

Influência da fermentação e secagem de amêndoas de cacau no teor de compostos fenólicos e na aceitação sensorial

Influence of cocoa beans fermentation and drying on the polyphenol content and sensory acceptance

Priscilla EFRAIM^{3*}, Nelson Horácio PEZOA-GARCÍA¹, Denise Calil Pereira JARDIM³, Amanda NISHIKAWA⁴, Renato HADDAD², Marcos Nogueira EBERLIN²

Resumo

Devido à importância das etapas de fermentação e secagem das sementes de cacau para as características sensoriais dos produtos finais obtidos, bem como para os teores de compostos fenólicos presentes, objetivou-se avaliar a influência do tempo de fermentação e do tipo de secagem de sementes de cacau nos teores de compostos fenólicos, bem como nas características físicas, físico-químicas e sensoriais dos produtos obtidos. Os tempos de fermentação avaliados foram 3 e 7 dias e a secagem foi realizada naturalmente (ao sol) e artificialmente (estufa com circulação de ar a 35 °C). Os teores de compostos fenólicos totais, flavan-3-óis e procianidinas foram quantificados durante a fermentação e ao término da secagem. Constatou-se que grande parte dos compostos fenólicos foi perdida durante a fermentação, sendo que as amêndoas fermentadas por 3 dias apresentaram teores maiores dos compostos fenólicos avaliados. Contudo, observou-se nessa condição uma significativa perda na qualidade sensorial. A secagem natural das amêndoas fermentadas permitiu maior retenção de polifenóis e também melhores resultados sensoriais em relação à secagem artificial. A avaliação sensorial realizada com uma bebida formulada com o *liquor* obtido dos diferentes tratamentos demonstrou que a amostra fermentada durante 7 dias apresentou as melhores notas sensoriais, sendo que o produto seco naturalmente foi o mais bem avaliado em relação aos demais.

Palavras-chave: polifenóis; *Theobroma cacao* L.; procianidinas; flavan-3-óis.

Abstract

Due to the importance of the fermentation and drying stages in the sensory characteristics and in the phenolic content of cocoa products, the present study was carried out to evaluate the influence of the fermentation period and the type of drying of cocoa seeds, on the phenolic compounds content, as well as on the physical, physicochemical, and sensorial characteristics of the products. The periods of fermentation were 3 and 7 days and the fermented beans were dried naturally (sun drying) and artificially (under air circulation at 35 °C). The total phenolic compounds, flavan-3-ols and procyanidins content were quantified during fermentation and after drying. It was observed that most of the phenolic compounds were lost during the fermentation, and the beans that fermented for 3 days had higher levels of phenolic compounds. However, a significant loss in the sensorial quality was observed. The natural drying provided higher retention of phenols and the best sensorial results in comparison with artificial drying. The sensory evaluation, performed with a drink formulated with the liquor obtained from different treatments, showed that the product that fermented for 7 days presented the best sensorial notes, and the product dried naturally was considered the best among the others.

Keywords: polyphenols; *Theobroma cacao* L.; procyanidins; flavan-3-ols.

1 Introdução

O cacau é um fruto muito popular, pois a partir de suas sementes é obtido um dos alimentos mais conhecidos e apreciados: o chocolate. Seu sabor é condicionado não apenas a atributos genéticos do cacau (variedade), como também a modificações que ocorrem durante seu beneficiamento. Basicamente, após a colheita do cacau, são efetuadas as operações de abertura dos frutos, fermentação das sementes junto à polpa que as envolve, secagem e torração para obtenção da massa ou *liquor* de cacau, que será utilizado na obtenção de manteiga e pó de cacau, além de chocolates e produtos análogos (BECKETT, 1994). Durante essas etapas são gerados não apenas os precursores do sabor característico dos produtos

de cacau, como também compostos que não mais sofrerão modificações e que contribuirão para esse sabor. No entanto, concomitantemente, segundo relatos de diversos autores, nas etapas de fermentação e secagem, ocorrem as maiores perdas de compostos fenólicos presentes naturalmente e em elevadas quantidades nas sementes de cacau. Por um lado, esses compostos têm sido estudados há várias décadas devido à influência negativa que exercem no sabor, conferindo o amargor e a adstringência verificados em produtos com elevados teores desses compostos (DUTHIE, 1938; HALLAS; WIGHT, 1939 apud ROHAN; CONNELL, 1964; FORSYTH; QUESNEL, 1957; ROAHN; CONNELL, 1964; CROSS, VILLENEUVE;

Recebido para publicação em 18/4/2008

Aceito para publicação em 4/1/2009 (003430)

¹ Departamento de Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Engenharia de Alimentos –FEA, Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP, CEP 13083-862, Campinas – SP, Brasil

² Laboratório Thomson de Espectrometria de Massas, Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP, CEP 13083-862, Campinas – SP, Brasil

³ Departamento Cereal Chocotec, Instituto de Tecnologia de Alimentos – ITAL, CEP 13070-178, Campinas – SP, Brasil

⁴ Departamento de Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, UNICAMP, CEP 13083-970, Campinas – SP, Brasil

*A quem a correspondência deve ser enviada

VINCENT, 1982; VILLENEUVE; CROSS; MACHEIX, 1985; SHAUGHNESSY, 1992; BRITO, 2000; SOARES, 2001). Por outro lado, descobertas mais recentes sobre os efeitos benéficos desses compostos à saúde humana têm provocado interesse em mantê-los durante o processamento dos produtos obtidos do cacau, sem prejuízo do sabor (KEALEY et al., 1998; KEALEY et al., 2004; EFRAIM, 2004; RIZO, 2006).

A fermentação é uma etapa essencial para a obtenção de amêndoas de boa qualidade, devido a complexas reações bioquímicas que provocam a morte do embrião, hidrólise de açúcares e proteínas, liberação de enzimas e substratos, difusão de compostos fenólicos que entram em contato com as enzimas, entre outras (FORSYTH; QUESNEL, 1958; BECKETT, 1994; BRITO, 2000; EFRAIM, 2004). O tempo requerido para a fermentação das sementes é variável, segundo o material genético. Para a ocorrência das principais reações que levam à formação dos principais precursores de sabor do chocolate, as sementes de cacau do grupo *Forastero*, tipo predominante em todo o mundo, inclusive no Brasil, devem ser, geralmente, fermentadas por períodos superiores a cinco dias (BECKETT, 1994).

De acordo com Zumbé (1998) e Brito (2000), as sementes de cacau não fermentadas possuem de 6 a 8 % de seu peso seco de compostos fenólicos. De acordo com Brito (2000), 60% dos polifenóis encontrados são flavanóis (monômeros individuais: (+)-catequinas e (-)-epicatequinas) e procianidinas ((+)-catequinas e (-)-epicatequinas condensadas). Os polifenóis do cacau encontram-se armazenados nas células de pigmentos dos cotilédones das sementes juntamente com outros compostos como as metilxantinas cafeína e teobromina, ácidos graxos saturados e monoinsaturados (BRITO, 2000). Durante a fermentação das sementes, uma das primeiras etapas do processamento para obtenção de derivados de cacau, ocorre a morte do embrião ou gérmen. Com isso, os compostos fenólicos entram em contato com enzimas como a polifenoloxidase e glicosidases presentes nas sementes (FORSYTH; QUESNEL, 1958), sofrendo reações de oxidação, complexações com proteínas, formação de compostos denominados quinonas, que por sua vez sofrem condensação covalente com os grupos reativos de aminoácidos, peptídeos, proteínas e fibras (CROSS; VILLENEUVE; VINCENT, 1982; BRITO, 2000). Dessa forma, durante a etapa de fermentação, o teor de polifenóis totais diminui cerca de 70%, e o teor de epicatequina, composto fenólico do grupo dos flavanóis, diminui cerca de 90%.

A etapa de secagem deve ser iniciada imediatamente após a fermentação e não deve ser lenta ou mal conduzida para evitar o desenvolvimento de fungos que podem conferir sabor desagradável ao produto final ou produzir toxinas prejudiciais à saúde (CRESPO, 1985). Por outro lado, não deve ser efetuada de forma demasiadamente rápida, com o emprego de temperaturas elevadas, para evitar a migração de manteiga de cacau para a testa (película que envolve a amêndoa) e afetar o desenvolvimento do sabor característico de chocolate. Muitas das reações bioquímicas iniciadas na fermentação continuam na secagem (ROHAN; STEWART, 1967; LOPEZ; QUESNEL, 1973). Jinap, Thien e Yap (1994) avaliaram o efeito da secagem na acidez e no teor de ácidos graxos voláteis em amêndoas de cacau, não sendo observadas, por equipe de provadores treinada, diferenças sensoriais significativas entre os produtos obtidos da secagem natural e artificial. De acordo com Faborde, Favier e Ajayi (1995), a secagem natural, ao sol, permite que se

obtenham produtos de melhor qualidade sensorial. São escassos os trabalhos que tenham avaliado a influência do tipo de secagem sobre a perda de compostos fenólicos. Kyi et al. (2005) determinaram a cinética da reação de oxidação de polifenóis em amêndoas de cacau durante a secagem em temperaturas variando entre 40 e 60 °C e em umidades entre 50 e 80%. Os autores verificaram que, quanto maior a temperatura e a umidade, maior a oxidação dos polifenóis presentes no cacau. Durante a etapa de secagem, que tem como objetivo reduzir a umidade das amêndoas, tornando-as estáveis ao armazenamento, verifica-se a continuidade das reações de oxidação iniciadas na fermentação, levando à redução do amargor, da adstringência e da acidez das amêndoas, além do escurecimento dos cotilédones, contribuindo com a formação dos precursores de sabor desejáveis de chocolate (BECKETT, 1994). A secagem natural, realizada ao sol, é uma operação simples e bastante utilizada em fazendas cacauceiras. No Brasil, é normalmente realizada em plataformas de madeira, denominadas barcaças, onde as sementes são espalhadas e frequentemente revolidas para propiciar uniformização e redução da umidade e para a remoção de compostos indesejáveis formados durante a fermentação, como por exemplo o ácido acético (GARCIA, 1985). Em dias de chuva ou quando o espaço disponível nas barcaças não é suficiente para comportar o volume de produção, tem-se como alternativa a secagem artificial. No Brasil, em lugares onde a colheita coincide com épocas chuvosas, a secagem artificial é extremamente importante (LAJUS, 1982). Nesse sentido, de acordo com Passos et al. (1984), o tipo de secagem influencia a acidez das amêndoas, sendo que, na secagem natural, a perda da acidez, tanto volátil quanto total, é maior em comparação com a secagem realizada por processos artificiais.

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

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

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

Com isso, o presente estudo objetivou avaliar a influência do tempo de fermentação (durante 3 e 7 dias) e do tipo de secagem (artificial e natural) na perda de compostos fenólicos totais e flavan-3-óis (de monômeros a pentâmeros), bem como nas características físico-químicas e sensoriais dos produtos obtidos.

2 Material e métodos

2.1 Processamento

Fermentação e secagem

Foram utilizados frutos de cacau do grupo *Forastero*, obtidos por polinização aberta e colhidos em novembro de 2002 no município de Teixeira de Freitas – BA. Os parentais paternos dos frutos não são conhecidos. Os frutos foram partidos após 48 horas da colheita e as sementes com polpa foram separadas e submetidas imediatamente à fermentação em caixas de isopor de 4,3 kg, de acordo com Soares (2001), durante 3 dias (condição que tem sido utilizada no Brasil em fazendas cacauceiras da Bahia em épocas de baixa disponibilidade de cacau) e 7 dias (tempo médio ideal para fermentação de sementes do grupo *Forastero*). As sementes de cacau no interior das caixas foram revolvidas para oxigenação e homogeneização do material a partir de 48 horas do início da fermentação e a cada 24 horas, até o final da etapa. Ao término das fermentações de 3 e 7 dias, parte das amêndoas foi seca naturalmente ao sol durante 10 dias e o restante artificialmente em estufa com circulação de ar em temperatura média de entre 35 °C durante 3 dias, até que a umidade máxima ficasse entre 6,0 e 8,0 % (BRASIL, 2008). No início das fermentações e após 3 e 7 dias, foram recolhidas amostras que foram congeladas e liofilizadas para análise de polifenóis.

Quebra das amêndoas e obtenção dos nibs

As amêndoas fermentadas e secas foram quebradas em moinho de facas marca ICMA, tipo Rietz. A testa (película que envolve as amêndoas) e o gérmen foram separados por peneiragem e por diferença de densidade em coluna de ar de 3 m de altura, construída em PVC, com circulação de ar gerado por um compressor de aproximadamente 4 m³/s, da parte inferior para a superior.

Torração dos nibs e obtenção dos liquors

A torração foi realizada em forno elétrico rotativo PROBAT-WERKE (Von Goringen Maschinenfabrik GmbH), modelo PRE17, com temperatura na camisa de aquecimento de 150 °C durante 38 minutos (FADINI, 1998), em lotes de 300 g. Após a torração, foi realizada a moagem dos nibs em liquidificador ARNO para redução do tamanho das partículas de 2,38-4,76 mm para aproximadamente 1,20 mm. Posteriormente, o material foi refinado em moinho DRAISWERKE GMBH de três cilindros, resfriados internamente com banho termostático. A distância entre os cilindros foi ajustada para que o tamanho máximo das partículas fosse de 40 µm. O controle foi realizado com micrômetro digital marca Mitutoyo, com escala de 0 a 25 mm, de acordo com o método utilizado por Efraim (2004) para a obtenção de *liquor* de cacau.

O fluxograma apresentado na Figura 1 ilustra as etapas do processo.

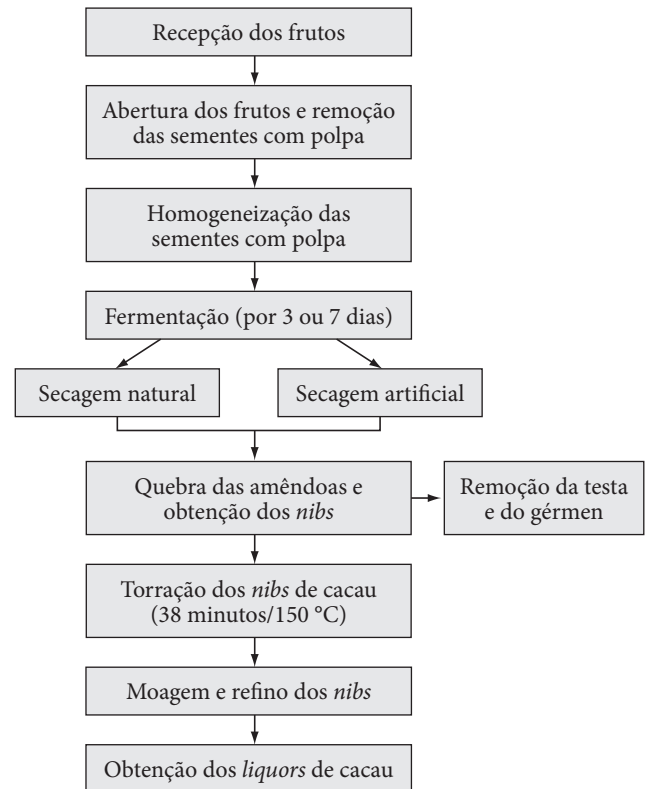


Figura 1. Fluxograma geral do processamento das sementes de cacau até a obtenção dos *liquors*.

2.2 Determinações analíticas

Caracterização física e físico-química das amêndoas fermentadas e secas

Prova de Corte

Através de um corte longitudinal nas amêndoas, foi avaliada sua qualidade em função do grau de fermentação, considerando a coloração e a compartimentação dos cotilédones. A compartimentação é um dos indicadores da ocorrência de importantes reações bioquímicas durante a fermentação e secagem, como a ruptura das membranas celulares e o contato de substâncias que antes encontravam-se separadas. Foram avaliadas 100 amêndoas de cada processo estudado. A avaliação foi realizada em triplicata (BRASIL, 2008).

Determinações físico-químicas

Foram realizadas em triplicata.

- Teor de proteínas (nitrogênio total), segundo o método Kjeldahl, 31.1.08 (HORWITZ, 2005);
- Teor de lipídios totais, de acordo como o método 963.15, item 31.4.02 (HORWITZ, 2005), com refluxo por 18 horas para maior eficiência na extração da gordura, em uma bateria de extração Soxhlet da marca Tecnal modelo TE-188;

- Teor de umidade, em estufa com circulação de ar FANEM, modelo 320s/c de acordo com o método 977,10, (HORWITZ, 2005);
- Cinzas, em mufla ENGRO, modelo 355-L método 972,15, (HORWITZ, 2005); e
- pH e acidez total titulável, de acordo, respectivamente, com os métodos 970.21, item 31.1.07 e 11.14.3 (HORWITZ, 2005), em pHmetro Tecnal modelo TE-2 e com bureta de 30 mL.

As determinações foram realizadas em triplicata.

Determinações dos compostos fenólicos

No experimento de fermentação por 3 dias, foram recolhidas amostras para a determinação dos compostos fenólicos no início e ao término da fermentação e após as secagens natural e artificial. No experimento de fermentação por 7 dias, foram recolhidas amostras no início da fermentação, após 3 e 7 dias e ao término das secagens natural e artificial. As amostras coletadas foram liofilizadas, quando necessário (material que continha elevada umidade), descascadas e moídas com injeção de nitrogênio gasoso para evitar a oxidação e a consequente degradação dos compostos de interesse. A extração de gordura foi realizada de acordo com Efraim et al. (2006).

- polifenóis totais, realizada segundo o método de Amerine e Ough (s.d) e adaptado por Efraim et al. (2006), sendo que a absorbância foi mensurada em um espectrofotômetro Beckmann, modelo DU70 a 765 nm e a curva padrão foi feita com ácido tânico Sigma.
- flavan-3-óis (monômeros) e procianidinas (dímeros a pentâmeros), a extração dos compostos foi feita de acordo com Hammerstone et al. (1999) e a quantificação relativa foi realizada em espectrômetro de massas Q-Trap com interface de ionização por *electrospray* de acordo com Efraim et al. (2006), adaptado de Wollgast et al. (2001).

2.3 Avaliação sensorial

Considerando que o *liquor* de cacau não é um produto consumido diretamente por apresentar características de sabor muito agressivas, principalmente elevado amargor e adstringência, preparou-se uma bebida à base de água quente, *liquor* e açúcar, de acordo com SOARES (2001). Foram misturados 18 g de *liquor*, 12 g de leite em pó desnatado e 12 g de açúcar refinado, adicionados de 100 mL de água a 50 °C, em agitador IKA modelo Ultra-Turrax UTC durante 5 minutos. A bebida foi servida em porções de 50 mL, a 40 °C.

A avaliação sensorial foi realizada por um grupo de 30 provadores consumidores de bebida achocolatada em geral, sem restrição quanto à idade, classe social ou sexo. A avaliação foi realizada de forma monádica em cabines individuais e as amostras foram avaliadas quanto à aceitação global, aroma e sabor, por meio de escala hedônica estruturada de 9 pontos (9 = gostei muitíssimo, 5 = não gostei nem desgostei e 1 = desgostei muitíssimo) e quanto à adstringência e ao amargor em uma escala estruturada de 9 pontos (-4 = intensidade

extremamente maior que a ideal, 0 = intensidade ideal e 4 = intensidade extremamente menor que a ideal) (MEILGAARD; CIVILLE; CARR, 1988).

2.4 Análise estatística

Os dados obtidos na caracterização físico-química e na análise sensorial foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA) e ao teste de Tukey para determinação da diferença entre as médias, utilizando-se o software SAS (Statistical Analysis System) (SAS®,1993).

3 Resultados e discussão

3.1 Caracterização física e físico-química das amêndoas de cacau

Prova de corte

A Tabela 1 apresenta os resultados da prova de corte realizada nas amêndoas fermentadas e secas dos diferentes experimentos.

De acordo com a Tabela 1, observa-se um maior número de amêndoas com coloração marrom no experimento de fermentação por 7 dias e secagem natural. Por outro lado, verificou-se um número elevado de amêndoas com coloração violácea e nenhuma amêndoa com coloração marrom nos experimentos de fermentação por 3 dias com secagens natural e artificial. Na fermentação por 3 dias e secagem natural houve incidência de, em média, 7 amêndoas com cotilédones marrons. Observa-se, ainda, que os experimentos de fermentação conduzidos por 7 dias resultaram em maior quantidade de amêndoas com cotilédones bem compartimentados, sendo essas consideradas bem fermentadas.

Previamente à fermentação, os cotilédones das sementes de cacau, principalmente do grupo *Forastero*, possuem coloração violácea intensa, devido à presença de compostos fenólicos da classe das antocianinas. Durante a fermentação e a secagem, as diversas reações bioquímicas que ocorrem no interior das sementes levam à oxidação dos compostos fenólicos e, conseqüentemente, ao escurecimento dos cotilédones, que passam a apresentar coloração marrom. Dessa forma, o elevado número de amêndoas com coloração violácea verificado nos experimentos de fermentação por 3 dias é um indicativo de que algumas das reações bioquímicas responsáveis pela formação dos precursores do sabor característico de chocolate podem não ter ocorrido satisfatoriamente, possivelmente comprometendo a qualidade das amêndoas para a obtenção de produtos de cacau, como *liquor*, cacau em pó e chocolate (BECKETT, 1994; FERNANDÉZ-BARBERRY, 1999; SOARES, 2001). No Brasil atualmente, a baixa produtividade da maior região agrícola cacauífera (região sul da Bahia) e a elevada demanda por amêndoas fermentadas e secas pelas indústrias processadoras vêm provocando a redução do tempo de fermentação de 6 a 7 dias para 2 a 3 dias, levando não apenas à queda na qualidade dos produtos de cacau, como também a problemas tecnológicos para o seu processamento pelas indústrias.

Durante a fermentação, com a morte do embrião, que ocorre principalmente devido às elevadas temperaturas observadas e à intensa formação de ácidos (HOSKIN; DIMICK, 1994), as paredes celulares são rompidas, levando ao contato substâncias que antes se encontravam separadas em diferentes tipos de células, provocando uma série de reações bioquímicas importantes para a formação dos precursores de sabor do cacau. Com isso, após a etapa de secagem, a compartimentação e a coloração marrom típica, geralmente indicam que houve uma boa fermentação. Por outro lado, deve-se ressaltar que a totalidade de amêndoas fermentadas de coloração marrom em um lote, nem sempre é um indicativo de boa qualidade ou de fermentação bem conduzida, uma vez que amêndoas que ultrapassaram o tempo de fermentação podem apresentar cotilédones com coloração marrom e intensa compartimentação, porém esta sobrefermentação provoca a perda de precursores desejáveis de sabor e a formação de compostos químicos que poderão prejudicar o sabor dos produtos obtidos (HANCOCK; FOWLER, 1994).

A avaliação do aroma das amêndoas, após o corte longitudinal da prova de corte, revelou a ausência de odores estranhos para todos os experimentos. Verificou-se a ausência também de amêndoas danificadas, mofadas, atacadas por insetos, ardósias ou germinadas. A quantidade de amêndoas

achatadas ou com outros defeitos foi menor que 2% e o número de amêndoas em 100 g foi menor que 110. Portanto, pela prova de corte, os quatro experimentos estudados foram classificados como Tipo I, com qualidade superior (BRASIL, 2008).

Na Tabela 2, são apresentados os resultados da caracterização físico-química das amêndoas de cacau.

De acordo com os dados apresentados na Tabela 2, verifica-se que o teor de lipídios totais das amostras secas artificialmente foi ligeiramente menor em relação àquelas secas naturalmente. Com isso, é provável que, durante a secagem artificial, tenha ocorrido migração de gordura dos cotilédones para a testa (LOPEZ; QUESNEL, 1973; ROHAN; STEWART, 1967). Cabe destacar que, nas indústrias processadoras de cacau, a testa é descartada ou, em alguns casos, utilizada como combustível de caldeiras ou adubo. Dessa forma, a migração de manteiga de cacau dos cotilédones para a testa é desvantajosa (BECKETT, 1994). Com relação ao teor de cinzas, verificou-se que o tempo de fermentação influenciou ligeiramente os valores obtidos, sendo que as sementes não fermentadas apresentaram maior teor de cinzas, seguidas das amêndoas fermentadas por 3 e 7 dias. Ainda de acordo com a Tabela 2, verifica-se que o valor do pH das amêndoas apresentou diferenças em relação ao tempo de fermentação e ao tipo de secagem, demonstrando que ambas as etapas de processamento influenciaram esta variável. Os dados

Tabela 1. Prova de corte das amêndoas de cacau fermentadas e secas dos experimentos de fermentação por três e sete dias e secagem natural e artificial

		3 dias de fermentação		7 dias de fermentação	
		SN *	SA **	SN *	SA **
Coloração	Marrom	7 ± 2	0	55 ± 5	22 ± 6
	Violácea c/ partes marrons	37 ± 7	37 ± 5	32 ± 13	56 ± 4
	Violácea	60 ± 12	69 ± 14	14 ± 6	23 ± 7
Compartimentação dos cotilédones	Bem compartimentadas	31 ± 6	23 ± 4	53 ± 13	56 ± 12
	Parcialmente compartimentadas	56 ± 12	50 ± 9	28 ± 5	34 ± 8
	Pouco compartimentadas	19 ± 5	27 ± 8	12 ± 3	10 ± 3
Defeitos	Danificadas/ mofadas	0	0	0	0
	Ardósias/germinadas	0	0	0	0
	Outros defeitos	< 2	< 2	< 2	< 2
	Nº de amêndoas em 100 g	93 ± 6	94 ± 5	93 ± 3	95 ± 2

* SN: Secagem natural; ** SA: Secagem artificial.

Tabela 2. Caracterização físico-química das amêndoas de cacau fermentadas e secas dos diferentes experimentos

	Não fermentada	3 dias de fermentação		7 dias de fermentação		DMS
		SN *	SA **	SN *	SA **	
Lipídeos totais (g.100 g ⁻¹) ⁺	54,82 ± 0,18 ^{ab}	55,78 ± 0,10 ^a	54,08 ± 0,58 ^c	55,60 ± 0,06 ^a	54,68 ± 0,10 ^b	0,75
Cinzas (g.100 g ⁻¹) ⁺	3,57 ± 0,06 ^a	3,43 ± 0,02 ^b	3,42 ± 0,03 ^b	3,21 ± 0,03 ^c	3,29 ± 0,03 ^c	0,09
Proteínas (g.100 g ⁻¹) ⁺	23,88 ± 0,12 ^a	17,03 ± 0,05 ^c	16,60 ± 0,10 ^d	16,99 ± 0,08 ^c	17,42 ± 0,03 ^b	0,22
pH	5,18 ± 0,04 ^d	5,43 ± 0,03 ^c	5,26 ± 0,06 ^d	5,84 ± 0,02 ^a	5,61 ± 0,02 ^b	0,10
Acidez Titulável (meq. NaOH.100g ⁻¹)	8,94 ± 0,04 ^d	12,63 ± 0,12 ^b	13,76 ± 0,31 ^a	12,00 ± 0,06 ^c	11,99 ± 0,02 ^c	0,41
Umidade (%)	6,10 ± 0,03 ^c	6,38 ± 0,07 ^b	6,84 ± 0,06 ^a	6,29 ± 0,02 ^b	6,29 ± 0,06 ^b	0,14

* SN: Secagem natural; ** SA: Secagem artificial; ⁺ valores expressos em base seca, DMS: Diferença mínima significativa, Valores de uma mesma linha com a mesma letra, não diferem significativamente entre si (Teste de Tukey a 5% de significância).

demonstraram que o pH das amêndoas secas artificialmente mostrou-se menor em relação às aquelas secas naturalmente, tanto fermentadas por 3 como por 7 dias. O mesmo não foi observado para a acidez titulável. Verificou-se que o material fermentado por 3 dias apresentou maior acidez total titulável, indicando que possivelmente a sucessão e o desenvolvimento de microrganismos desejáveis na etapa de fermentação podem não ter ocorrido de forma satisfatória devido ao curto tempo. Por outro lado, no experimento de fermentação por 7 dias e secagem artificial, é possível que a volatilização desejada de ácidos como o acético, formados durante a fermentação, não tenha ocorrido satisfatoriamente, o que pode ter afetado o sabor dos produtos obtidos a partir desse material. Segundo Lopez (1983), a acidez do cacau não é própria das sementes, mas sim adquirida durante a fermentação quando os tecidos dos cotilédones absorvem ácidos e outras substâncias produzidas por microrganismos envolvidos no processo. De acordo com Jinap, Thien e Yap (1994), a secagem artificial de amêndoas de cacau em regiões produtoras como a Malásia tem levado à obtenção de produtos com elevada acidez e menor desenvolvimento de sabor, devido ao curto período necessário até que a redução de umidade requerida seja obtida.

3.2 Compostos fenólicos

A perda do teor de compostos fenólicos totais das amostras fermentadas por 3 e 7 dias e secas de forma natural e artificial é apresentada na Figura 2.

No experimento de fermentação por 3 dias, o tipo de secagem (natural ou artificial) não influenciou de forma significativa o teor de compostos fenólicos totais. Verificou-se teor, em média, 30% menor de compostos fenólicos totais nas amêndoas fermentadas durante 7 dias e secas tanto de forma natural como artificial, em relação às fermentadas por 3 dias. De acordo com Kealey et al. (1998); Brito (2000); Efraim (2004), a etapa de fermentação é a principal responsável pela perda de compostos fenólicos, incluindo os flavonoides. De acordo com a Figura 2, o teor de compostos fenólicos totais decresceu 35% até o terceiro dia e 59% até o sétimo dia de fermentação. Durante a secagem, verificou-se que os materiais fermentados por 3 dias apresentaram perdas de 19,1% (secagem em estufa) e 10,8% (secagem ao sol) e que os materiais fermentados por 7 dias apresentaram perdas de 11,6% (secagem em estufa) e 2,8% (secagem ao sol).

As quantidades relativas de flavan-3-óis e procianidinas das amêndoas durante a fermentação e ao término da secagem são apresentadas na Figura 3.

Observa-se na Figura 3 que até o terceiro dia de fermentação, as perdas de monômeros, dímeros, trímeros, quadrâmeros e pentâmeros foram de 31,9; 57,3; 59,0; 53,2 e 44,5%, respectivamente. Após a secagem, no experimento de fermentação por três dias e secagem natural, as perdas, respectivamente, de monômeros, dímeros, trímeros, quadrâmeros e pentâmeros foram de 51,9; 69,6; 66,5; 62,8 e 48,5%, enquanto na secagem artificial, foram de 58,4; 72,9; 72,5; 69,4 e 60,6%. No experimento de fermentação por 7 dias, foram observadas maiores perdas de monômeros a pentâmeros em comparação com os experimentos de fermentação por 3, sendo as perdas

observadas para secagem natural de 70,4; 78,8; 77,8; 73,7 e 64,5% e para secagem artificial de 85,4; 87,7; 86,3; 74,9 e 83,2%, respectivamente para monômeros, dímeros, trímeros, quadrâmeros e pentâmeros. De forma geral, verificou-se que o tipo de secagem influenciou significativamente a perda dos flavonoides estudados, especialmente nos materiais fermentados durante 7 dias, sendo que a secagem artificial causou maior perda desses compostos. De acordo com os resultados da Figura 3, verifica-se que as maiores perdas de flavan-3-óis e procianidinas ocorreram entre o término da fermentação e a etapa de secagem.

De acordo com a Figura 3, observa-se que as amêndoas fermentadas por 3 dias apresentaram maiores teores de polifenóis totais e flavonoides em relação às fermentadas por 7 dias. Procurando obter produtos de cacau com elevado teor de flavonoides, empresas processadoras de cacau ou fabricantes de chocolate têm buscado formas de manter o teor desses compostos sem prejuízo do sabor dos produtos (EFRAIM, 2004). Algumas patentes registradas em nível mundial se referem à obtenção de produtos de cacau com elevado teor de compostos fenólicos por meio da redução do tempo de fermentação (KEALEY et al., 1998; KEALEY et al., 2004) ou pela utilização de sementes não fermentadas para extração dos compostos fenólicos de interesse e posterior aplicação direta aos produtos de cacau (*liquor*, cacau em pó e chocolate) (RIZO, 2006).

3.3 Avaliação sensorial

A Tabela 3 apresenta as médias das notas dadas pelos provadores para os atributos sensoriais estudados.

Os resultados da análise sensorial, demonstram que tanto a duração da fermentação quanto o tipo de secagem influenciaram

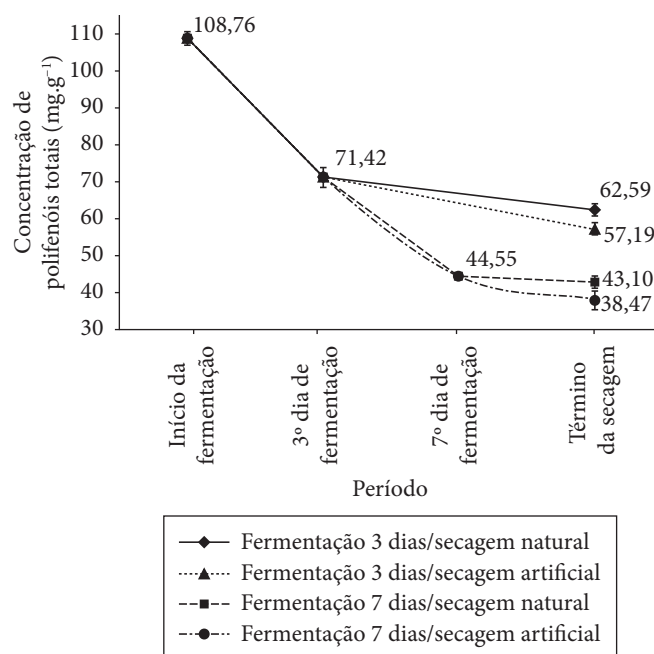


Figura 2. Perda do teor de compostos fenólicos totais das amêndoas de cacau durante as fermentações de 3 e 7 dias e ao término das secagens natural e artificial.

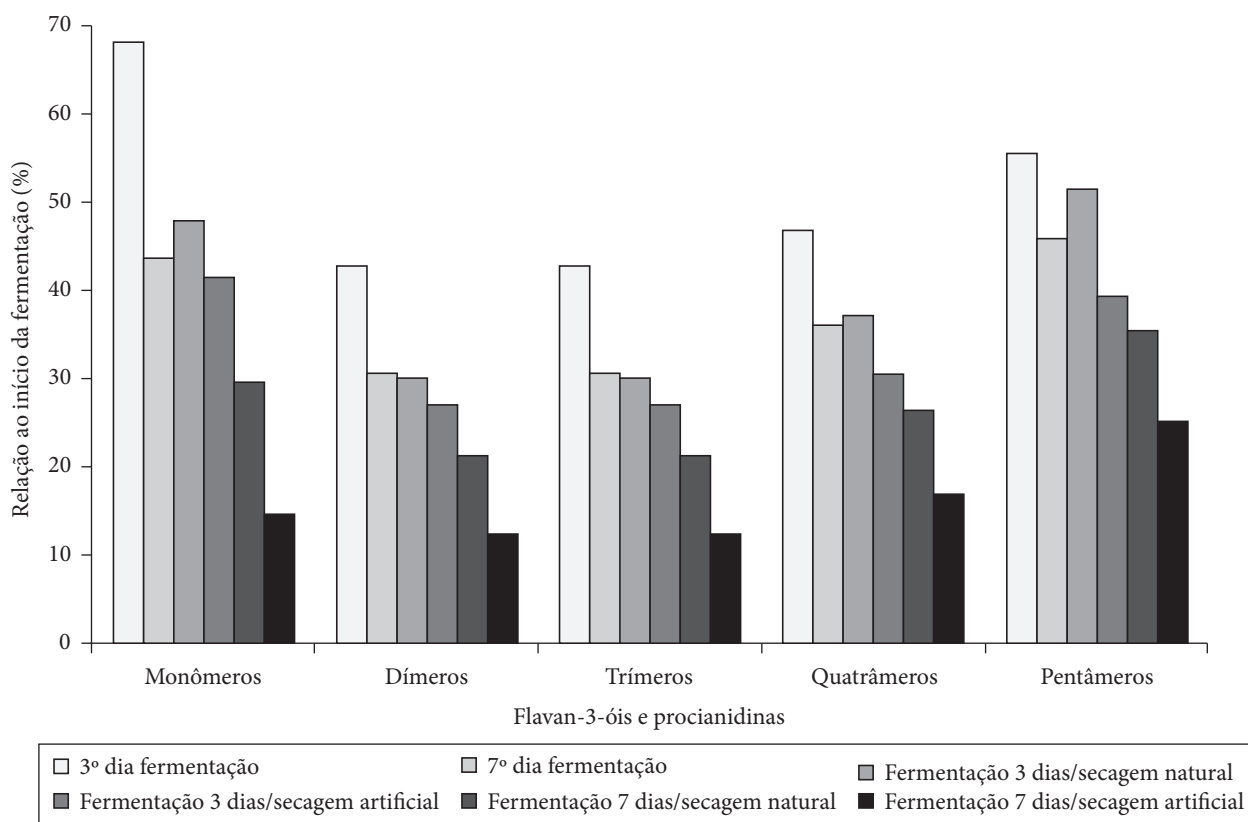


Figura 3. Quantificação relativa de flavan-3-óis e procianidinas das amêndoas de cacau durante a fermentação e ao término da secagem em relação às sementes não fermentadas.

Tabela 3. Valores médios das notas atribuídas na análise sensorial da bebida formulada com os *liquors* de cacau dos experimentos de fermentação por três e sete dias e secagem natural e artificial.

		Aroma	Sabor	Adstringência	Amargor	Impressão global
3 dias de fermentação	SN *	5,9 ± 0,9 ^c	5,7 ± 1,2 ^b	1,1 ± 0,5 ^b	1,3 ± 0,6 ^a	5,9 ± 0,8 ^b
	SA **	5,2 ± 0,8 ^d	5,0 ± 0,8 ^c	1,4 ± 0,6 ^b	1,5 ± 0,7 ^a	5,4 ± 0,7 ^c
7 dias de fermentação	SN *	7,9 ± 0,6 ^a	6,6 ± 1,2 ^a	0,7 ± 0,4 ^a	0,6 ± 0,4 ^b	7,3 ± 0,8 ^a
	SA **	7,1 ± 0,8 ^b	5,9 ± 0,9 ^b	0,7 ± 0,3 ^a	0,8 ± 0,6 ^b	6,3 ± 0,7 ^b
D.M.S.		0,5	0,6	0,3	0,3	0,5

* SN: Secagem natural; ** SA: Secagem artificial, D.M.S.: Diferença mínima significativa, Valores de uma mesma coluna, com a mesma letra, não diferem significativamente entre si (Teste de Tukey a 5% de significância).

o aroma dos *liquors* avaliados, sendo as melhores notas dadas ao experimento de fermentação por 7 dias e secagem natural, que recebeu nota média da equipe de provadores equivalente a “gostei muito” na escala utilizada. Com relação aos atributos sabor e impressão global, não foram observadas diferenças ao nível de 5% de significância entre o experimento de fermentação por 7 dias e secagem artificial e o experimento de fermentação por 3 dias e secagem natural, demonstrando que o tipo de secagem exerceu maior influência nesses atributos que a duração da fermentação. Por outro lado, com relação aos atributos amargor e adstringência, verificou-se que o tipo de secagem não influenciou os resultados, enquanto o tempo de fermentação sim. Nos experimentos de fermentação por 7 dias, as notas médias para os atributos “adstringência” e “amargor” foram menores que nos experimentos de 3 dias, sendo que as intensidades de amargor e de adstringência dos *liquors* obtidos

de amêndoas fermentadas por 7 dias foram consideradas menores em relação às amêndoas fermentadas por 3 dias.

4 Conclusões

A influência das etapas de fermentação e secagem nas características sensoriais dos *liquors* de cacau obtidos foi confirmada no presente trabalho. Ainda que exista grande interesse atualmente na manutenção dos compostos fenólicos presentes nas sementes de cacau, verificou-se que a redução do tempo de fermentação, apesar de gerar produtos com maiores teores de compostos fenólicos totais e flavonoides, exerceu impacto negativo nas características sensoriais, especialmente em relação aos atributos aroma, adstringência e amargor avaliados. Verificou-se, na prova de corte das amêndoas fermentadas por três dias, um número bastante reduzido delas

com coloração marrom, bem como um grande número com coloração violácea, indicando que o tempo de fermentação foi insuficiente para a ocorrência das reações de formação dos precursores do sabor característico de chocolate. Por essa razão, torna-se relevante o estudo de tecnologias alternativas para a manutenção dos compostos fenólicos, sem prejuízo do sabor dos produtos obtidos do cacau. Verificou-se que a secagem artificial, mesmo realizada com temperaturas brandas, por ter sido mais rápida em relação à natural, não permitiu a volatilização de compostos formados durante a fermentação, como por exemplo o ácido acético, levando à diminuição do pH e ao aumento da acidez total titulável, prejudicando sensorialmente os produtos obtidos. Além disso, propiciou a degradação dos compostos fenólicos de forma mais acentuada, sem, no entanto, a melhoria da qualidade sensorial. Constatou-se que a maior parte dos compostos fenólicos estudados foi perdida durante a fermentação. Na secagem ao sol, a perda dos compostos fenólicos totais foi menor em comparação à secagem em estufa. Em relação aos flavonoides, não foram expressivas as diferenças nas perdas desses compostos entre os métodos de secagem avaliados.

Agradecimentos

Os autores agradecem à CAPES e ao CNPq a concessão de bolsas de mestrado e iniciação científica que possibilitaram a realização do trabalho.

Referências bibliográficas

- AMERINE, M. A.; OUGH, S. S. **Methods for analyses of musts and wines**. 2 ed. New York: Jy Wiley E. Sons, s.d. 337 p.
- BECKETT, S. T. **Industrial chocolate manufacture and use**. 2 ed. London: Chapman and Hall, 1994. 408 p.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - Instrução Normativa nº 57, de 12 de nov. de 2008. Regulamento Técnico da Amêndoa de Cacau. **Diário Oficial da União**, Brasília, 13 nov. 2008. Seção I, pg.2.
- BRITO, E. S. **Estudo de mudanças estruturais e químicas produzidas durante a fermentação, secagem e torração de amêndoas de cacau** (*Theobroma cacao* L.) e propostas de tratamento para o melhoramento de sabor. 2000. 134 p. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP, Campinas.
- CRESPO, S. Judging the quality of cocoa beans. **The Manufacturing Confectioner**, v. 4, n. 5, p. 59-64, 1985.
- CROSS, E.; VILLENEUVE, F.; VINCENT, J. C. Recherche d'un índice de fermentation du cacau. **Café, Cacau Thé**, v. 16, n. 2, p. 109-113, 1982.
- EFRAIM, P. et al. Teores de compostos fenólicos de sementes de cacau de diferentes genótipos. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 9, n. 4, p. 229-236, 2006.
- EFRAIM, P. **Estudo para minimizar as perdas de flavonóides durante a fermentação de cacau para produção de chocolate**. 2004. 114 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP, Campinas.
- FABORODE, M. O.; FAVIER, J. F.; AJAYI, O. A. On the effects of forced air drying on cocoa quality. **Journal of Food Engineering**, v. 25, n. 4, p. 455-472, 1995.
- FADINI, A. L. **Comparação da eficiência do processo convencional de torração frente ao processo por microondas**. 1998. 122 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP, Campinas.
- FERNÁNDEZ-BARBERY, S. D. **Estudo do melhoramento do sabor de cacau** (*Theobroma cacao* L.) utilizando polifenoloxidase E.C 1.1.0.3.1. extraída da pinha (*Annona squamosa* L.) e tratamento térmico não convencional. 1999. 76 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP, Campinas.
- FORSYTH, W. G. C.; QUESNEL, V. C. Cocoa glycosidase and color changes during fermentation. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 8, n. 9, p. 505-509, 1957.
- GARCIA, J. J. S. **Beneficiamento, armazenamento e padronização do cacau. Sistema de produção do cacau na Amazônia Brasileira**. Belém: CEPLAC, 1985. p. 86-104. (cap. 9).
- HAMMERSTONE, J. F. et al. Identification of procyanidins in cocoa (*Theobroma cacao*) and chocolate using high-performance liquid chromatography/mass spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, n. 2, p. 490-496, 1999.
- HANSEN, C. E.; DEL-OLMO, M.; BURRI, C. Enzyme activities in cocoa beans during fermentation, **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 77, n. 2, p. 273-281, 1998.
- HORWITZ, W. ed. **AOAC Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists**, 18ª ed., 2005.
- JINAP, S.; THIEN, J.; YAP, T. N. Effect of drying on acidity and volatile fatty acids content of cocoa beans. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 65, n. 1, p. 67-75, 1994.
- KEALEY, K. S. et al. Mars Incorporated. **Method for producing fat and/or solids from beans and compositions containing polyphenols**. US Patent Application 2004/0058022, 2004.
- KEALEY, K. S. et al. Mars Incorporated. **Cocoa components, edible products having enhanced polyphenol content, methods of making same medical uses**. Patent Corporation Treaty (PCT) WO 98/09533, 1998.
- KYI, T. M. et al. The kinetics of polyphenol degradation during the drying of Malaysian cocoa beans. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 40, n. 3, p. 323-331, 2005.
- LAJUS, B. **Estudo de alguns aspectos da tecnologia do cacau**. 1982. 85 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo USP, São Paulo.
- LOPEZ, A. Factors associated with cacao bean acidity and the possibility of its reduction by improved fermentation. **Revista Theobroma**, v. 13, n. 3, p. 233-248, 1983.
- LOPEZ, A. S.; QUESNEL, V. C. Volatile fatty acid production in cacao fermentation and the effect on chocolate flavour. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 24, n. 3, p. 319-324, 1973.
- MAO, T. K. et al. The effect of cocoa procyanidins on the transcription and secretion of interleukin β in peripheral blood mononuclear cells. **Life Sciences**, v. 66, n. 15, p. 1377-1386, 2000.
- MEILGAARD, M.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T. **Sensory Evaluation Techniques**. Florida: CRC Press, 1988. 281 p.
- PASSOS, F. M. L. et al. Characterization and Distribution of Lactic Acid Bacteria from Traditional Cocoa Bean Fermentations in Bahia. **Journal of Food Science**, v. 49, n. 1, p. 205-208, 1984.
- REIN, D. et al. Epicatechin in human plasma: In vivo determination and effect of chocolate consumption on plasma oxidation status. **Journal of Nutrition**, v. 130, n. 2, p. 2109S-2114S, 2000.

- RIZO, D. C. Barry Callebaut confirma el poder de los polifenoles en el chocolate. **Dulcelandia**, v. 65, n. 789, p. 33-37, 2006.
- ROHAN, T. A.; CONNELL, M. The precursors of chocolate aroma: A study of the flavonoids and phenolic acids. **Journal of Food Science**, v. 29, n. 4, p. 460-463, 1964.
- ROHAN, T. A.; STEWART, T. The precursors of chocolate aroma: production of reduction sugars during fermentation of cocoa beans. **Journal of Food Science**, v. 32, n. 4, p. 399-402, 1967.
- SANBONGI, C. et al. Antioxidative polyphenols isolated from *Theobroma cacao*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, n. 2, p. 454-457, 1998.
- SAS INSTITUTE. **Statistics Analyses Systems**: SAS. Cary, 1993.
- SHAUGHNESSY, W. J. Cocoa beans: planting through fermentation. Its effect on flavor. **Manufacturing Confectioner**, n. 72, p. 51-58, 1992.
- SIES, H. et al. Cocoa polyphenols and inflammatory mediators. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 81, n. 1, p. 304S-312S, 2005.
- SOARES, M. S. **Estudo do melhoramento do sabor de cacau** (*Theobroma cacao* L.) **através de ação enzimática durante a fermentação**. 2001. 107 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP, Campinas.
- STEINBERG, F. M.; BEARDEN, M. M.; KEEN, C. L. Cocoa and chocolate flavonoids: Implications for cardiovascular health. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 103, n. 2, p. 215-223, 2003.
- VILLENEUVE, F.; CROS, E.; MACHEIX, J. J. Effet de la fermentation sur les activités peroxidasiqes et polyphenoloxidasiques de la fève de cacao. **Café, Cacao, Thé**, v. 33, n. 2, p. 113-120, 1985.
- VINSON, J. et al. Chocolate is a powerful ex vivo and in vivo antioxidant, an antiatherosclerotic agent in an animal model and a significant contributor to antioxidants in the European and American diets. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 21, p. 8071-8076, 2006.
- WOLLGAST, J.; ANKLAN, E. Review in polyphenols in *Theobroma cacao*: changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. **Food Research International**, n. 33, p. 423-447, 2000.
- WOLLGAST, J.; AGAZZI, M. E.; ANKLAN, E. Analysis of procyanidins in chocolate by reversed-phase high-performance liquid chromatography with electrospray ionisation mass spectrometric and tandem mass spectrometric detection. **Journal of Chromatography**, v. 926, n. 1, p. 211-220, 2001.