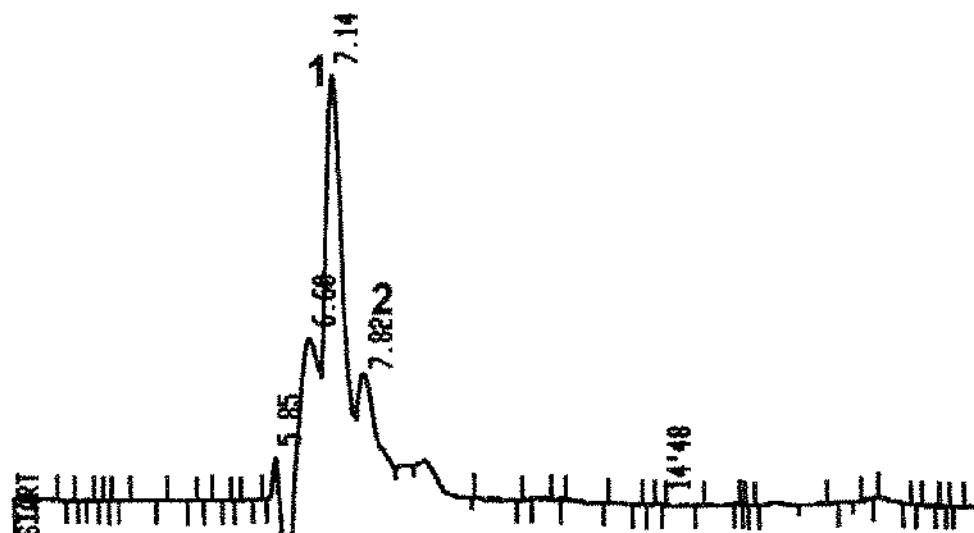
- VILLACHICA, H.; CARVALHO, J. E. U. de; MÜLLER, C. H.; CAMILO, DIAZ, S.; ALMANZA, M. Frutales e hortalias promissorios de la Amazonia. Lim: FAO/PNUD/ICRAF/PNUMA/PRAPICA-FIDA-CAF/IICA,PROCITRÓPICOS/ICCA-GT, 1996. 367p.
- VILLENEUVE, F. & CROS, E. Effet de la fermentation sur les activités peroxydasiques et polyphenoloxidasiques de la fève de cacao. **Café Cacao Thé**. (29): 113-120. 1985.
- WILSON, C. W. ;SHAW-PE and CAMPBELL, C.W. Determination of organic acids and sugars in guava (*Psidium guajava* L.) cultivars by high-performance liquid chromatography. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Florida, v. 33, n. 8, p. 777-780, 1982.
- YOUNG, H. and PATERSON, V. J. The Effects of Harvest Maturity, Ripeness and Storage on Kiwifruit Aroma. **Journal Science Food Agric**. v. 36, p. 352-358, 1985.
- ZAK, D. L. and KEENEY, P. G. Extraction and fractionation of cocoa proteins as applied to several varieties of cocoa beans. **Journal of Agriculture Food Chemistry** v. 24, p. 479-482, 1976
- ZAK, D. L. and KEENEY, P. G. Changes in cocoa proteins during ripening of fruit, fermentation, and further processing of cocoa beans. **Journal of Agriculture Food Chemistry** v. 24, p. 483-486, 1976
- ZAMALOA, W. A. C. - Caracterização físico-química e avaliação de metilpirazinas no desenvolvimento do sabor, em dez cultivares de cacau (*Theobroma cacao* L.) produzidos no Estado de São Paulo. Campinas. 1994, 111p. Tese (Mestrado) - UNICAMP.

VII ANEXO

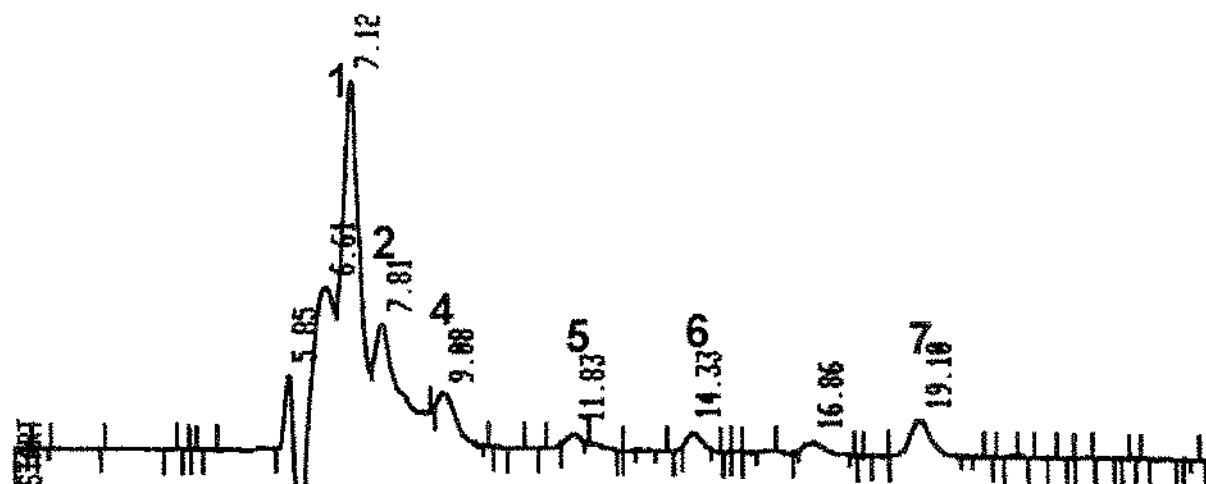
Anexo 01 – Cromatograma da solução padrão utilizada: 1 - Sacarose; 2 - Ácido cítrico; 3 - Glucose; 4 - Frutose; 5 - Ácido lático; 6 - Ácido acético; 7 - Etanol.



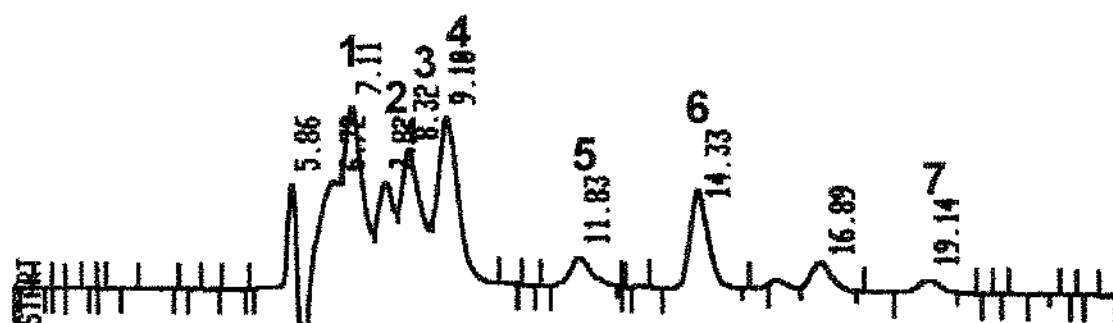
Anexo 02 – Cromatograma da amostra c1: 1 - Sacarose; 2 - Ácido cítrico.



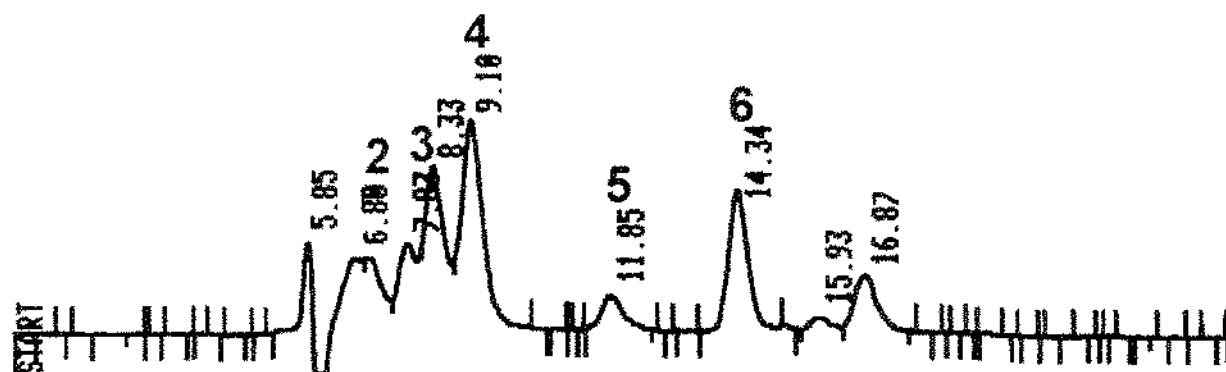
Anexo 03 – Cromatograma da amostra c2: 1 - Sacarose; 2 - Ácido cítrico; 4 - Frutose; 5 - Ácido láctico; 6 - Ácido acético; 7 - Etanol.



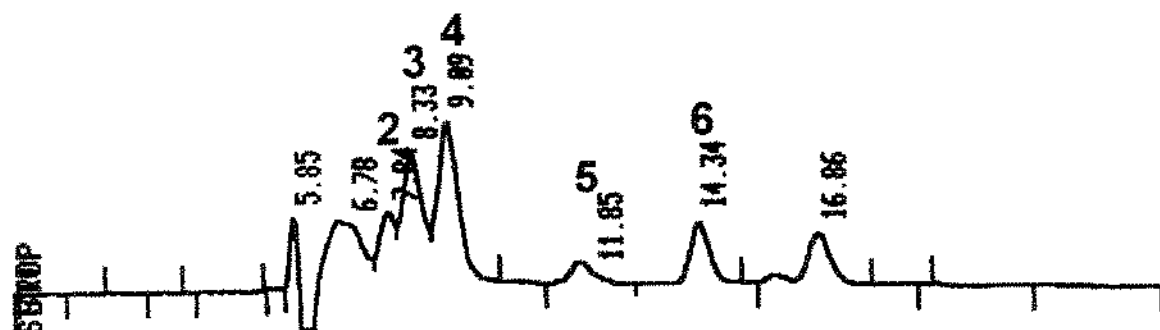
Anexo 04 – Cromatograma da amostra c3: 1 - Sacarose; 2 - Ácido cítrico; 3 - Glucose; 4 - Frutose; 5 - Ácido láctico; 6 - Ácido acético; 7 - Etanol.



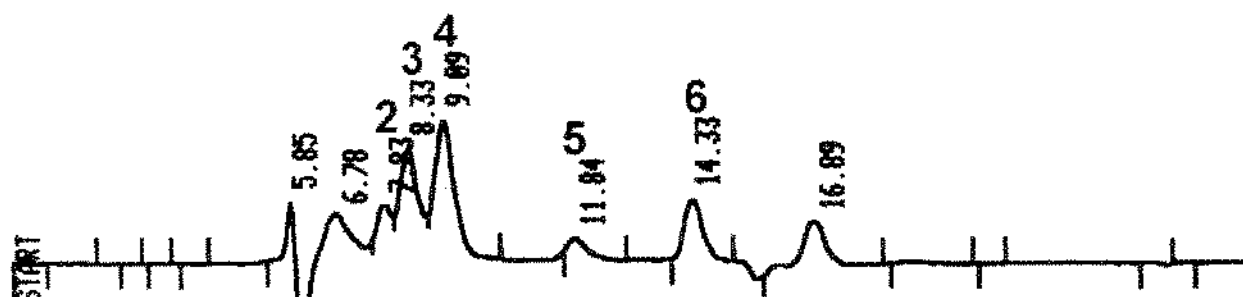
Anexo 05 – Cromatograma da amostra c4: 2 - Ácido cítrico; 3 - Glucose; 4 - Frutose; 5 - Ácido láctico; 6 - Ácido acético.



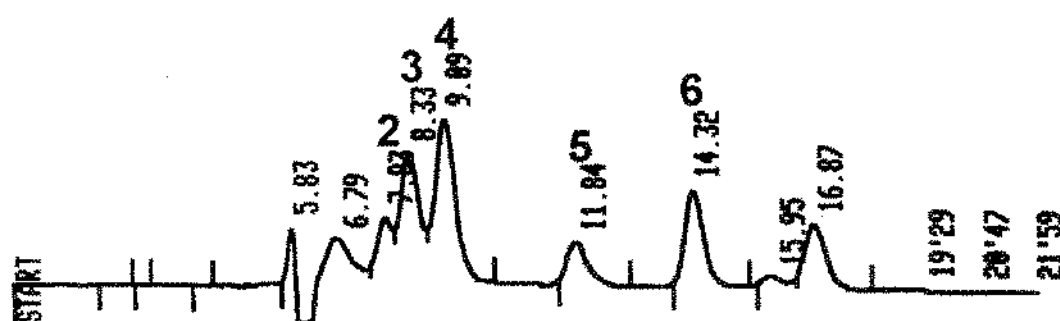
Anexo 06 – Cromatograma da amostra c5: 2 - Ácido cítrico; 3 - Glucose; 4 - Frutose; 5 - Ácido láctico; 6 - Ácido acético.



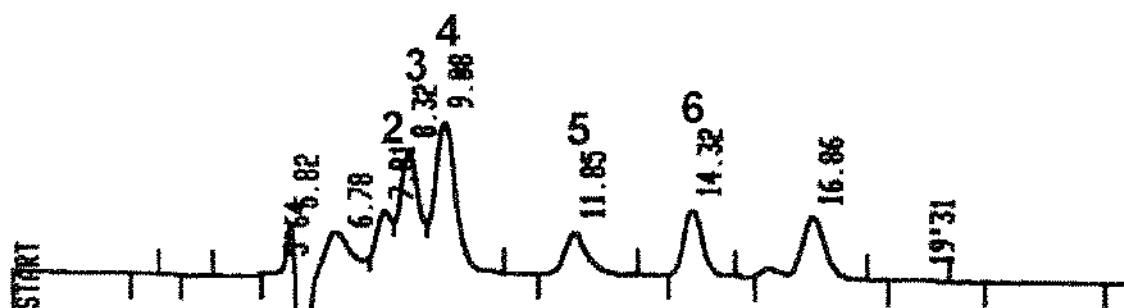
Anexo 07 – Cromatograma da amostra c6: 2 - Ácido cítrico; 3 - Glucose; 4 - Frutose;
5 - Ácido láctico; 6 - Ácido acético.



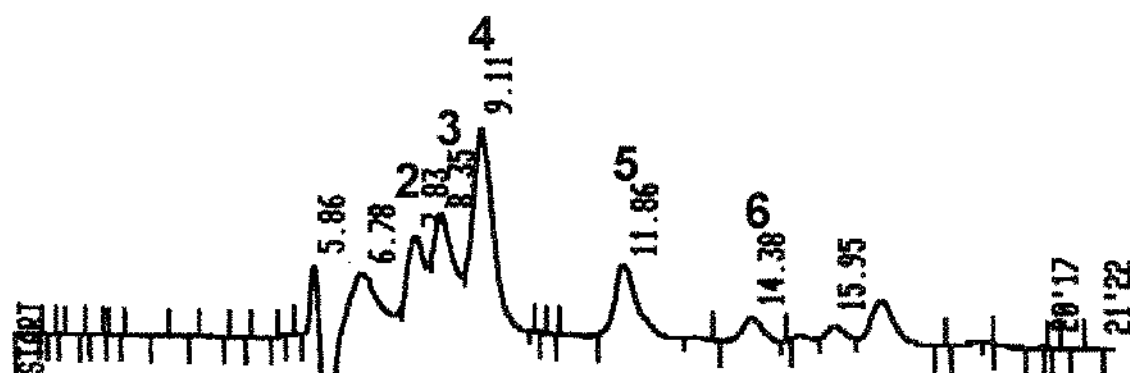
Anexo 08 – Cromatograma da amostra c7: 2 - Ácido cítrico; 3 - Glucose; 4 - Frutose;
5 - Ácido láctico; 6 - Ácido acético.



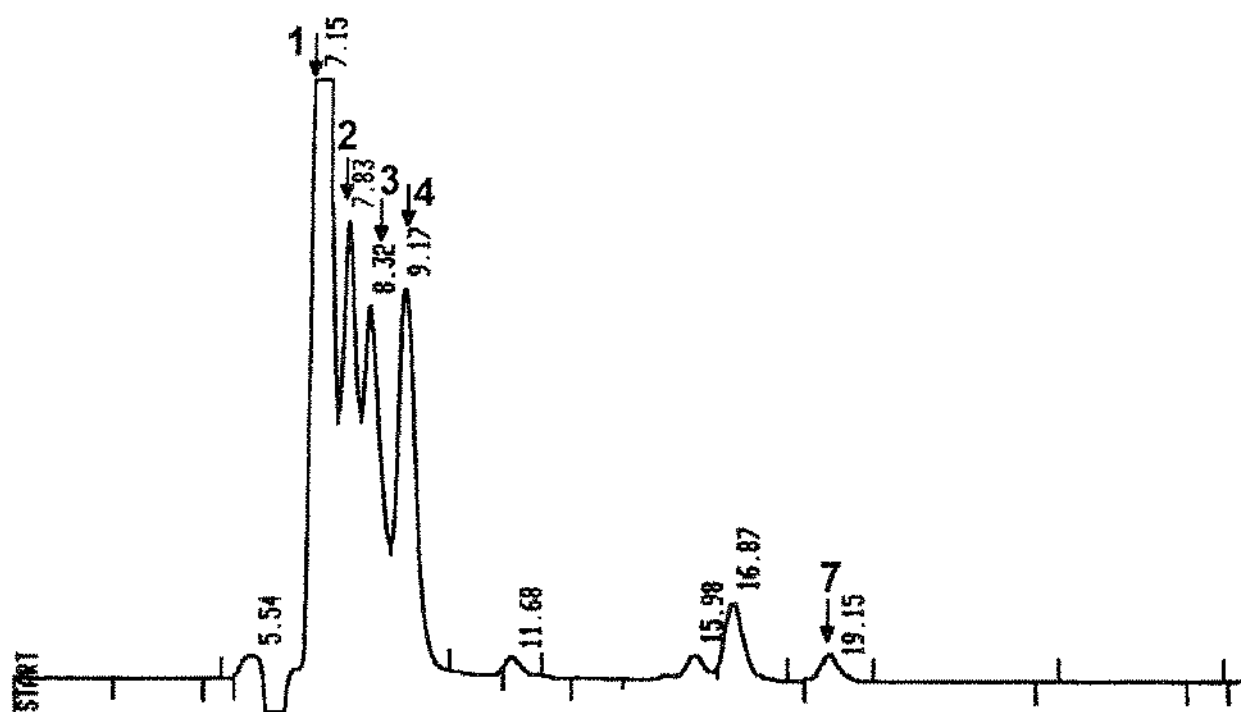
Anexo 09 – Cromatograma da amostra c8: 2 - Ácido cítrico; 3 - Glucose; 4 - Frutose; 5 - Ácido láctico; 6 - Ácido acético.



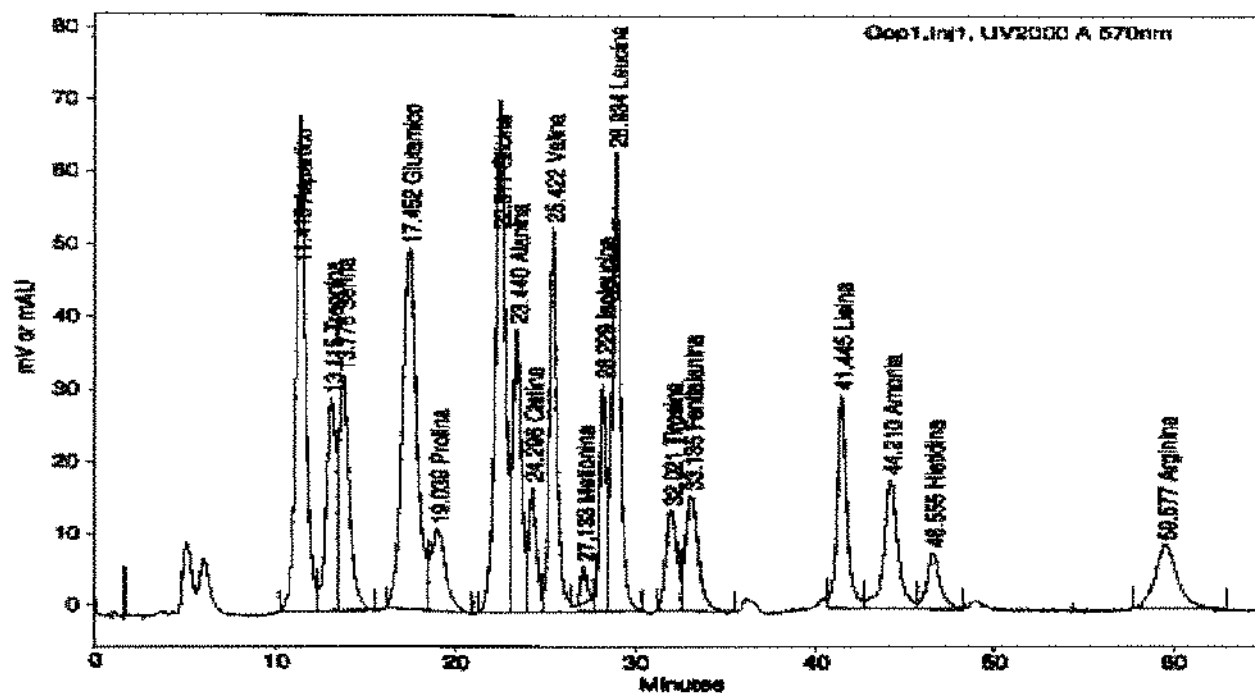
Anexo 10 – Cromatograma da amostra c9: 2 - Ácido cítrico; 3 - Glucose; 4 - Frutose; 5 - Ácido láctico; 6 - Ácido acético.



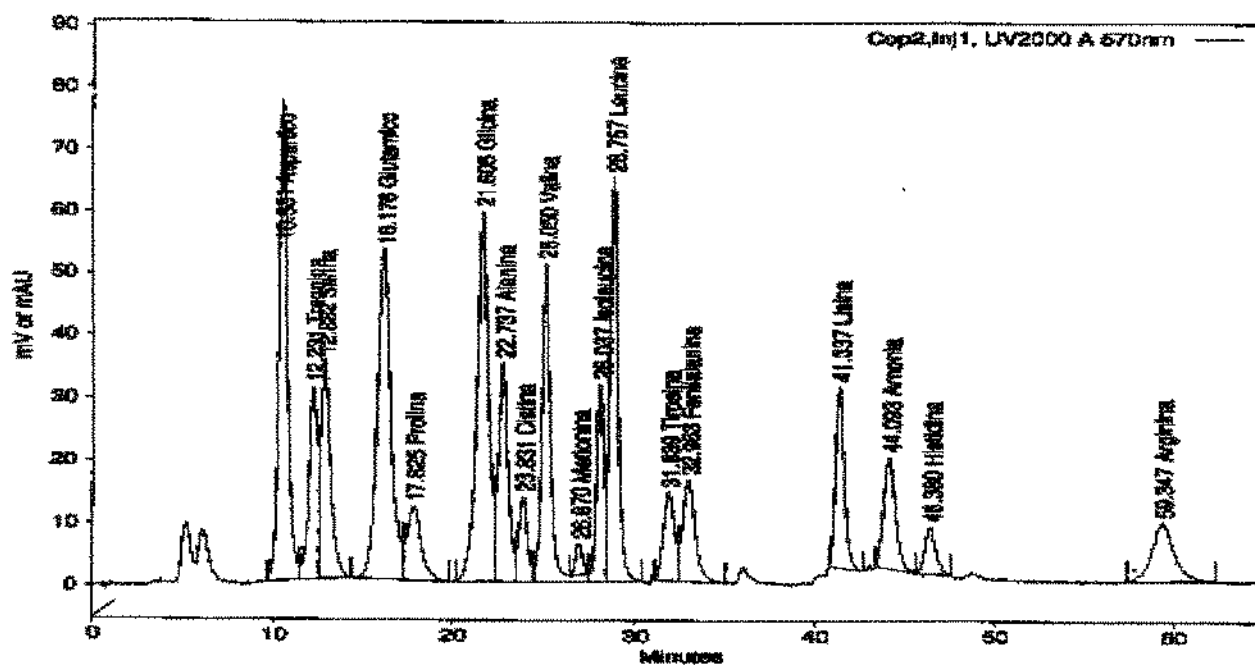
Anexo 11 – Cromatograma da polpa do cupuaçu: 1 - Sacarose; 2 - Ácido cítrico; 3 - Glucose; 4 - Frutose; 7 - Etanol.



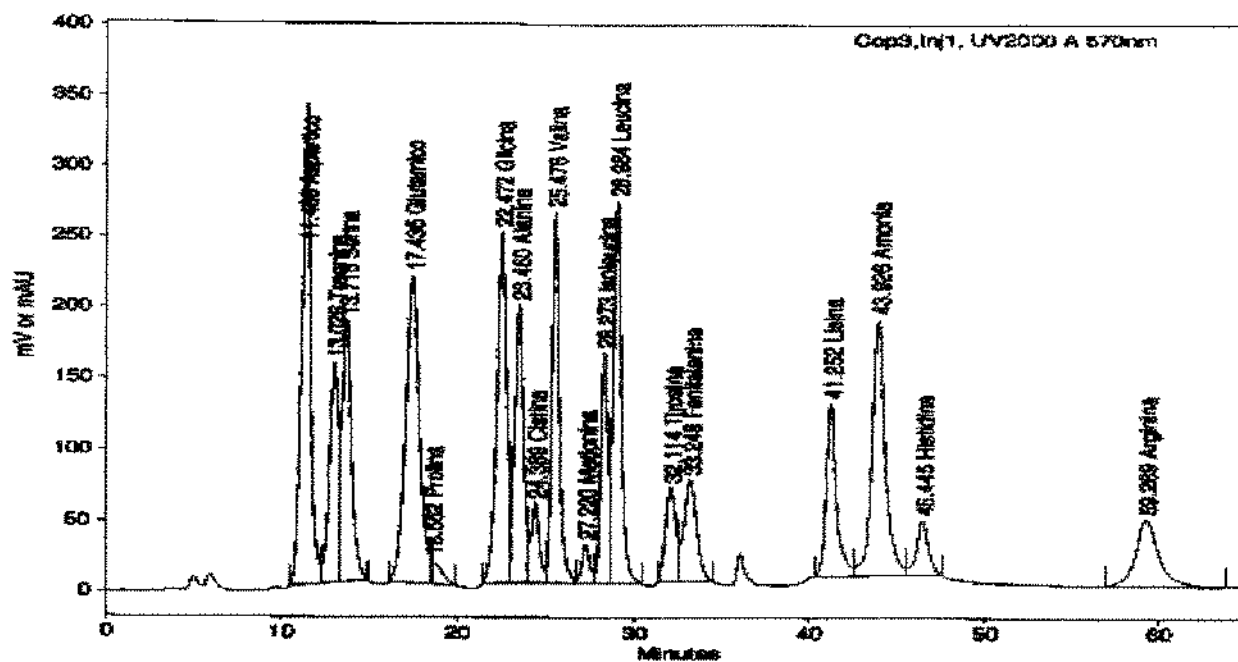
Anexo 12 - Cromatograma do perfil de aminoácidos da amostra c1.



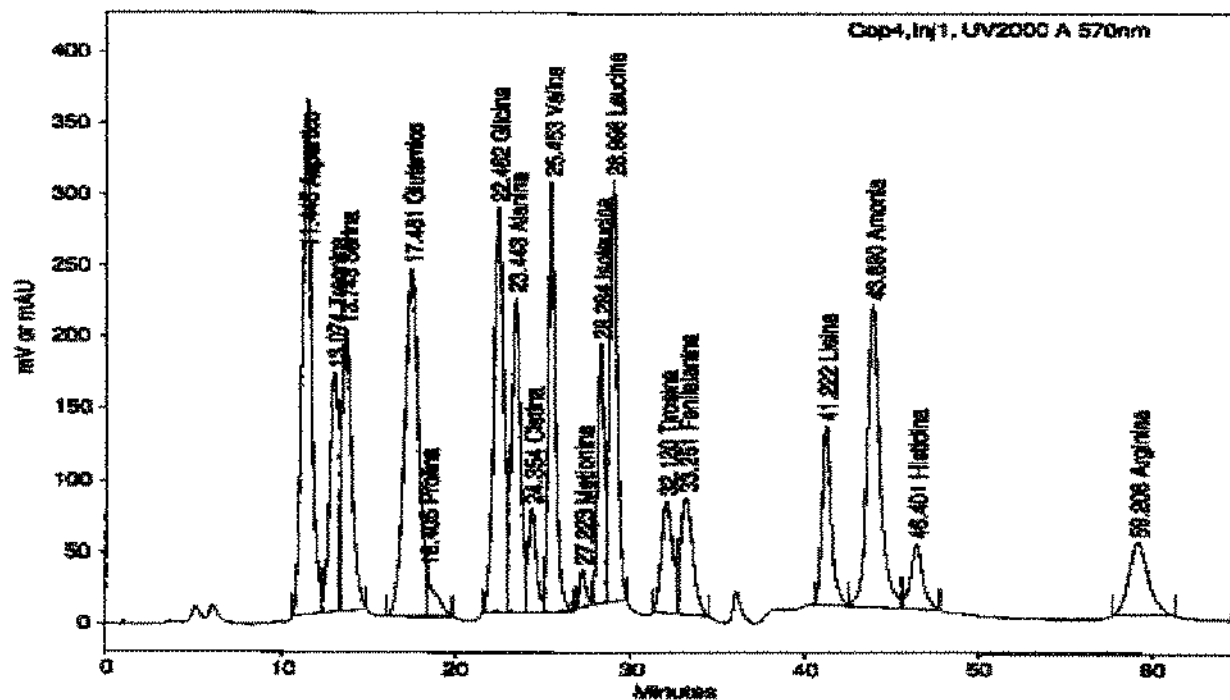
Anexo 13 - Cromatograma do perfil de aminoácidos da amostra c2.



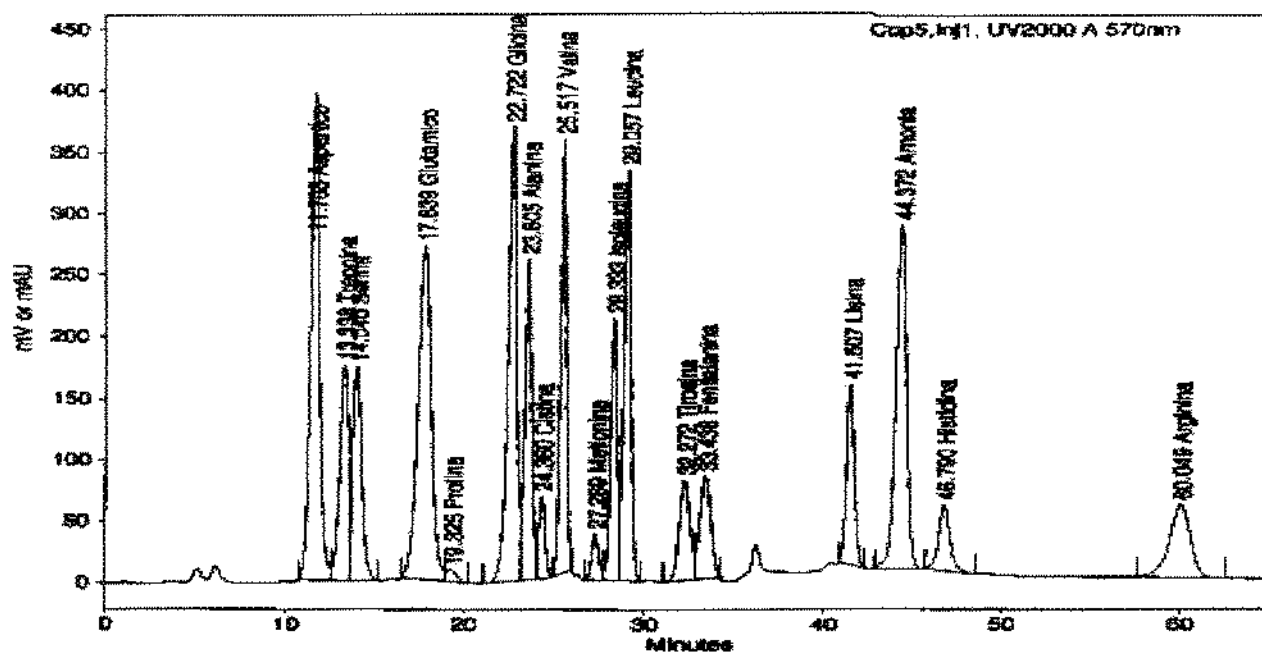
Anexo 14 - Cromatograma do perfil de aminoácidos da amostra c3.



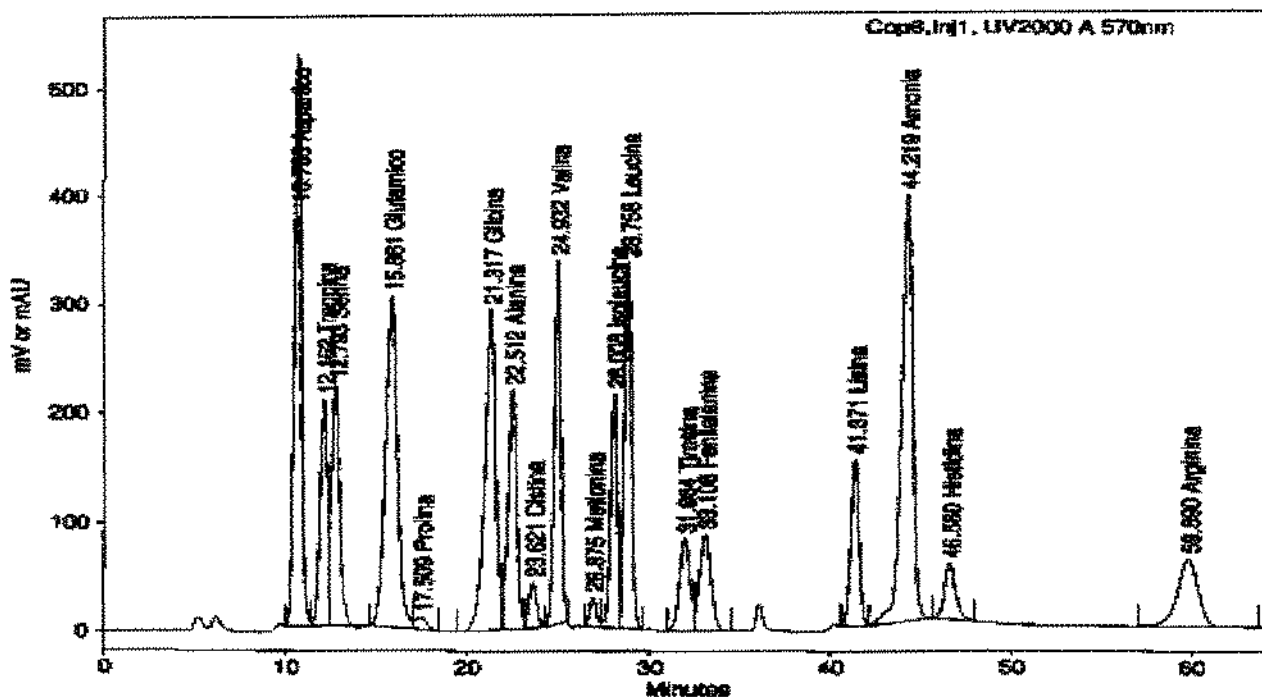
Anexo 15 - Cromatograma do perfil de aminoácidos da amostra c4.



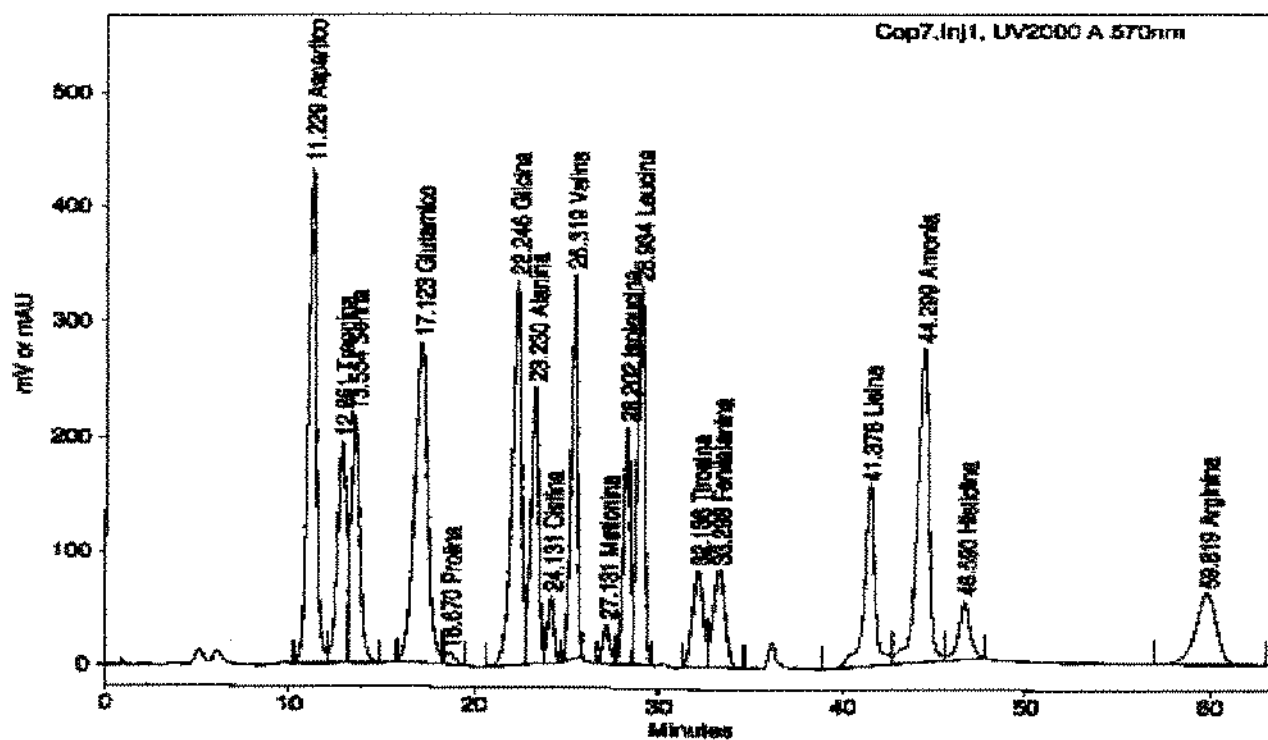
Anexo 16 - Cromatograma do perfil de aminoácidos da amostra c5.



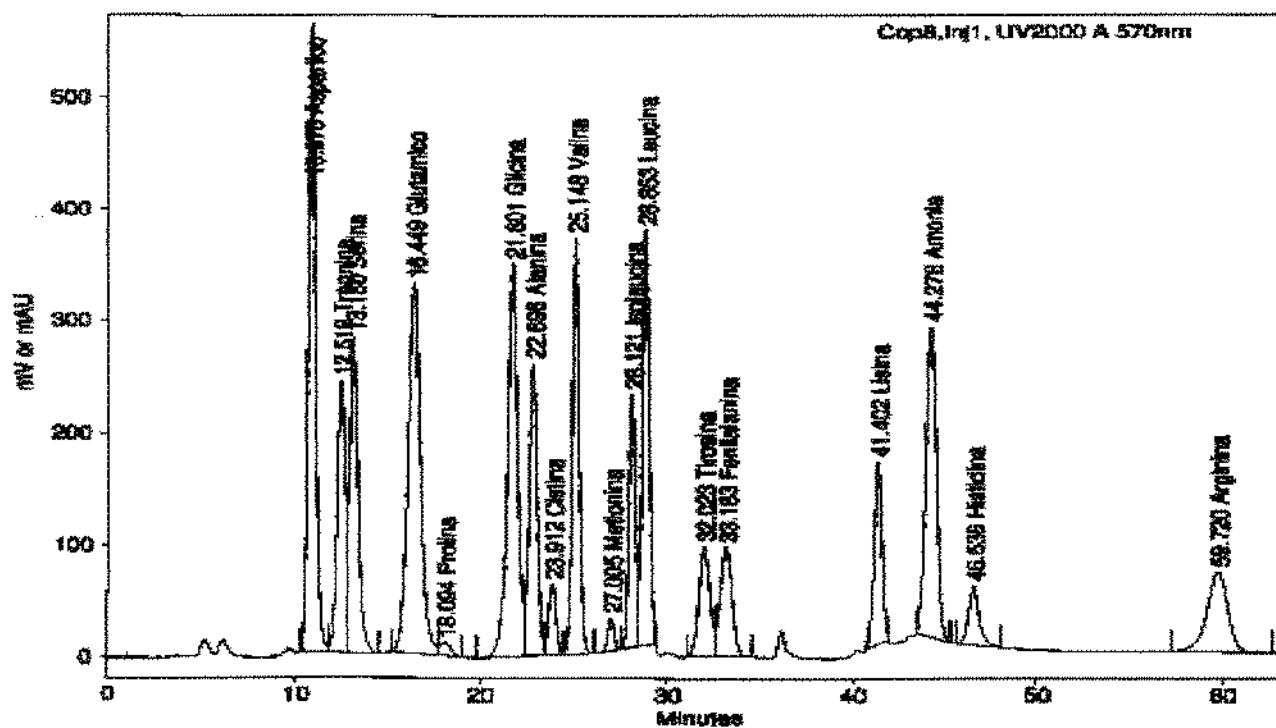
Anexo 17 - Cromatograma do perfil de aminoácidos da amostra c6.



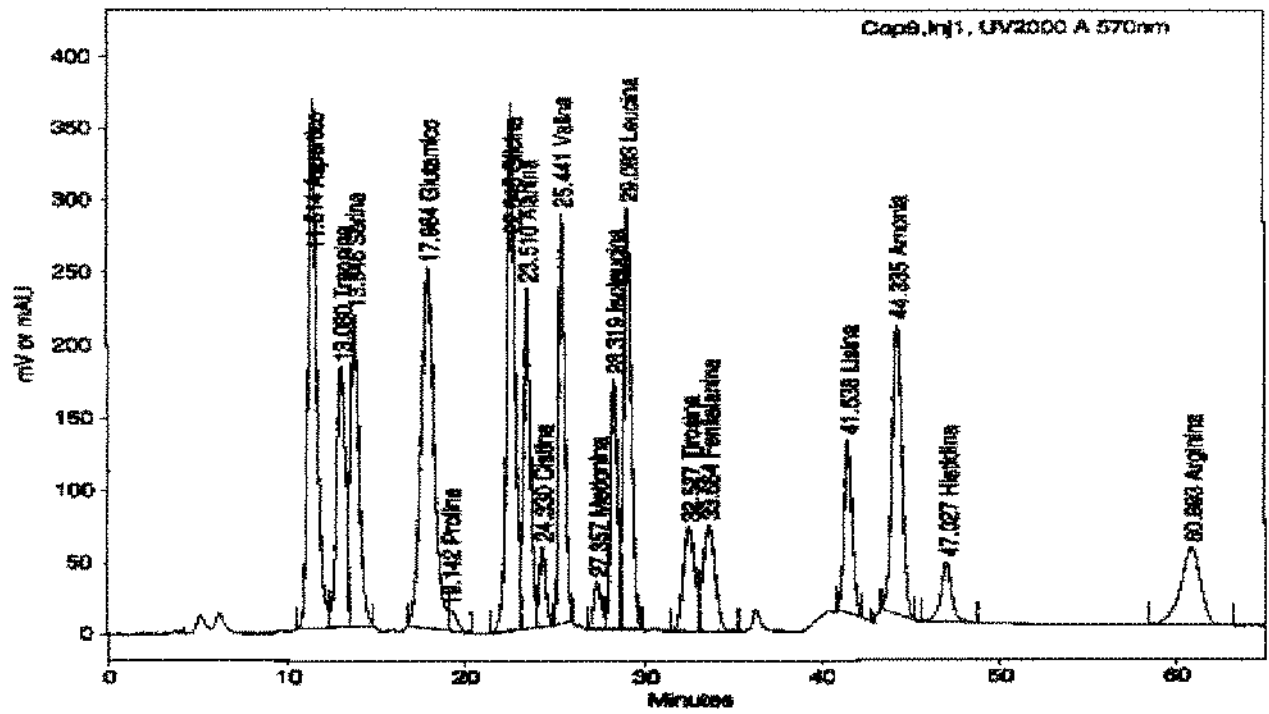
Anexo 18 - Cromatograma do perfil de aminoácidos da amostra c7.



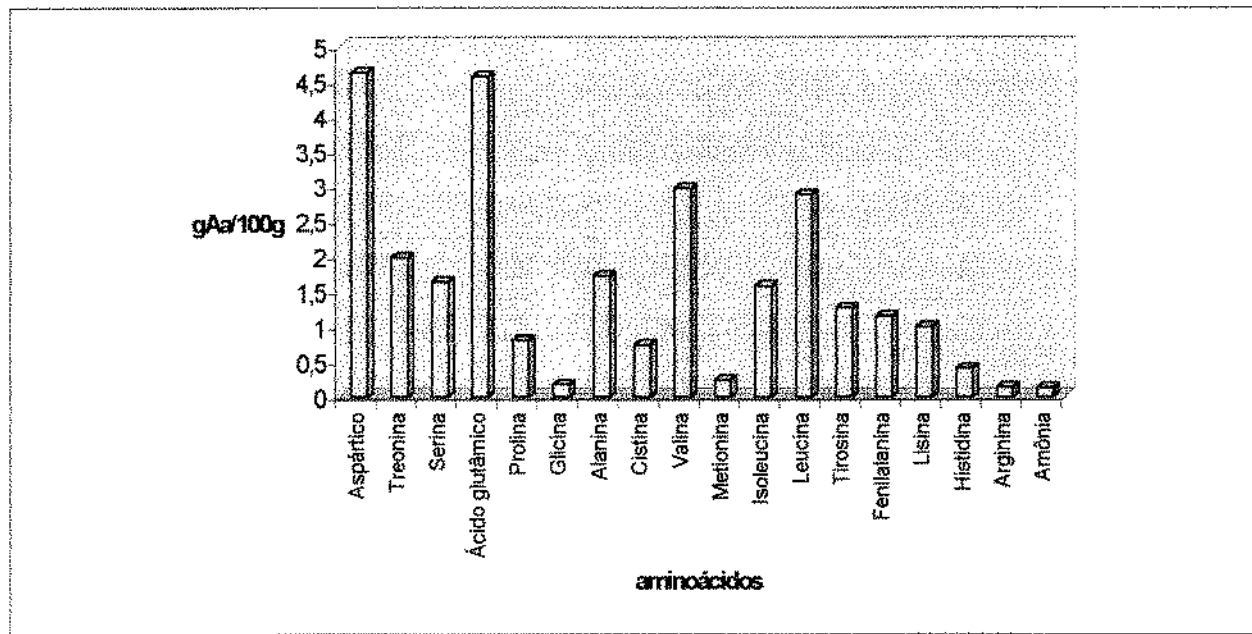
Anexo 19 - Cromatograma do perfil de aminoácidos da amostra c8.



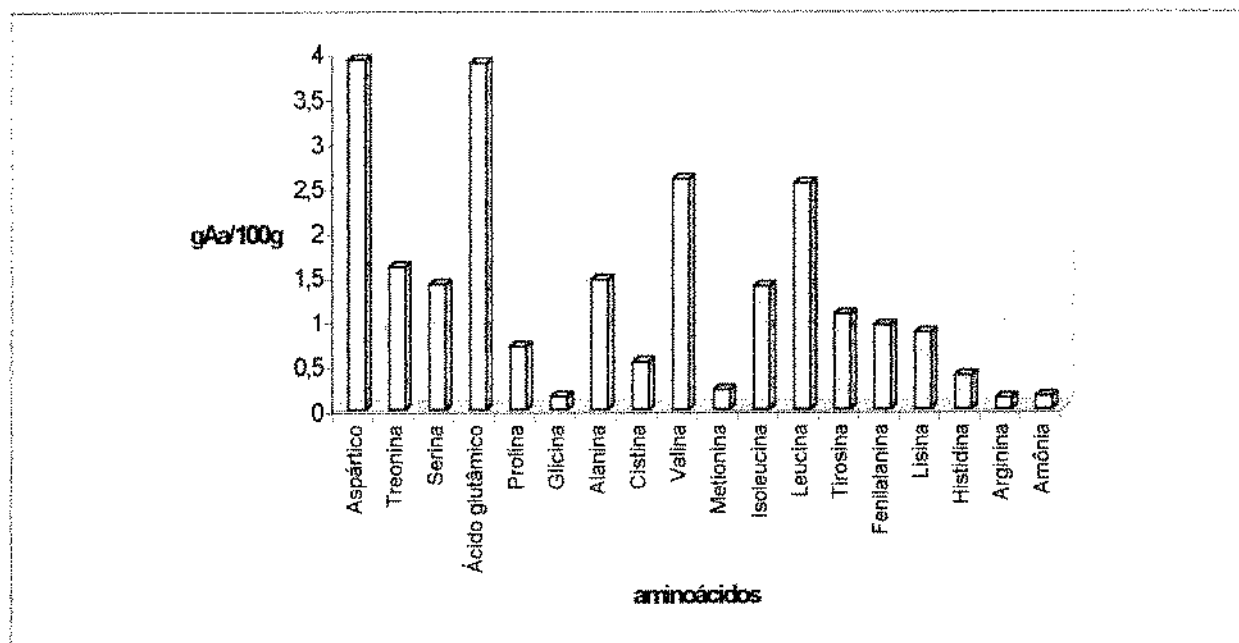
Anexo 20 - Cromatograma do perfil de aminoácidos da amostra c9.



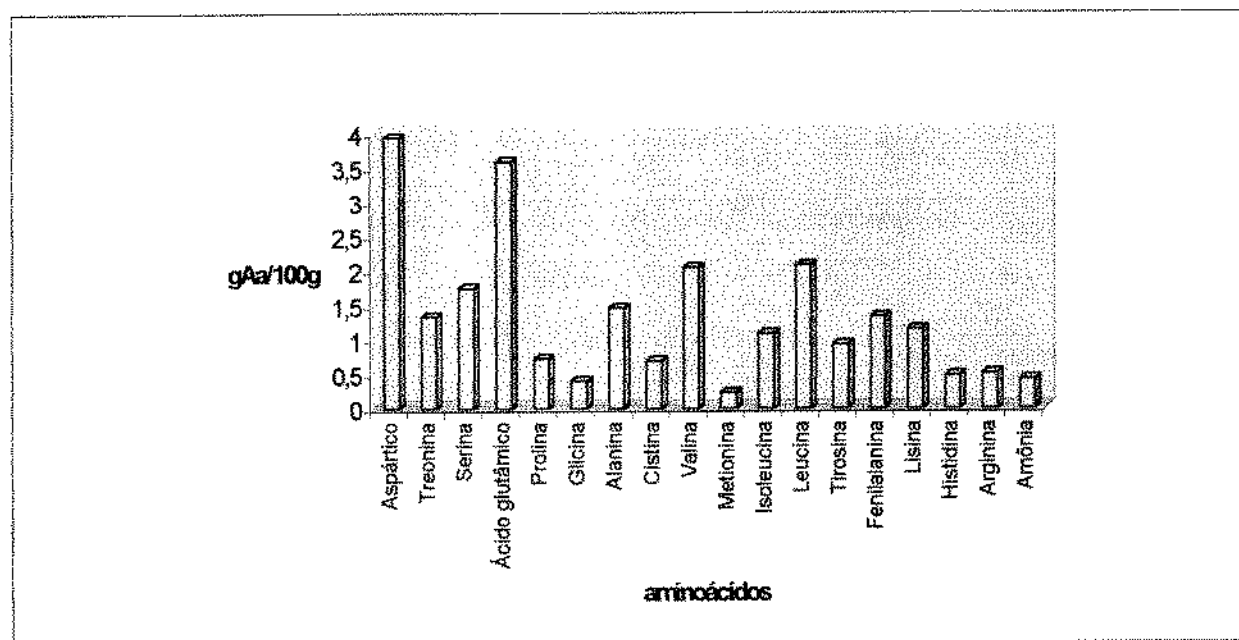
Anexo 21 – Histograma da composição de aminoácidos da amostra c1.



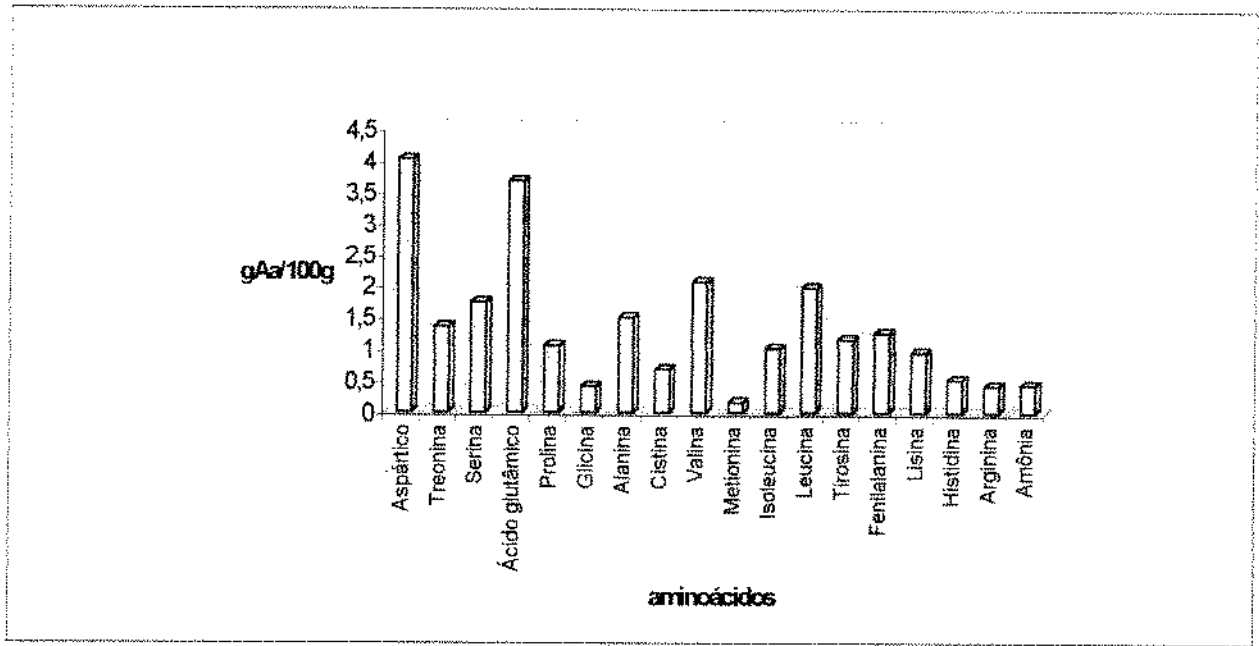
Anexo 22 – Histograma da composição de aminoácidos da amostra c2.



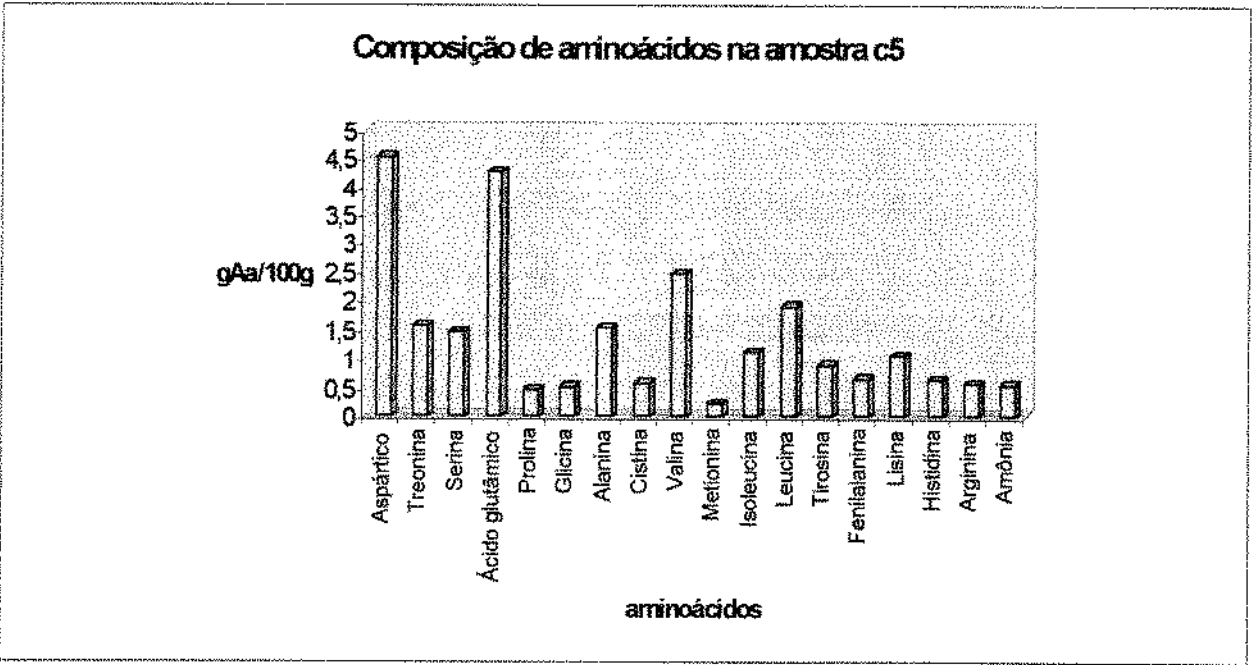
Anexo 23 – Histograma da composição de aminoácidos da amostra c3.



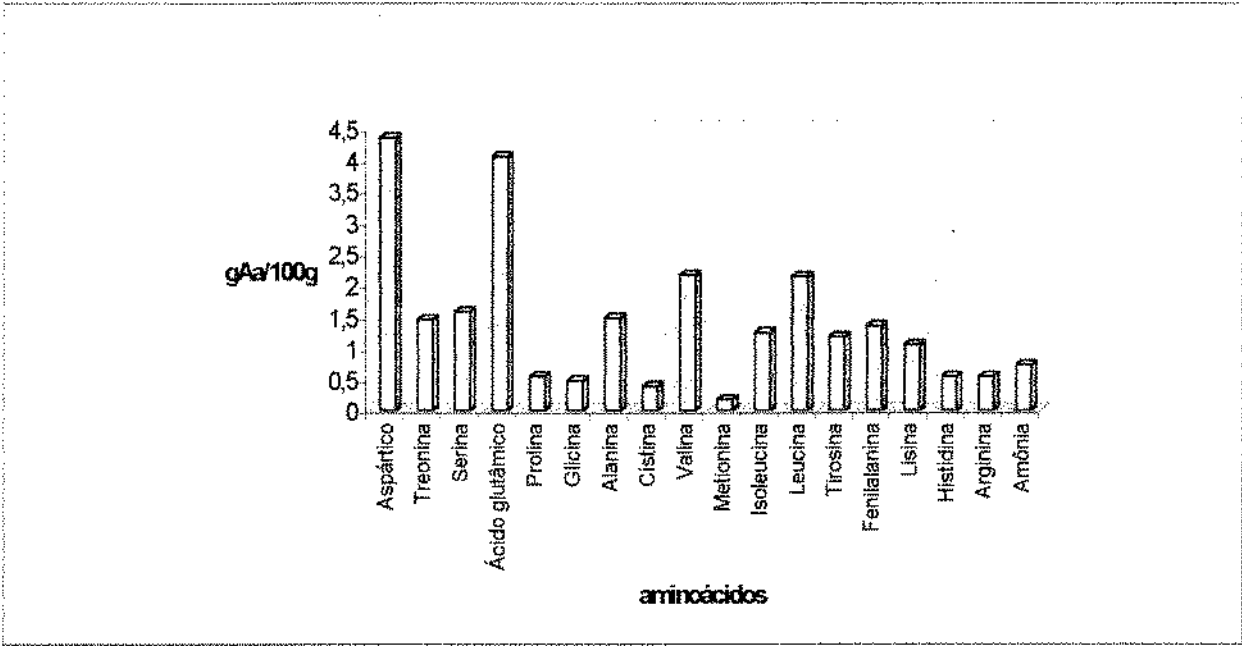
Anexo 24 – Histograma da composição de aminoácidos da amostra c4.



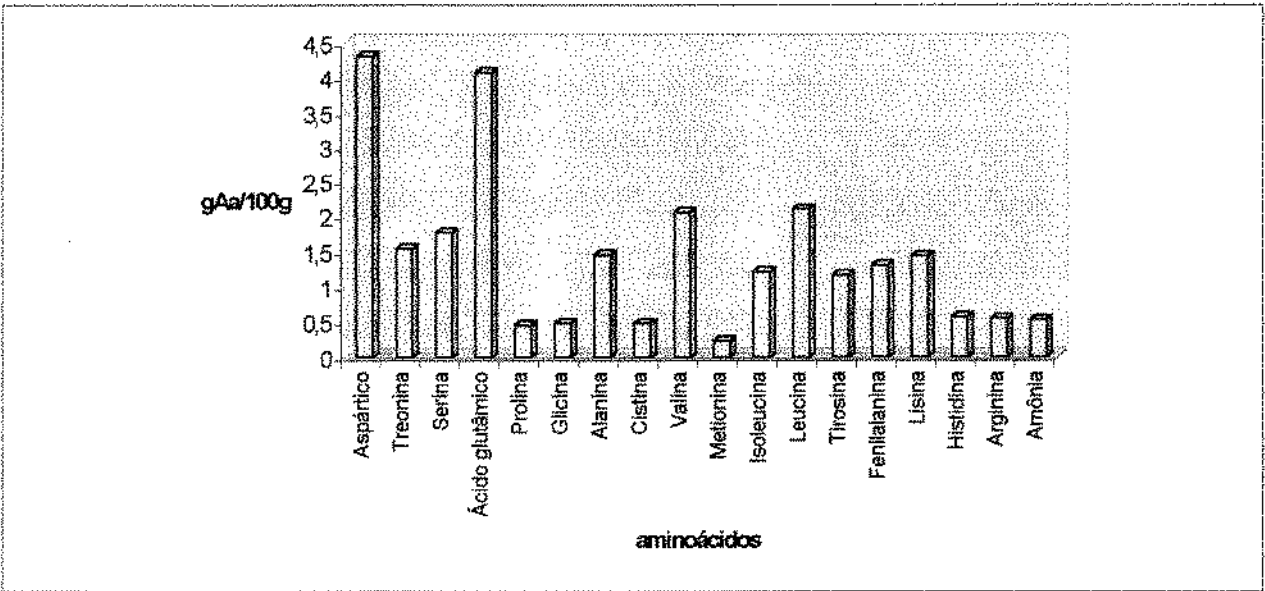
Anexo 25 – Histograma da composição de aminoácidos da amostra c5.



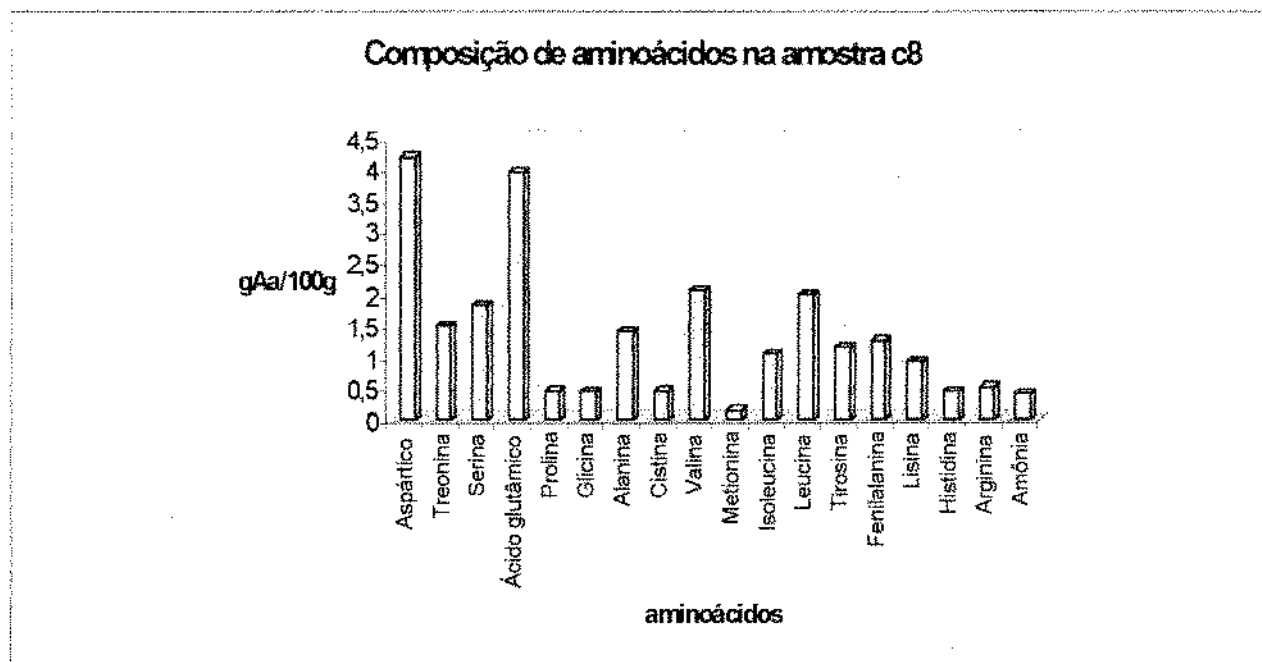
Anexo 26 – Histograma da composição de aminoácidos da amostra c6.



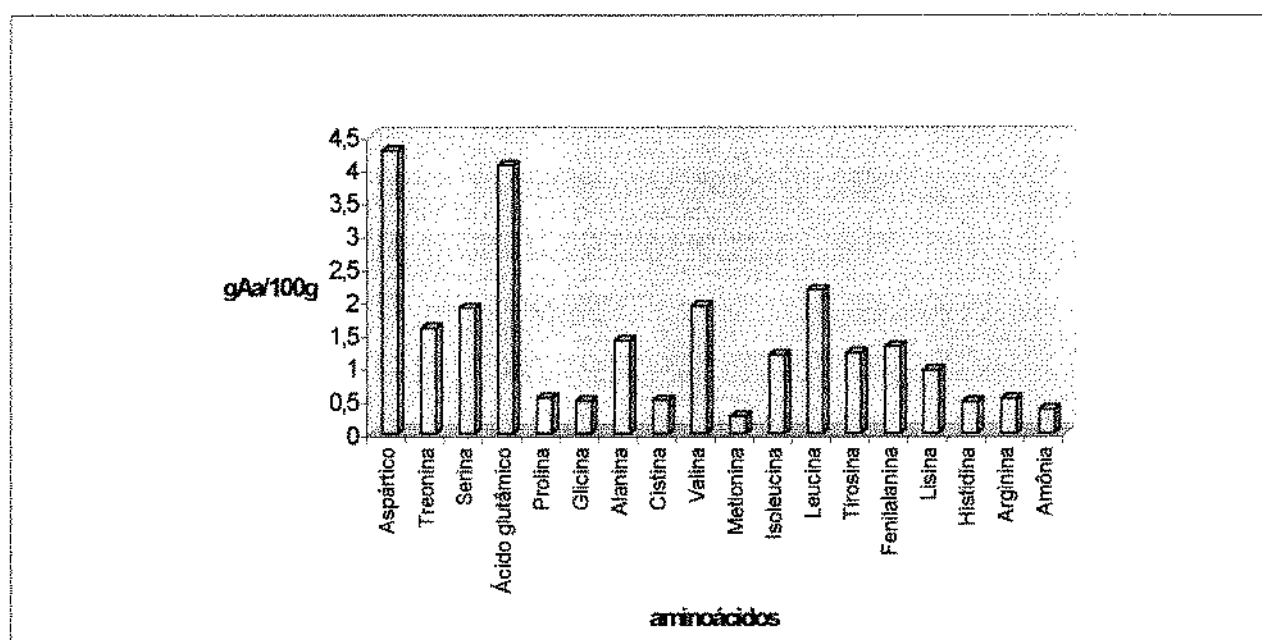
Anexo 27 – Histograma da composição de aminoácidos da amostra c7.



Anexo 28 – Histograma da composição de aminoácidos da amostra c8.



Anexo 29 – Histograma da composição de aminoácidos da amostra c9.



Anexo 30 – Histograma do total de aminoácidos gAa/100g por amostra de cupuaçu

