



UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA – UESB
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA E CIÊNCIA
DE ALIMENTOS

Área de concentração: Ciência de Alimentos



REBECA RODRIGUES VIEIRA ONELLI

INFLUÊNCIA DA TORRA NA QUALIDADE DE CHOCOLATES
DESENVOLVIDOS COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE MASSA DE
CACAU

Itapetinga - BA
Fevereiro, 2021



UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA – UESB
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA E CIÊNCIA
DE ALIMENTOS

Área de concentração: Ciência de Alimentos



REBECA RODRIGUES VIEIRA ONELLI

INFLUÊNCIA DA TORRA NA QUALIDADE DE CHOCOLATES
DESENVOLVIDOS COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE MASSA DE
CACAU

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, como parte das exigências do programa para obtenção do Título de Mestre.

Orientador: Profa. Dra . Sibelli Passini Barbosa Ferrão

Co-orientador: Prof. Dr. Leandro Soares Santos

Itapetinga - BA

Fevereiro, 2021

633.74

O67i Onelli, Rebeca Rodrigues Vieira

Influência da torra na qualidade de chocolates desenvolvidos com diferentes concentrações de massa de cacau. / Rebeca Rodrigues Vieira Onelli. - Itapetinga: UESB, 2021.

70f.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, como parte das exigências do programa para obtenção do Título de Mestre. Sob a orientação Prof^a. D. Sc. Sibelli Passini Barbosa Ferrão e coorientação do Prof. D. Sc. Leandro Soares Santos.

1. Amêndoas de cacau – Produção de chocolate. 2. Amêndoas de cacau – Efeito da torra - Chocolate. 3. Cacau - Compostos fenólicos. I. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. Programa de Pós-graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos. II. Ferrão, Sibelli Passini Barbosa. III. Santos, Leandro Soares. IV. Título.

CDD(21): 633.74

Catálogo na fonte:

Adalice Gustavo da Silva – CRB/5-535

Bibliotecária – UESB – Campus de Itapetinga-BA

Índice Sistemático para Desdobramento por Assunto:

1. Cacau - Atividade antioxidante
2. Chocolate – Amêndoas de cacau – Efeito da torra
3. Cacau – Chocolate - Composição



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
ENGENHARIA E CIÊNCIA DE ALIMENTOS

Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia - UESB
Recredenciada pelo Decreto Estadual
N° 16.825, de 04.07.2016



UESB



Governo do
Estado da Bahia

DECLARAÇÃO DE APROVAÇÃO

Título: INFLUÊNCIA DA TORRA NA QUALIDADE DOS CHOCOLATES
DESENVOLVIDOS EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE MASSA DE CACAU.

Autor (a): REBECA RODRIGUES VIEIRA ONELLI

Orientador (a): Prof.ª Dr.ª Sibelli Passini Barbosa Ferrão

Coorientador (a): Prof. Dr. Leandro Soares Santos

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de *MESTRE EM ENGENHARIA E CIÊNCIA DE ALIMENTOS, ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: CIÊNCIA DE ALIMENTOS*, pela Banca Examinadora.

Prof. Dr. Josué de Souza Oliveira
Membro Externo – IF BAIANO

Prof.ª Dr.ª Renata Cristina Ferreira Bonomo
UESB

Prof.ª Dr.ª Sibelli Passini Barbosa Ferrão
Orientadora - UESB
Presidente da Banca

Itapetinga-BA, 26 de fevereiro de 2021.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente eu quero agradecer a Deus, pois foi ele que me deu forças em todos os momentos desses dois anos, principalmente naqueles momentos mais difíceis em que eu pensei em desistir.

Agradeço a minha mãe, Joanita Rodrigues, por ter sido um exemplo de mãe guerreira, que com todas as dificuldades foi capaz de me transformar no ser humano que sou hoje.

A minha avó, Laura, pelo seu amor incondicional dado do jeito dela e pela segunda mãe que ela é.

Aos meus melhores amigos, Vanessa Amorim e Igor Marcelo, por terem me dado o maior suporte emocional que pude ter nesses últimos dois anos. Aos meus novos amigos da quarentena, que deixaram tudo mais leve no ano de 2020. Vocês foram essenciais

Ao meu namorado, Marcos Correia, por ter sido o meu porto seguro na reta final dessa fase da minha vida, me dando todo o carinho necessário e me tranquilizando com a sua calma.

A minha família do laboratório, meu grupo GEL, em especial a Josane Cardim, Isabel Alves e Lucas Caiafa, sem eles eu não concluiria esse experimento, eu aprendi muito com vocês e saibam que contribuíram bastante ao longo desses anos.

A minha professora/orientadora, Sibelli Passini, obrigada pelo exemplo, incentivo, ensinamentos e paciência.

Ao meu professor/coorientador, Leandro Santos, por toda orientação e sugestões dadas, você foi essencial.

As minhas colegas Izabella Carvalho e Júlia Lopes, pelo apoio e ajuda na realização das análises.

Aos professores Renata Bonomo e Josué Oliveira, pela disponibilidade para participar da banca e pela contribuição na melhora do trabalho.

A todos os professores envolvidos nessa pós-graduação, agradeço por todo o aprendizado e pela dedicação de vocês.

E a todos que não foram citados, mas que fizeram parte desse trabalho de alguma forma, meus sinceros agradecimentos!

SUMÁRIO

RESUMO	10
1. INTRODUÇÃO.....	11
2. REFERENCIAL TEÓRICO.....	13
2.1. Cacau	13
2.2. Chocolate	13
2.3. Torra das amêndoas de cacau	15
2.4. Processamento do chocolate	18
2.5. Compostos bioativos.....	19
2.6. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).....	24
2.7. Espectroscopia no infravermelho médio (MIR)	24
2.8. Capacidade antioxidante	25
3. OBJETIVOS	28
3.1. Objetivo Geral.....	28
3.2. Objetivos específicos	28
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	29
4.1. Avaliação da qualidade das amêndoas de cacau.....	29
4.2. Pré-teste de temperaturas de torra.....	29
4.3. Torra das amêndoas	30
4.4. Produção dos Chocolates	30
4.5. Caracterização físico-química e composição química de amêndoas de cacau e chocolates produzidos.....	31
4.6. Determinações dos compostos bioativos das amêndoas de cacau e chocolates produzidos.....	33
4.6.1. Quantificação dos teores de teobromina, cafeína, catequina e epicatequina por Cromatografia Líquida de Alta eficiência (CLAE)	33
4.6.2. Determinação dos compostos fenólicos totais	34
4.6.3. Determinação da capacidade Antioxidante - Ensaio de eliminação de radicais (DPPH).....	34
4.6.4. Determinação da capacidade antioxidante in vitro pelo método da co-oxidação do sistema β -caroteno:ácido linoleico (BCAL)	35
4.6.5. Determinação de Taninos Condensados – método Vanilina.....	35

4.7. Análise de espectroscopia por infravermelho médio (MIR).....	36
4.8. Planejamento Experimental	36
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
5.1. Avaliação da qualidade das amêndoas de cacau.....	38
5.2. Pré-teste de temperaturas de torra.....	38
5.3. Composição e parâmetros físico-químicos das amêndoas de cacau e chocolates produzidos.....	41
5.4. Teor de compostos bioativos e atividade antioxidante de amêndoas de cacau e chocolates produzidos.....	46
5.5. Espectros obtidos por infravermelho médio (MIR).....	58
7. CONCLUSÃO.....	63
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	64

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Tolerância de defeitos para amêndoas de cacau, expressa em porcentagem e respectiva classificação do produto em tipos.....	29
Tabela 2. Formulações utilizadas para a produção de chocolates a partir de amêndoas sem torra e torradas.....	31
Tabela 3. Valores médios e desvios padrões das análises físico-químicas e de composição das amostras de amêndoas de cacau sem torra e torradas.....	41
Tabela 4. Composição e parâmetros físico-químicos das diferentes formulações de chocolates produzidos a partir de amêndoas de cacau sem torra e torradas (valores mínimos, valores máximos, equações de regressão ajustadas e coeficientes de determinação (R ²)).....	44
Tabela 5. Valores médios e desvios padrões para fenólicos totais, atividade antioxidante, teobromina, cafeína, catequina, epicatequina e taninos condensados das amêndoas sem torra e torradas.....	48
Tabela 6. Valores médios e desvios padrões dos valores de fenólicos totais, atividades antioxidantes (DPPH e BCAL), teobromina, cafeína, epicatequina e taninos condensados do chocolates produzidos a partir das amêndoas de cacau sem torra e torradas.....	53
Tabela 7. Equações de regressão ajustadas para os teores de compostos fenólicos totais, atividade antioxidante, teobromina, cafeína e epicatequinas (valores mínimos, valores máximos, equações de regressão ajustadas e coeficientes de determinação (R ²)) dos chocolates elaborados com amêndoas sem torra e torradas.....	55

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Processo de obtenção do chocolate.....	19
Figura 2 – Principais polifenóis encontrados na semente de cacau.....	20
Figura 3 - Estrutura dos flavonoides catequina e epicatequina.....	21
Figura 4 - Estrutura química das Metilxantinas.....	22
Figura 5 - Espectros das amêndoas de cacau sem torra e torradas a diferentes temperaturas obtidos por MIR, (A) espectro composto pela região de 4000 – 600 cm ⁻¹ ; (B) região ampliada de 2983 – 2783 cm ⁻¹	39
Figura 6 - Gráfico de dispersão das amostras de amêndoas de cacau sem torra e torradas a diferentes temperaturas em relação às componentes principais CP1 e CP2.....	40
Figura 7 – (A) Cromatograma geral dos compostos bioativos das amêndoas de cacau sem torra e torradas obtidas por CLAE; (B) cromatograma referente à teobromina; (C) cafeína e (D) epicatequina.....	46
Figura 8 - (A) Cromatograma geral obtido por CLAE dos compostos bioativos dos chocolates com 70% de massa de cacau produzidos a partir de amêndoas de cacau sem torra e torradas. (B) cromatograma referente à epicatequina; (C) teobromina; (D) cafeína; (E) cromatograma geral dos compostos bioativos dos chocolates com 40% de massa de cacau; (F) cromatograma geral dos compostos bioativos dos chocolates com 50% de massa de cacau e (G) cromatograma geral dos compostos bioativos dos chocolates com 60% de massa de cacau.....	50
Figura 9 - Espectros das amêndoas de cacau sem torra e torradas obtidos por MIR.....	58
Figura 10 - Espectros das formulações de chocolates produzidos com amêndoas sem torra e torradas obtidos por MIR (A) Espectro da região de 1800 – 1500 cm ⁻¹ ; (B) região de 1200 – 1140 cm ⁻¹	60
Figura 11 - Gráfico de dispersão das amostras de chocolates produzidos a partir de amêndoas de cacau sem torra e torradas em relação às componentes principais CP1 e CP2.....	61

RESUMO

O cacau é uma das maiores fontes naturais de compostos fenólicos e durante o processamento do chocolate esses compostos têm sua composição reduzida devido às altas temperaturas empregadas no processo de torra. Nesse contexto, objetivou-se esse estudo avaliar o efeito da torra e teor de massa de cacau sobre a composição de chocolates produzidos a partir de amêndoas de cacau sem torra e torradas. Foram desenvolvidas diferentes formulações de chocolate com 40, 50, 60 e 70% de sólidos de cacau, utilizando amêndoas sem torra e torradas, totalizando 8 formulações. Realizou-se para as amostras de amêndoas (sem torra e torradas) e chocolates produzidos análises físico-químicas e de composição química, foram realizadas a quantificação do conteúdo de teobromina, cafeína, catequina e epicatequina por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), conteúdo de compostos fenólicos totais (FT), capacidades antioxidantes (DPPH e BCAL) e procianidinas, por análise de bancada. Também se avaliou os perfis espectroscópicos das amostras por Espectroscopia no Infravermelho Médio (MIR). Observou-se que a temperatura aplicada no processo de torra e no processamento do chocolate, influencia diretamente composição tanto das amêndoas de cacau quanto dos chocolates. Para os teores de FT, epicatequina e procianidinas, o chocolate produzido com amêndoas sem torra apresentou maiores valores em relação ao produzido com amêndoas torradas. À medida que se aumentou a porcentagem de cacau nas formulações dos chocolates, o teor de compostos bioativos foi aumentado. Analisaram-se os comportamentos das amostras por meio do MIR e associada com a análise de componentes principais (ACP) foi possível diferenciar as amostras de chocolates produzidos com amêndoas sem torra e torradas. A utilização de amêndoas de cacau sem torra no desenvolvimento de chocolates mostrou-se uma alternativa interessante economicamente para o produtor de chocolate, bem como para manutenção de um maior teor de compostos fenólicos nos mesmos.

Palavras chaves: atividade antioxidante, compostos fenólicos, amêndoas de cacau.

1. INTRODUÇÃO

O chocolate é um produto apreciado mundialmente por pessoas de diferentes idades e classes sociais. Seu consumo está mais associado ao prazer do que à nutrição, porém, devido à presença de antioxidantes naturais associados aos compostos fenólicos nas amêndoas de cacau seu consumo tem sido valorizado. Por ser um produto de grande aceitação pelos consumidores devido ao fato de apresentar sabores e texturas muito agradáveis, é visto como um alimento de grande potencial para as inovações dos setores alimentícios na busca pela disponibilização de produtos mais saudáveis e que tenham efeitos benéficos à saúde, assim como os chocolates amargos que são produzidos com maior concentração de cacau.

O cacau é uma fonte rica em compostos bioativos, como polifenóis (epicatequina, catequina, procianidinas e antocianinas), responsáveis por apresentar uma alta capacidade antioxidativa promovendo a neutralização de radicais livres no organismo. Também são encontradas as metilxantinas (teobromina e cafeína), responsáveis por apresentar ações como melhora de humor, atividades relaxantes musculares, proteção a atividades cognitivas, dentre outras (PANZA et al., 2014; MARTINI et al., 2017; LIM et al., 2019).

No chocolate os teores desses compostos podem variar de acordo com a matéria-prima utilizada, formulação e das condições de processamento. Durante a produção do chocolate a indústria recebe as amêndoas fermentadas e secas para iniciarem o processo de torra. Na torra são desenvolvidas algumas das características de qualidade do produto, e como normalmente ela ocorre a altas temperaturas, pode levar à redução da concentração dos compostos bioativos. Nessa etapa também ocorre a redução da umidade e dos ácidos voláteis indesejáveis, produção de compostos aromáticos, desenvolvimento do sabor característico de chocolate e mudanças de cor (KONGOR et al., 2016; ENGESETH & PANGAN, 2018).

As perdas desses compostos ocorrem também nas etapas de beneficiamentos das amêndoas de cacau, por exemplo, na fermentação e secagem, porém esse processo de beneficiamento é inacessível à maioria dos produtores de chocolate, dificultando o controle dessas etapas. Por outro lado, a torra faz parte das etapas de produção dos chocolates, sendo possível o seu controle ou até mesmo a sua remoção do sistema de produção. A utilização de amêndoas de cacau sem torra se torna uma alternativa interessante ao consumidor, que estará consumindo um produto mais rico em compostos

bioativos e com potencial antioxidante, e ao produtor, que estará reduzindo uma operação nas etapas de produção de chocolate, conseqüentemente, reduzindo o custo de produção. Porém, não se sabe ao certo se o chocolate produzido a partir dessas amêndoas sem torra exibe um alto teor de compostos bioativos e os reais benefícios para a saúde quando comparado com o chocolate tradicional (feito com grãos de cacau torrados).

Estudos investigaram os efeitos da torra no teor de polifenóis e na atividade antioxidante das amêndoas de cacau, e mostraram que a torra interfere nesses teores e que quanto maior a temperatura utilizada no processo de torra, maior será a influência no perfil de polifenóis (ARLORIO et al., 2008; KOTHE et al., 2013). Mudenuti et al. (2018) citam que pouco se tem sobre a investigação do conteúdo dos compostos fenólicos, atividade antioxidante e composição química em chocolates produzidos a partir dessas amêndoas de cacau sem torra.

A avaliação da qualidade de amêndoas de cacau e chocolates em relação à sua composição química e de compostos bioativos se faz possível por meio de várias técnicas laboratoriais. Para a quantificação de compostos bioativos a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) é muito utilizada, por se tratar de uma técnica importante que permite separação de componentes muito semelhantes de misturas complexas. A determinação da capacidade antioxidante desses alimentos também é possível por meio de vários métodos, dentre eles pode-se destacar o método de sequestro de radicais livres, como o DPPH - 2,2-difenil-1-picrilhidrazila e o sistema de co-oxidação do β -caroteno/ácido linoleico, sendo esses métodos tecnicamente simples que necessitam de um espectrofotômetro, com leitura na região do visível, para sua realização. A vibração de grupos funcionais que fazem parte da estrutura dos constituintes químicos dá origem a espectros característicos na espectroscopia no infravermelho médio (MIR), associada a técnicas estatísticas tem sido exploradas para discriminar a qualidade de cacau e seus produtos derivados (ALMEIDA et al., 2006; MUDENUTI et al., 2018; SANTOS et al., 2021).

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. Cacau

O cacau é uma planta nativa das florestas tropicais das Américas, pertencente à ordem das *Malvales*, família *Malvaceae*, gênero *Theobroma*, espécie *Theobroma cacao L.*, única utilizada comercialmente para a produção de chocolate. O seu cultivo requer clima tropical com temperaturas entre 18 e 32°C, chuvas bem distribuídas ao longo do ano e ambientes com alta umidade (SILVA et al., 2016).

O continente africano possui a maior área de produção de cacau, sendo as regiões da Costa do Marfim, Gana, Camarões e Nigéria na, África Ocidental, os maiores produtores de cacau do mundo. Em Gana, fontes reguladoras do setor de cacau do país, estimam que a safra no ano de 2018/2019 chegou a 850.000 toneladas. No Brasil a safra no ano de 2018/2019 atingiu 70.634 toneladas (ICCO, 2020).

Do cacau pode-se obter diversos produtos incluindo o chocolate que até meados do século XIX era consumido exclusivamente na forma de uma bebida líquida, denominada “chocolatl”, no qual era elaborada a partir da mistura entre amêndoas de cacau fermentadas, torradas e moídas com água, adicionada de algumas especiarias. Já o chocolate em barra ou apenas chocolate é um produto bastante consumido atualmente sendo caracterizado como uma emulsão contendo uma dispersão semi-sólida de partículas finas de cacau, açúcar e leite envolvidos em uma fase contínua de manteiga de cacau e gordura do leite (ENGESETH & PANGAN, 2018).

2.2. Chocolate

Segundo o Regulamento Técnico para Chocolate e Produtos de Cacau, o chocolate pode ser definido como o produto obtido a partir da mistura da massa de cacau, manteiga de cacau, cacau em pó e outros ingredientes, apresentando no mínimo 25% (g/100g) de sólidos de cacau (BRASIL, 2005). Apresenta sabor característico e textura única, sólido em temperatura ambiente (20 a 25°C), fundindo-se rápido e completamente durante a degustação (LUCCAS et al., 2014).

O chocolate pode ser classificado em diversas categorias, e essa classificação dependerá da proporção dos ingredientes que fazem parte da sua composição. Os principais produtos comercializados são: chocolate ao leite, chocolate meio amargo,

chocolate amargo e chocolate branco (MURGA et al., 2011). Existe uma tendência para produção de chocolate com elevados teores de sólidos de cacau, sendo este considerado mais rico em conteúdo de polifenóis dentro das diferentes classificações do chocolate (RUSCONI e CONTI, 2010).

O chocolate, além de ser um alimento muito nutritivo por apresentar lipídeos, proteínas, carboidratos, minerais e vitaminas tem grande potencial na promoção da saúde, minimizando o impacto dos radicais livres ao corpo humano, reduzindo o estresse e depressão além de proteger contra doenças cardiovasculares, devido à presença de compostos biologicamente ativos que melhoram a elasticidade dos vasos sanguíneos reduzindo a pressão arterial (ABICAB, 2018; DJIKENG et al., 2018).

As substâncias bioativas presentes nos chocolates são reconhecidas pelo organismo como componentes naturais, sendo classificadas como nutracêuticas. Os nutracêuticos são compostos ativos que promovem a saúde, e como exemplo pode-se citar os compostos fenólicos, xantinas, ácidos graxos, aminoácidos essenciais, fibras, entre outros, podendo ser encontrados em diversas fontes, assim como nas amêndoas de cacau. (FENNEMA et al., 2010; COSTA e JORGE, 2011).

O chocolate era considerado o vilão da confeitaria por apresentar em sua composição gorduras e açúcares, sendo associado ao aumento de problemas como a obesidade na população, devido ao seu alto teor calórico. No entanto, posteriormente realizadas constatou-se que os efeitos adversos associados à ingestão do chocolate estão relacionados à quantidade que é consumido, sendo assim, se consumido habitualmente e moderadamente oferece benefícios à saúde fornecendo energia, melhorando o humor e aumentando o bem-estar (KOMES et al., 2010).

Segundo Associação Brasileira da Indústria de Alimentos – (ABIA), a ingestão de chocolate amargo (até 30g/dia) por consumidores acima de 60 anos pode auxiliar nas funções cognitivas ajudando nas habilidades e desenvolvimento do pensamento, devido aos compostos biologicamente ativos, que são substâncias encontradas naturalmente no chocolate e exercem efeitos benéficos sobre o sistema nervoso central, protegendo os neurônios contra lesões induzidas pelo estresse ou envelhecimento, além da alta capacidade antioxidativa transformando o chocolate em um alimento funcional (OBERRAUTER et al., 2018; ABIA, 2019).

Um alimento funcional pode ser definido como um produto natural ou processado, que além de atuar nutricionalmente, pode produzir efeitos metabólicos e fisiológicos, agindo favoravelmente na saúde, afetando uma ou mais funções alvo no

corpo, e retardando o aparecimento de doenças crônico-degenerativas (ZERAİK et al., 2010). O alimento funcional deve fazer parte da alimentação cotidiana do indivíduo, pois proporcionará diversos benefícios à saúde. Esses benefícios atribuídos aos chocolates estão diretamente ligados à presença de metilxantinas e compostos fenólicos, como epicatequina, polifenóis e antocianinas (KONAR, et al., 2016).

Para a produção do chocolate, a amêndoa de cacau passa por processos específicos, dentre eles o de fermentação, secagem e torrefação. Mais de 600 compostos voláteis são relatados para compor a mistura complexa que caracteriza o aroma desse produto. O processo de fermentação do cacau é essencial para a formação desses compostos específicos do chocolate. Nesse processo as reações proteolíticas no interior da semente começam após 3 dias de fermentação, quando pequenos peptídeos e aminoácidos livres são liberados, influenciando o sabor do chocolate nas etapas posteriores do processo, como a torrefação da amêndoa (CRAFACK et al., 2014; VOIGT & LIEBEREI, 2014; MOREIRA et al., 2018).

2.3. Torra das amêndoas de cacau

O processamento tradicional do chocolate envolve duas etapas: a primeira é o pré-processamento das amêndoas de cacau com o objetivo de oferecer ao mercado consumidor amêndoas de boa qualidade, com teor de umidade máximo de 8%, boa apresentação externa, aroma natural e que estejam livres de agentes contaminantes físicos, químicos e biológicos. Nessa etapa ocorre a colheita e posteriormente a fermentação das sementes e a secagem (CAMPOS et al., 2012; FERREIRA et al., 2013).

A segunda etapa envolve o processo de torra, mistura dos ingredientes e preparo da massa de chocolate. A indústria recebe as amêndoas fermentadas e secas para iniciarem o processo de torra. A torra das amêndoas de cacau é caracterizada como tratamento térmico no processamento do chocolate, reduzindo a microbiota presente na matéria-prima durante a etapa de fermentação (KONGOR et al., 2016).

O cacau é uma fonte rica em compostos polifenólicos e o processamento pós-colheita, como fermentação, secagem e torrefação, afetam diretamente as concentrações desses compostos levando à sua diminuição (BATISTA, 2016; HU, 2016). Quanto maior o tempo e a temperatura empregados durante a torra, maior será a degradação dos compostos fenólicos nos produtos derivados do cacau podendo, conseqüentemente

comprometer as propriedades antioxidantes dos fenólicos solúveis. A diminuição dessas propriedades antioxidantes pode ocorrer devido à oxidação de compostos fenólicos e seu envolvimento em reações químicas, como complexação e geração de moléculas de alto peso molecular que podem reduzir sua solubilidade (DI MATTIA et al., 2017; MUDENUTI et al., 2018).

Outros fatores importantes que ocorrem durante esse processo são a redução do teor de umidade, dos ácidos voláteis indesejáveis como o ácido acético, inativação das enzimas que podem ocasionar a degradação da manteiga de cacau e desenvolvimento do aroma e sabor de chocolate através da reação de Maillard. Durante a obtenção de chocolates em todas as etapas, os polifenóis dos grãos de cacau podem sofrer muitas alterações, incluindo polimerização, hidrólise ou reações com proteínas, e podem entrar na reação de Maillard (SAMPAIO, 2011; ENGESETH & PANGAN, 2018).

A reação de Maillard (escurecimento não enzimático) se refere a um conjunto de complexo de reações, que se inicia principalmente durante o aquecimento e armazenamento prolongado dos alimentos, onde a formação de compostos responsáveis pelo aroma, sabor e cor dos alimentos tratados termicamente são favorecidas. Ela acontece em três estágios, sendo eles: estágio inicial, intermediário e final (FENNEMA, 2010; FRANCISQUINI et al., 2017).

O primeiro estágio se inicia por uma reação entre as amins de aminoácidos, peptídeos ou proteínas, e compostos carbonila do açúcar redutor, que em altas temperaturas se decompõem e, eventualmente, se condensam. Essa reação ocorre a partir do ataque nucleofílico do par de elétrons do nitrogênio do grupamento amino, e como consequência, se forma a base de Schiff instável liberando água e formando uma glicosamina. A base de Schiff ainda sofre alguns rearranjos produzindo um açúcar aldose (produto de Amadori) ou um açúcar cetose (produto de Heyns), produtos estes estáveis, incolor, que não possuem absorção na região ultravioleta (FENNEMA, 2010; MEHTA & DEETH, 2016).

O estágio intermediário é iniciado a partir do prolongamento do aquecimento, onde os produtos de Amadori e Heyns são quebrados e dão início a uma sequência de reações como: desidratação, enolização e retroaldolização. Os compostos originados nessa fase são fluorescentes e com capacidade de absorção da radiação na região ultravioleta. Esses compostos são altamente reativos, onde se polimerizam com lisina ou arginina em proteínas, dando início à fase final da reação de Maillard, onde se formam

compostos estáveis e resultam na formação de pigmentos escuros, denominados de melanoidinas (MEHTA & DEETH, 2016; FRANCISQUINI et al., 2017).

Alguns dos derivados carbonila provenientes desse processo de escurecimento reagem com aminoácidos livres, o que resulta na degradação desses aminoácidos em aldeídos, amônia e dióxido de carbono, sendo essa reação conhecida como degradação de Strecker. A degradação de Strecker de cada aminoácido irá produzir um aldeído específico com um aroma diferente, contribuindo para o sabor e aroma característico de chocolate que conhecemos (FENNEMA et al., 2010).

Durante a torra das amêndoas é que acontece a reação de Maillard e degradação de Strecker, nessa etapa de processamento que ocorre desenvolvimento do sabor de chocolate, sendo ele resultado de uma mistura de vários compostos combinados como as pirazinas, aldeídos, éteres, tiazóis, fenóis, cetonas, alcoóis, furanos e ésteres. Essas reações são influenciadas por vários fatores, e a depender das características sensoriais e tecnológicas que se deseja obter no produto final se escolhe um tempo e temperatura adequados, podendo variar de 10 a 120 minutos e 90 a 170 °C (AFOAKWA, 2008; EFRAIM, et al., 2011; LEITE, 2012; ENGESETH & PANGAN, 2018).

Temperaturas elevadas podem provocar um efeito de super torração, originando a formação de gosto de queimado (EFRAIM et al., 2011). O processo de torra geralmente é realizado em larga escala e normalmente utiliza-se torradores contínuos de tambor com ar quente direcionado nos grãos, túneis de aquecimento ou aquecimento por radiação. As condições desse processo dependem de alguns fatores como tipo de cacau (grão, nibs, variedade genética) e produto final (chocolates amargos ou ao leite) (CAPAROSA & HARTEL, 2019).

A torra é uma etapa comum no processamento de chocolate e ela pode afetar a concentração de compostos biológicos de interesse, a partir disso há uma tendência crescente nos últimos anos de produção de alimentos pouco ou não processados. O café verde é um exemplo deles, onde o café verde tem mais polifenóis que o café torrado, conseqüentemente possui um sabor mais ácido e adstringente. No caso do processamento das amêndoas de cacau, principalmente para a produção de chocolate, já há uma preocupação em preservar o máximo possível desses compostos fenólicos. As amêndoas de cacau sem torra, submetidas apenas à fermentação e secagem nas plantações, contêm maior teor desses compostos, o que pode resultar no recebimento de um produto final com maior teor de polifenóis e alteração positiva no valor nutricional. A presença do chocolate elaborado com amêndoas não torradas vem aumentando no

mercado de chocolates, esse produto tende a ter um sabor mais intenso e ácido e é produzido atualmente em vários países (DI MATTIA et al., 2017; MUDENUTI et al., 2018; Żyżelewicz et al., 2018).

Após a obtenção das amêndoas torradas, realiza-se a retirada das cascas e quebra das amêndoas para a obtenção do nibs. Em seguida é realizada a moagem e o refino, onde o líquido é obtido. O líquido é prensado para extração da manteiga de cacau natural, que é filtrada e, às vezes, desodorizada (LANNES, 1997; COPETTI et al., 2013).

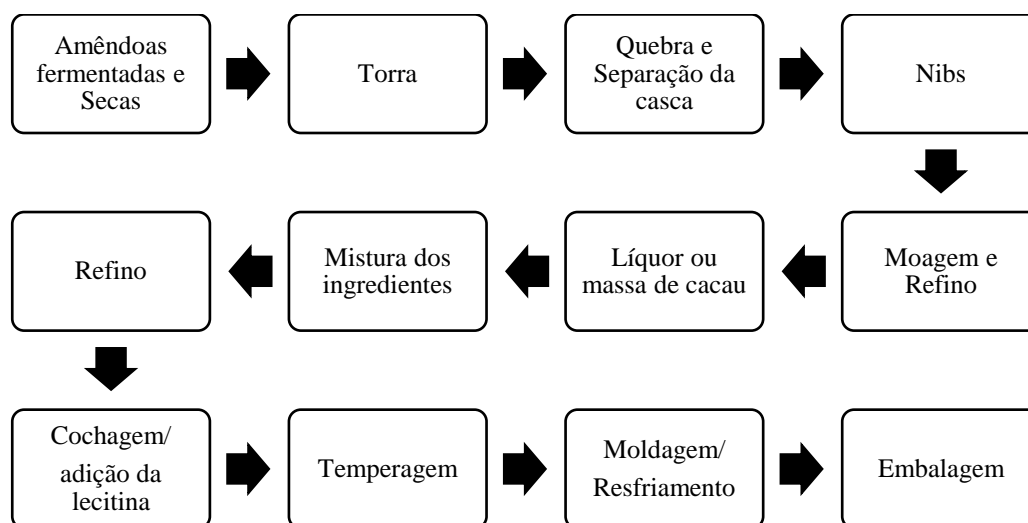
2.4. Processamento do chocolate

Para produção de chocolate são incorporados ao líquido ou massa do cacau, manteiga de cacau, açúcar, leite em pó (dependendo do tipo de chocolate a ser elaborado) e lecitina (emulsificante) para serem homogeneizados. Segue-se o refino, no qual ocorre a diminuição da granulometria da massa e redução das partículas dos ingredientes, cujo objetivo é melhorar a textura, a viscosidade, as propriedades sensoriais e reduzir a quantidade de substâncias voláteis que influenciam negativamente o sabor (ALAMPRESE et al., 2007; AFOAKWA et al., 2008; COPETTI et al., 2013). Durante a conchagem ocorre a remoção da umidade e dos voláteis indesejáveis, reduzindo o amargor, e desenvolvimento da cor, sabor e aroma característico do chocolate (COHEN et al., 2004; ALAMPRESE et al., 2007; AFOAKWA et al., 2008).

Ao final da etapa de conchagem realiza-se a adição da lecitina que tem por finalidade o aumento da viscosidade da massa e melhoria da dispersão dos sólidos na fase gordurosa, alcançando propriedades reológicas importantes para produção e aceitação do produto final. Em seguida ocorre a temperagem da massa com o objetivo de produzir cristais de gordura na forma mais estável, forma beta (β) da manteiga de cacau (RICHTER e LANNES, 2007; CUNHA et al., 2010; ENGESETH e PANGAN, 2018).

Na etapa seguinte de moldagem, os chocolates são enformados, e logo após seguem para o resfriamento sob temperatura de refrigeração até a fase gordurosa atingir um grau de cristalização adequado, em seguida os mesmos são embalados. Na Figura 1 é apresentado o fluxograma geral de processamento do chocolate (ENGESETH e PANGAN, 2018).

Figura 1 - Processo de obtenção do chocolate



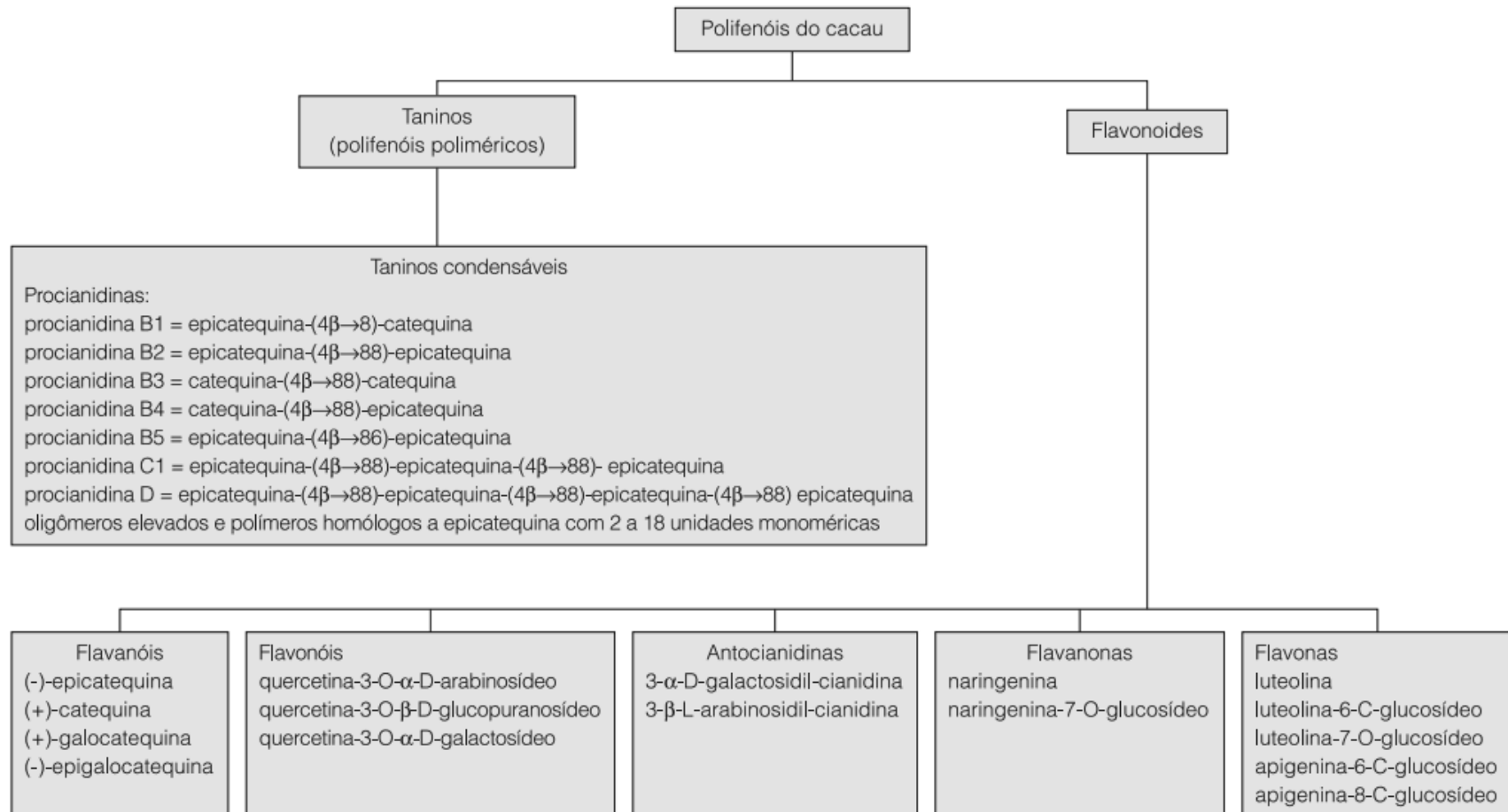
Fonte: adaptado de SOUZA et al., 2013

2.5. Compostos bioativos

Os compostos fenólicos ou polifenóis são metabólitos secundários produzidos pelas plantas. No cacau e seus derivados, como por exemplo, cacau em pó, licor de cacau e chocolate eles são responsáveis pelo sabor adstringente e aroma. Quando ingeridos promovem múltiplos efeitos em prol à saúde, principalmente devido à sua alta capacidade antioxidativa atuando como interruptores de radicais livres. Além disso, pode-se incluir outras ações como indução de níveis de enzimas antioxidantes, estimulação do sistema imune, atividade antibacteriana e antiviral (OBERRAUTER et al., 2018; LIM et al., 2019).

Sabe-se que o cacau fresco é uma das mais altas fontes naturais de compostos polifenólicos (principalmente epicatequina, catequina, procianidinas e antocianinas) (Figura 2), além das metilxantinas (por exemplo, teobromina e cafeína) que foram descritas como tendo papel importante na preservação da saúde humana, entretanto, a biodisponibilidade desses compostos pode variar de acordo com a variedade do cacau, bem como pelas condições climáticas e região de cultivo (MARTINI et al., 2017).

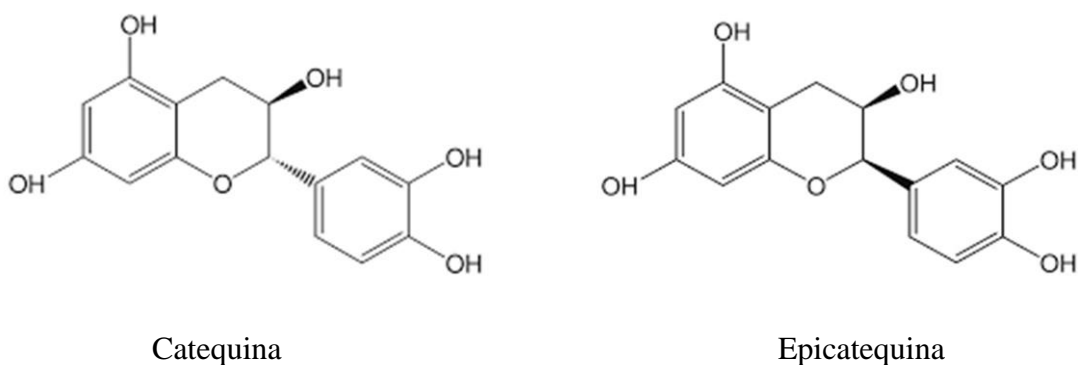
Figura 2 – Principais polifenóis encontrados na semente de cacau.



Fonte: EFRAIM et al., 2011.

As epicatequinas e catequinas (Figura 3) têm sido reportadas como os principais flavonóides monoméricos do cacau (EFRAIM, 2011; SIM et al., 2016). Possuem diferentes características como atividade antioxidante, capacidade sequestrante de espécies reativas de oxigênio, capacidade quelante de metais como Fe e Cu, e potencial para produção de peróxido de hidrogênio na presença de alguns metais (SIM et al., 2016). Os flavonóis são componentes termicamente instáveis, sendo assim, a torra pode resultar em perdas desses compostos durante o processamento do cacau e, conseqüentemente, em sua composição no chocolate. Kothe et al. (2103) ao avaliarem a influência da temperatura na composição dos flavonóides durante a torrefação de cacau, observaram que com temperaturas de torra abaixo de 140 °C foi possível obter produtos a de base cacau com perdas mínimas na composição dos flavonoides.

Figura 3 - Estrutura dos flavonoides catequina e epicatequina.



Fonte: STANLEY et al., 2018.

Durante o processamento do cacau, ocorrem várias reações bioquímicas que podem alterar os teores de flavanóis e procianidinas nos produtos derivados. Os compostos fenólicos podem ser agrupados de acordo com a massa molecular, sendo que a classe de baixa massa molecular compreende aos ácidos hidroxibenzoicos e hidroxicinâmicos, a classe de massa molecular intermediária, os flavonoides, considerada a maior e mais importante, e entre os de alta massa molecular, estão os taninos condensados (procianidinas) e os taninos hidrolisáveis (EFRAIM et al., 2011).

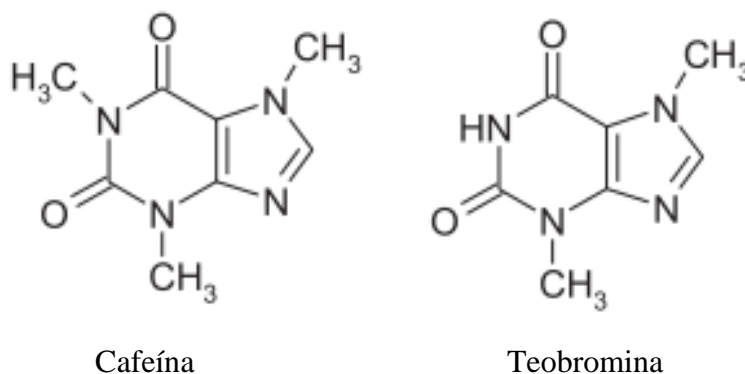
As procianidinas são compostas exclusivamente pelos monômeros epicatequina e catequina, por isso, são conhecidas como taninos condensados. Elas se diferem na posição e na configuração das ligações entre os monômeros, as mais comuns têm

ligações simples carbono-carbono entre os monômeros, conhecidas como ligações procianidinas do tipo B, as duplamente ligadas também existem e são referidas como do tipo A. O peso molecular é expresso como seu grau de polimerização (DP) e são comumente referidos como dímeros, trímeros, tetrâmeros, etc (ROBBINS et al., 2009; EFRAIM et al., 2011).

Elas são encontradas em altas concentrações em cacau e chocolate, uvas e vinho, maçã e amendoim. As procianidinas do cacau também exibem propriedades antioxidantes potentes, reduzindo a concentração de espécies reativas de oxigênio e a oxidação de lipoproteínas de baixa densidade. Durante a degustação de alimentos com alto teor destes compostos, pode ocorrer a complexação das procianidinas com proteínas da saliva, o que confere a sensação de adstringência (EFRAIM et al., 2011).

No cacau há também os grupos das metilxantinas (Figura 4), a teobromina e a cafeína são as mais propensas a ter alguma atividade benéfica (SARRIA et al., 2014). Durante o processo de fermentação, a combinação das atividades enzimáticas endógenas e exógenas, juntamente com a difusão de metabólitos nos cotilédones, permite a polimerização dos polifenóis, diminuindo sua solubilidade e auxiliando na liberação de metilxantinas nas amêndoas de cacau (BATISTA et al., 2016). Uma pesquisa realizada sobre a ação das metilxantinas presentes no chocolate evidenciou que a ingestão de cafeína a longo prazo pode oferecer proteção contra o declínio cognitivo, aumento da excitação energética, melhora o humor, além de contribuir muito para o sabor de chocolate (PANZA et al., 2014). Segundo Mitchell et al. (2011), a teobromina possui ação de redução da pressão arterial, efeito diurético e propriedades relaxantes musculares.

Figura 4 - Estrutura química das Metilxantinas.



Fonte: GNOATTO et al., 2007.

Embora a variedade do cacau determine o teor inicial dos compostos fenólicos nas amêndoas, o processamento pós-colheita como a torra e seus parâmetros, afetam as concentrações dos polifenóis e metilxantinas, e assim a atividade antioxidante dos grãos de cacau, influenciando, assim, a qualidade do produto final (BATISTA et al., 2016).

O processo de torra, principalmente a altas temperaturas, pode causar alterações químicas levando à diminuição das propriedades antioxidante dos grãos, o que pode afetar negativamente os potenciais benefícios à saúde decorrentes do consumo dos derivados do cacau (DJIKENG et al., 2018).

Mudenuti et al. (2018) realizaram um estudo comparativo entre chocolates produzidos com amêndoas de cacau sem torra e torradas, avaliando as frações de compostos fenólicos, alcalóides solúveis, insolúveis e suas atividades antioxidantes. Foram desenvolvidas formulações com 70% e 85% de sólidos de cacau, no qual as amêndoas foram torradas a 100°C por 20 minutos, e constataram que os chocolates produzidos com amêndoas sem torra continham maiores concentrações de compostos bioativos do que os tradicionais (amêndoas torradas), e conseqüentemente maior atividade antioxidante.

Estudos vêm sendo realizados avaliando as condições de processamento das amêndoas de cacau na preservação dos compostos polifenóis no chocolate para garantir sua funcionalidade. Żyżelewicz et al. (2018) avaliaram os componentes bioativos e características de chocolates produzidos com amêndoas de cacau sem torra e de diferentes variedades. As amêndoas foram torradas em diferentes condições, amêndoas da variedade Criollo foi torrada a uma temperatura de 120°C, a variedade Forastero foi torrada a 135°C. Essas amêndoas foram misturadas na mesma proporção para a obtenção do liquor e posteriormente produção de chocolates. Na produção eles utilizaram proporções diferentes de liquor de amêndoas torradas e sem torra, e concluíram que é possível aumentar o conteúdo de compostos bioativos aumentando a quantidade de liquor produzido com amêndoas sem torra na produção de chocolates.

Apesar dos estudos que vêm sendo realizados, ainda há muito que estudar sobre o processamento do chocolate, principalmente a eliminação da etapa de torra para a preservação dos compostos bioativos no produto final. Assim, análises mais apuradas do conteúdo fenólico dos chocolates produzidos com amêndoas de cacau sem torra são de grande interesse para a agroindústria de processamento do cacau e chocolate (HU et al., 2016).

2.6. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

Diversas técnicas podem ser realizadas na quantificação da bioatividade de compostos fenólicos presentes no chocolate, no qual se inclui a determinação de flavonoides e metilxantina por análise de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) (MUDENUTI et al., 2018).

A cromatografia consiste em uma técnica importante que permite separar componentes muito semelhantes de misturas complexas, sendo muitas dessas separações impossíveis de serem feitas por outros meios. Essa técnica é composta por duas fases: uma fixa e de grande área superficial denominada fase estacionária, e outra denominada fase móvel. Ela baseia-se no transporte da amostra pela fase móvel, que pode ser um gás, um líquido ou um fluido supercrítico, essa fase móvel é então forçada através de uma fase estacionária imiscível fixa, colocada na coluna ou numa superfície sólida. As duas fases são escolhidas de modo que os componentes da amostra se distribuam entre as fases móvel e estacionária em vários graus. Os componentes que são mais fortemente ligados na fase estacionária se movem muito lentamente no fluxo da fase móvel, e os componentes que se ligam mais fracamente à fase estacionária se movem mais rapidamente, conseqüentemente, os componentes da amostra se separam em bandas ou zonas discretas que podem ser analisadas qualitativa e quantitativamente (SILVA, 2012).

A Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) tem a capacidade de realizar separações e análises quantitativas de uma grande quantidade de compostos presentes em vários tipos de amostras, em escala de tempo de poucos minutos, com alta resolução, eficiência e sensibilidade. A aplicação dessas técnicas oferece grande contribuição na compreensão dos efeitos do processamento do chocolate tradicional e chocolate cru (SILVA, 2012; MUDENUTI et al., 2018).

2.7. Espectroscopia no infravermelho médio (MIR)

Utilizar um método simples, rápido e preciso para comparar a qualidade na composição de amêndoas de cacau e chocolate é de bastante interesse pela indústria de alimentos e estudos acadêmicos. A espectroscopia de infravermelho é uma alternativa interessante para esse tipo de análise (HU et al., 2016).

A região de infravermelho corresponde à parte do espectro eletromagnético que

varia da faixa de 12800 a 100 cm^{-1} , sendo dividido em três regiões, infravermelho próximo (NIR) de maior energia ($\sim 14,000\text{-}4000 \text{ cm}^{-1}$), o infravermelho médio (MIR) ($\sim 4000\text{-}400 \text{ cm}^{-1}$) e o infravermelho distante ($\sim 400\text{-}10 \text{ cm}^{-1}$). Com relação ao Infravermelho médio (MIR), este revela informações sobre as vibrações moleculares fundamentais e estrutura rotacional e vibracional de grupos funcionais. O espectro gerado nessa técnica fornece uma "impressão digital" de cada amostra analisada, uma vez que contém informações sobre suas características físico-químicas (SKOOG, HOLLER & NIEMAN, 2002).

Com o desenvolvimento da espectroscopia FTIR (Infravermelho com transformada de Fourier) e técnicas de refletância total atenuada (ATR), o uso da espectroscopia de infravermelho aumentou significativamente e a preparação da amostra tornou-se muito menos envolvida. Ela tem sido utilizada na confirmação de identidade de compostos, no monitoramento da origem geográfica e determinação dos principais componentes dos alimentos, avaliando aspectos qualitativos, assim como para a obtenção de certificação de qualidade. Com essa possibilidade de empregar o acessório de Reflexão Total Atenuada (ATR), é possível se obter espectros rápidos para uma ampla variedade de tipos de amostras (SKOOG, HOLLER & NIEMAN, 2002; HU et al., 2016).

2.8. Capacidade antioxidante

Antioxidantes são substâncias que retardam a velocidade da reação de oxidação, através de um ou mais mecanismos, como a inibição de radicais livres e a complexação de metais. Eles podem ser classificados de acordo com sua função: sequestrantes de radicais livres, removedores de agentes oxidantes não radicais, quelantes de metais de transição e compostos que são capazes de estimular a produção de compostos antioxidantes sinérgicos. Podem ser classificados também quanto a sua polaridade: hidrossolúveis ou lipossolúveis, e quanto ao seu mecanismo: através de transferência de átomos de hidrogênio (TAH), transferência de elétrons simples (TES) e a capacidade de quelar metais de transição. É comum também serem classificados como primários ou secundários. Os antioxidantes primários reagem com radicais livres de alta energia, convertendo-os em produtos termodinamicamente mais estáveis. Os antioxidantes secundários (antioxidantes preventivos), funcionam retardando a taxa de iniciação da cadeia, quebrando os hidróxidos (GRANATO et al., 2018; LIMA, 2020)

Os polifenóis, ou compostos fenólicos, têm sido largamente estudados em razão dos efeitos benéficos à saúde, como uma potente atividade antioxidante na prevenção de reações oxidativas e de formação de radicais livres, bem como na proteção contra danos ao DNA das células. As espécies reativas de oxigênio (ERO) têm papel importante em muitos processos biológicos, dentre essas ERO's se incluem o radical hidróxido ($\cdot\text{OH}$), ânion superóxido ($\text{O}_2\cdot^-$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), ácido hipocloroso (HOCl) e oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$) (EFRAIM et al., 2011).

Alguns polifenóis apresentam elevada atividade antioxidante, como o flavonol quercetina e os flavanóis catequina e epicatequina, além de carotenóides e vitaminas C e E. Esses compostos podem atuar como antioxidantes “secundários” em um processo de quelação ao inibir a oxidação sem interagir diretamente com espécies oxidativas. Os antioxidantes secundários são os inibidores de oxigênio singlete, decompositores de peróxido que produzem espécies quelantes de metais, enzimas oxidativas, inibidores ou absorvedores de radiação UV. Podem agir ainda como sinergistas aos antioxidantes primários, os regenerando por doação de hidrogênio, quelantes de cátions de metais de transição pró-oxidantes ou pela supressão do oxigênio molecular (EFRAIM et al., 2011; AMAROWICZ & PEGG, 2019).

As amêndoas de cacau por serem ricas em compostos fenólicos, apresentam um grande potencial para capacidade antioxidante. Em estudo realizado por Tsoi et al. (2015) foi comprovada em um modelo de atividade antioxidante celular a atividade antioxidante da teobromina, que é o principal alcalóide do chocolate. Hu et al., (2016) constataram que o alto conteúdo fenólico do cacau contribui para a capacidade antioxidante *in vitro* do chocolate quente em comparação com os chás preto, verde e vinho tinto, que são geralmente considerados ricos em polifenóis. Di Mattia et al. (2017) citam que as maiores quedas na atividade antioxidante e anti-radical estão associadas à redução do conteúdo de polifenóis que ocorre durante a torrefação das amêndoas de cacau.

O processamento pós-colheita, como fermentação e torra, é conhecido por afetar as concentrações de polifenol e metilxantina e a atividade antioxidante dos grãos do cacau, influenciando assim a qualidade do produto final. Durante o processo de torra, condições como tempo e temperatura afetam a estabilidade fenólica, bem como as características do sabor resultante (BATISTA et al., 2016).

Várias técnicas são utilizadas para avaliar a capacidade antioxidante de materiais biológicos, permitindo o estudo e a seleção de substâncias de interesse. Dentre estes

métodos pode-se destacar o método de sequestro de radicais livres, como o DPPH - 2,2-difenil-1-picrilhidrazila e o sistema de co-oxidação do β -caroteno/ácido linoleico. O ensaio DPPH• tornou-se um método muito popular, uma vez que o ensaio DPPH• é tecnicamente simples e necessitando um espectrofotômetro, com leitura na região do visível, para sua realização. Esse método é baseado no descoramento de uma solução composta por radicais estáveis DPPH• de cor violeta quando há adição de substâncias que podem ceder um átomo de hidrogênio. Já o método de oxidação do β -caroteno/ácido linoléico avalia a atividade de inibição de radicais livres gerados durante a peroxidação do ácido linoleico, esse método é fundamentado em medidas espectrofotométricas da descoloração (oxidação) do β -caroteno induzida pelos produtos de degradação oxidativa do ácido linoléico. O método de inibição de radicais DPPH• baseia-se na transferência de elétrons de um composto antioxidante para um oxidante, enquanto que o método de oxidação do β -caroteno/ácido linoléico determina a atividade de uma amostra ou composto de proteger um substrato lipídico da oxidação (ALMEIDA et al., 2006; PEDAN, FISCHER & ROHN, 2015).

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral

Avaliar a influência do tipo (não torradas e torradas) e da concentração de amêndoas de cacau utilizadas na composição dos chocolates.

3.2. Objetivos específicos

1. Obter amêndoas não torradas e caracterizá-las por meio de análises de composição química, físico-químicas, atividade antioxidante e quantificação de compostos bioativos;
2. Realizar pré-testes para definir a temperatura de torra a ser utilizada, através de análise de infravermelho médio (MIR);
3. Realizar a torra das amêndoas e também caracterizá-las por meio de análises de composição química, físico-químicas, atividade antioxidante e quantificação de compostos bioativos;
4. Desenvolver formulações de chocolate com diferentes teores de massa de cacau (40%, 50%, 60% e 70%), utilizando amêndoas não torradas e torradas;
5. Caracterizar os chocolates por meio de análises de composição química, físico-químicas, atividade antioxidante e quantificação de compostos bioativos;
6. Realizar análise dos compostos bioativos dos chocolates por CLAE;
7. Comparar os comportamentos espectrais das amêndoas de cacau e dos chocolates por meio de análise de infravermelho médio (MIR);
8. Aplica a Análise de Componentes Principais (ACP) nos dados obtidos pelo MIR.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Avaliação da qualidade das amêndoas de cacau

As amêndoas de cacau foram adquiridas de blends de produtores da Bahia, das regiões: Baixo Sul, Litoral Sul, Médio Rio de Contas e Vale do Jiquiriçá, totalizando 25 kg. As amêndoas foram misturadas formando apenas um lote, e a partir deste foi separada uma amostragem de 2 kg para realização do pré-teste de determinação de temperatura de torra. O restante foi dividido em três lotes (cada um com aproximadamente 7,5 kg) para a realização das repetições, sendo cada lote dividido em duas partes, onde uma parte foi torrada e a outra armazenada sem torra para produção dos chocolates, totalizando 3 repetições dos dois processamentos.

Para a avaliação da qualidade das amêndoas de cacau foi realizado o teste de corte longitudinal de uma amostra contendo 300 amêndoas, retiradas por meio de amostragem do lote inicial, como recomenda o Regulamento Técnico da Amêndoa de Cacau. Foram observados atributos internos relacionados ao grau de fermentação, como coloração marrom, parcialmente marrom ou violáceas, e defeitos como mofo, fumaça, danos causados por insetos, aspecto de ardósia e germinação, descritos na Tabela 1 (BRASIL, 2008).

Tabela 1. Tolerância de defeitos para amêndoas de cacau, expressa em porcentagem e respectiva classificação do produto em tipos.

Classificação	Defeitos					
	Mofadas	Fumaça	Danificadas por insetos	Ardósia	Germinadas	Achatadas
Tipo I	0 a 4%	0 a 1%	0 a 4%	0 a 5%	0 a 5%	0 a 5%
Tipo II	4% a 6%	1% a 4%	4% a 6%	5% a 10%	5% a 6%	5% a 6%
Tipo III	6% a 12%	4% a 6%	6% a 8%	10% a 15%	6% a 7%	6% a 7%
Fora de Tipo	12% a 25%	> 6%	> 8%	> 15%	> 7%	> 7%

Fonte: BRASIL, 2008.

4.2. Pré-teste de temperaturas de torra

O pré-teste de torra com as amêndoas de cacau foi realizado, para que fosse escolhida uma temperatura a ser utilizada na torra das amêndoas usadas na produção dos chocolates. A temperatura de torra pode variar de 90 a 170°C, a partir desta faixa foram escolhidas para o teste as temperaturas de: sem torra (controle), 110°C, 130°C e 150°C, conforme recomendações de Żyżelewicz et al. (2018). As amêndoas foram

torradas em Forno Vipinho 0448 (Perfecta Curitiba, Curitiba - PR) nas temperaturas estabelecidas por um tempo de 50 minutos e em seguida foram descascadas e trituradas em processador Compacto modelo RI7620 (Philips Walita, Itapevi, São Paulo) para redução do tamanho das partículas e homogeneização.

Para a análise das amêndoas sem torra e torradas foi utilizado o infravermelho médio (MIR) (~ 4000-400 cm), por se tratar de uma técnica rápida, sensível e robusta, que se permite observar possíveis diferenças na composição das amêndoas de cacau torradas em diferentes temperaturas. Os espectros das amostras foram obtidos por meio da Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier por meio da Reflexão Total Atenuada (FTIR-ATR) em equipamento Cary® 630 FTIR (Agilent Technologies Inc., Santa Clara, CA, USA), sob a faixa do infravermelho médio, com número de onda de 4000 cm⁻¹ a 600 cm⁻¹, resolução de 4 cm⁻¹, 64 scans de varredura na amostra e leitura através do cristal de diamante, sendo obtidos os espectros no modo de absorbância. As máximas absorbâncias associadas à sua faixa de número de onda foram utilizadas como variáveis de estudos para análise estatística.

4.3. Torra das amêndoas

Após a análise dos resultados do pré-teste, a temperatura de 110°C foi escolhida. As amêndoas foram torradas a 110°C por 50 minutos, em Forno Vipinho 0448 (Perfecta Curitiba, Curitiba - PR), em três repetições, com aproximadamente 3,75 kg de amêndoas cada repetição. Em seguida foram descascadas e trituradas em processador Compacto modelo RI7620 (Philips Walita, Itapevi, São Paulo), para a obtenção dos nibs e posterior produção dos chocolates.

4.4. Produção dos Chocolates

Os chocolates foram processados utilizando amêndoas sem torra e torradas, cada produção com diferentes concentrações de massa de cacau (40%, 50%, 60% e 70%), totalizando oito formulações). O nibs de cacau obtido a partir das amêndoas, o açúcar refinado (União, Araquari, SC, Brasil) e o leite em pó (Nestlé Brasil Ltda., Ituiutaba, MG, Brasil) foram transferidos para um equipamento de multifunções (Melanger - Spectra 11, Coimbatore, TN, India) sendo produzidos 1,5 kg de chocolate para cada formulação. No equipamento foram realizadas as operações de mistura dos ingredientes, refino e conchagem, onde a massa de cada formulação permaneceu por tempo

padronizado de 24 horas. Após 2 horas de refino da massa, metade da manteiga de cacau (Barry Callebaut, Ilhéus, BA, Brasil) foi acrescentada às formulações e o restante após 10 horas. A lecitina de soja (Grings & Filhos Ltda., São João da Boa Vista, São Paulo) foi adicionada aproximadamente 2 horas antes da finalização da conchagem. As formulações utilizadas estão apresentadas na Tabela 2.

Tabela 2. Formulações utilizadas para a produção de chocolates a partir de amêndoas sem torra e torradas.

Ingredientes	CHOCOLATE				CHOCOLATE			
	AMÊNDOAS SEM TORRA				AMÊNDOAS TORRADAS			
	40%	50%	60%	70%	40%	50%	60%	70%
Nibs de cacau	34,0%	44,0%	54,0%	64,0%	34,0%	44,0%	54,0%	64,0%
Manteiga de cacau	6,0%	6,0%	6,0%	6,0%	6,0%	6,0%	6,0%	6,0%
Leite em pó	7,0%	7,0%	7,0%	7,0%	7,0%	7,0%	7,0%	7,0%
Açúcar	52,6%	42,6%	32,6%	22,6%	52,6%	42,6%	32,6%	22,6%
Lecitina de soja	0,4%	0,4%	0,4%	0,4%	0,4%	0,4%	0,4%	0,4%

Em seguida, a massa conchada a 60°C foi conduzida para o processo de temperagem, em temperadeira Mini Chocomachine (Finamac, São Paulo, Brasil), onde permaneceu por 40 minutos em constante agitação a 45°C e em seguida foi realizado o resfriamento a 28°C. Essa massa obtida da têmpera foi transferida para formas de policarbonato para moldagem dos chocolates e submetidas à vibração. As formas com chocolates foram resfriadas à temperatura de 5°C por 12 horas. Após resfriados, os chocolates foram embalados em papel laminado (Cromus Embalagens Ind. E Com. Ltda., Mauá, São Paulo) e armazenados sob temperatura de 15°C até o momento das análises.

4.5. Caracterização físico-química e composição química de amêndoas de cacau e chocolates produzidos

Amostras de nibs crus e torrados foram analisadas para parâmetros físico-químicos e composição química, bem como as formulações de chocolates.

Foi realizada determinação do pH, utilizando-se 10g da amostra previamente macerada em 100mL de água destilada, até obtenção de uma mistura homogênea realizando, em seguida, a leitura direta utilizando pHmetro digital (modelo Q400AS,

QUIMIS, Diadema, São Paulo). A acidez titulável foi determinada por meio do método potenciométrico e o titulante foi o NaOH (0,1mol/L) (Vetec, Duque de Caxias, Rio de Janeiro) (AOAC 970.21) (AOAC, 2016).

A composição química foi determinada por procedimentos padrão (AOAC, 2016). A umidade foi determinada em estufa a 105°C, por 12 horas ou até atingir peso constante (AOAC 931.04). Os teores de gordura e proteína foram determinados pelos métodos Soxlet (AOAC 963.15) e Kjeldahl (AOAC 970.22), respectivamente. O teor de cinzas foi determinado por incineração das amostras em mufla a 550°C (AOAC 972.15). Todas as análises foram realizadas para as três repetições, em triplicata.

A determinação de açúcar redutor foi realizada utilizando o método DNS (Ácido 3,5-dinitrosalicílico) (Dinâmica Química Contemporânea Ltda., Indaiatuba, São Paulo), onde a curva padrão foi preparada soluções de 0 a 1,0 g/L de glicose. Foram pesadas 0,2g das amostras e adicionadas de 10mL de água destilada, em seguida foram agitadas em vórtex por dois minutos. Na sequência, os extratos foram centrifugados a 5000 rpm durante 15 minutos em centrífuga (High Speed Brushless Centrifuge, MPW-30, Varsóvia, Polônia). Este procedimento foi realizado por três vezes.

Após coletar o sobrenadante, foi realizado o teste DNS, em que foi pipetado 1mL dos extratos e adicionado 1mL do reagente DNS, e então, aquecidos em banho maria (modelo 314/2, Nova Ética, Piracicaba, São Paulo) a 100°C por 5 minutos. Em seguida, as amostras foram resfriadas em banho de gelo por 5 minutos. Na sequência, realizou-se a leitura da absorbância em espectrofotômetro (Quimis, modelo Q898UV2, Diadema, São Paulo) a 540 nm, após zerar o aparelho com o branco (água destilada).

Para quantificação de açúcar total pipetou-se 2mL do sobrenadante obtido anteriormente, e adicionou-se 2,0mL de HCl 2N (Neon Comercial, Suzano, São Paulo) em tubos, aqueceu-se em banho maria a 100°C por 10 minutos. Após o aquecimento, a amostra foi resfriada em banho de gelo e acrescentou-se 2,0mL de NaOH 2N (Dinâmica Química Contemporânea Ltda., Indaiatuba, São Paulo). Em seguida, foi realizado o teste de DNS (CECCHI, 2003).

4.6. Determinações dos compostos bioativos das amêndoas de cacau e chocolates produzidos

4.6.1. Quantificação dos teores de teobromina, cafeína, catequina e epicatequina por Cromatografia Líquida de Alta eficiência (CLAE)

Para a obtenção de cromatogramas e quantificação de teobromina, cafeína, catequina e epicatequina das amêndoas de cacau (sem torra e torradas) e chocolates utilizou-se a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). Primeiramente preparou-se as amostras de amêndoas sem torra e torradas e dos chocolates, onde foram pesados aproximadamente 0,02 g de cada amostra de chocolate e amêndoas (crus e torrados), adicionado 5 mL de solução extratora (85% H₂O, acidificado com 0,3% de ácido acético, e 15% Metanol) (Vetec, Duque de Caxias, Rio de Janeiro) em tubos de ensaio e mantidos sob agitação por 15 minutos em banho ultrassônico (Sanders medical, SoniClean 6, Brasil). Em seguida, os tubos foram colocados em banho termostático (Tecnal, Te-2005, Piracicaba, Brasil) a 60 °C por 10 minutos e centrifugados (SP Labor, Sp-701, Presidente Prudente, Brasil) a 3000g por 15 minutos para separação. O extrato foi filtrado com filtros estéreis (Filtrilo, Colombo, Paraná) de 0,22 µm.

A análise por CLAE foi realizada de acordo com o método utilizado por Jolic et al. (2011). Os extratos filtrados foram separados em coluna RP-LC (Zorbax SB-C₁₈, 4,6 mm ID x 250 mm, 5µm e coluna de guarda Zorbax SB-C 18, 4,6 mm ID x 12,5 mm, 5 µm) usando um sistema HP Agilent 1260 Infinity II. A fase móvel consistia em 2,5% de ácido acético (Vetec, Duque de Caxias, Rio de Janeiro) (solvente A) e acetonitrila (Dinâmica Química Contemporânea Ltda., Indaiatuba, São Paulo) (solvente B) a uma taxa de fluxo de 1mL/min. O gradiente de eluição foi a seguinte: 0–13 min 3% do solvente B, 13–18 min 9% de B, 18–25 min 11% de B, 25–45 min 18% de B, 45–50 min 30% de B e em 50 min 3 % de B. Os cromatogramas foram registrados a 274 e 280nm. A identificação dos compostos foi obtida comparando seus espectros de UV e tempos de retenção dos picos separados com os tempos de retenção dos padrões. Os compostos fenólicos identificados foram quantificados pelo método do padrão externo, sendo a quantificação baseada na área do pico. As curvas de calibração dos padrões foram preparadas diluindo os padrões (Sigma-Aldrich, San Luis, Missouri, Estados Unidos) de estoque com a solução extratora (85% H₂O, acidificado com 0,3% de ácido acético, e 15% Metanol) (Vetec, Duque de Caxias, Rio de Janeiro), sendo composta por oito pontos (1 a 128µg/ml) de (-)-epicatequina, (+)-catequina, cafeína e teobromina.

4.6.2. Determinação dos compostos fenólicos totais

O teor de compostos fenólicos totais das amêndoas (crus e torrados) e dos chocolates foi determinado espectrofotometricamente de acordo com o método de Folin-Ciocalteu. A extração dos compostos fenólicos foi feita em solvente aquoso, adaptado de LEE et al. (2003). Foram pesados 0,2g de cada amostra e adicionados 10mL de água destilada a 40°C (chocolate) e 100°C (nibs) para diluição das amostras. Uma alíquota de 0,5mL foi transferida para um balão volumétrico de 10mL, e em seguida transferidas para tubos de ensaio, adicionando-se 2,5mL do reagente Folin-Ciocalteu 10% (Dinâmica Química Contemporânea Ltda., Indaiatuba, São Paulo). A mistura permaneceu em repouso por 8 minutos, e após este período foram adicionados 2mL de carbonato de sódio 4% (Dinâmica Química Contemporânea Ltda., Indaiatuba, São Paulo). Após a incubação por 2 horas à 25°C e ao abrigo da luz, a absorbância foi medida em espectrofotômetro (Quimis, modelo Q898UV2, Diadema, São Paulo) a 773 nm (chocolate) e 740 nm (nibs), por se tratar de amostras diferentes e de composição diferente. Os resultados dos compostos fenólicos totais foram expressos em equivalentes de epicatequina (mg EAG.gamostra).

4.6.3. Determinação da capacidade Antioxidante - Ensaio de eliminação de radicais (DPPH)

A determinação da capacidade antioxidante por ensaio de eliminação de radicais foi realizado utilizando o 2,2-difenil-1-picrilhidrazilil (DPPH) pelo método de Molyneux (2004). Nesse ensaio diluiu-se 0,2g das amostras de amêndoas (crus e torrados) e chocolates em 10mL de água destilada (mesmo extrato para a análise de fenólicos totais). Em seguida, 100µL do extrato das amostras foram transferidos para tubos de ensaio contendo a 3,9mL da solução etanólica (Etanol – álcool absoluto 99,8% Vetec, Duque de Caxias, Rio de Janeiro) do radical DPPH (0,004%). As misturas foram armazenadas ao abrigo da luz por 30 minutos em temperatura ambiente ($\pm 25^{\circ}\text{C}$). A capacidade de eliminação de radicais livres foi então avaliada medindo a absorvância a 517nm em espectrofotômetro (Quimis, modelo Q898UV2, Diadema, São Paulo). O mesmo procedimento foi realizado com etanol (Vetec, Duque de Caxias, Rio de Janeiro) substituindo a amostra, considerado branco.

4.6.4. Determinação da capacidade antioxidante in vitro pelo método da co-oxidação do sistema β -caroteno:ácido linoleico (BCAL)

O método de análise antioxidante pelo sistema β -caroteno:ácido linoleico utilizado foi descrito por Miller (1971). Para o preparo da mistura reativa, adicionou-se 50 μ g de ácido linoleico (Sigma-Aldrich, San Luis, Missouri, Estados Unidos), 200mg de Tween 40 (Sigma-Aldrich, San Luis, Missouri, Estados Unidos), 1mL de solução de β -caroteno (Sigma-Aldrich, San Luis, Missouri, Estados Unidos) a 1mg/mL em clorofórmio (Vetec, Duque de Caxias, Rio de Janeiro). Posteriormente, a mistura foi submetida ao evaporador rotativo modelo 801 (Fisatom, São Paulo) a 50°C por 10 minutos para a completa evaporação do clorofórmio. A esta mistura isenta de clorofórmio, adicionou-se lentamente 50mL de água previamente saturada com oxigênio durante 30 minutos agitando-se vigorosamente. A mistura reativa, assim preparada, apresentou absorvância entre 0,6 e 0,7 em 470nm, medidas em espectrofotômetro (Quimis, modelo Q898UV2, Diadema, São Paulo). Outra mistura reativa foi preparada de forma semelhante com exceção da adição da solução de β -caroteno para o branco.

Para a preparação dos extratos das amostras de amêndoas e chocolate, foram pesadas 0,2g de cada amostra e diluídas em 10mL de água destilada. Em seguida, alíquotas de 5mL da emulsão foram transferidas para tubos contendo 0,5mL dos extratos diluídos, realizados em triplicata. Feita a mistura, os tubos foram agitados e imediatamente lidas as absorvâncias a 470nm. Após a primeira leitura, os tubos foram incubados em banho-maria modelo 314/2 (Nova Ética, Piracicaba, São Paulo) a 50°C para favorecer a reação de oxidação, e em intervalos de quinze minutos até completar 120 minutos, a leitura a 470nm foi repetida. Os resultados foram expressos como porcentagem de inibição da oxidação.

4.6.5. Determinação de Taninos Condensados – método Vanilina

A determinação de taninos condensados foi realizada por meio do método da vanilina e seguiu-se a metodologia proposta por Tiitto-Julkunem (1985). Para a preparação do extrato 0,5g das amostras de amêndoas e chocolate foram pesadas, adicionado 30mL de solução de acetona (Vetec, Duque de Caxias, Rio de Janeiro) a 80%. Essa mistura foi agitada por 20 minutos e filtrada em papel filtro (Filtrilo,

Colombo, Paraná). Repetiu-se o processo de adição de 30mL de acetona a 80% por mais duas vezes. Os extratos resultantes tiveram seu volume final ajustado para 100mL.

Para a realização da análise adicionou-se em tubo de ensaio (revestido com papel alumínio) 0,5mL do extrato, 3mL de solução metanólica de vanilina (Zara Lab, Juiz de Fora, Minas Gerais) a 4%, agitou-se em vortex essa mistura, adicionou-se 1,5mL de ácido clorídrico concentrado (Dinâmica Química Contemporânea Ltda., Indaiatuba, São Paulo), agitou-se a mistura mais uma vez e em seguida ela foi deixada em repouso por 20 minutos. A absorbância das amostras foi lida em espectrofotômetro (Quimis, modelo Q898UV2, Diadema, São Paulo) a 500nm. Os resultados foram expressos em mg de catequina por 100g de amostra em base seca.

4.7. Análise de espectroscopia por infravermelho médio (MIR)

As amostras de amêndoas de cacau (sem torra e torradas) e chocolates produzidos foram submetidas à análise do infravermelho médio (MIR) (~ 4000-400 cm). Os espectros das amostras foram obtidos por meio da Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier por meio da Reflexão Total Atenuada (FTIR-ATR) em equipamento Cary® 630 FTIR (Agilent Technologies Inc., Santa Clara, CA, USA), sob a faixa do infravermelho médio, com número de onda de 4000 cm^{-1} a 600 cm^{-1} , resolução de 4 cm^{-1} , 64 scans de varredura na amostra e leitura através do cristal de diamante, sendo obtidos os espectros no modo de absorbância. As máximas absorbâncias associadas à sua faixa de número de onda foram utilizadas como variáveis de estudos para análise estatística e posterior comparação do perfil espectroscópico dos mesmos.

4.8. Planejamento Experimental

O experimento foi conduzido em esquema fatorial 2x4 com três repetições. Os resultados das medidas analíticas das amêndoas de cacau foram submetidos à análise de variância e teste F a 5% de significância. Os resultados das medidas analíticas dos chocolates foram submetidos à análise de variância e de regressão em função dos tratamentos a 5% de significância. Os modelos matemáticos foram escolhidos de acordo com os efeitos significativos do modelo proposto ($P < 0,05$), falta de ajuste não significativa ($P > 0,05$) e coeficientes de determinação (R^2) em relação ao SQ_{TRAT} .

Para a análise dos espectros obtidos por MIR, após a identificação dos principais picos (máximas absorbâncias) os mesmos foram relacionados aos grupos funcionais com dados da literatura. Os espectros, obtidos foram organizados em conjunto de dados numéricos e foram tratados por meio do Microsoft Office Excel 2010®. Análise de Componentes Principais (ACP) foi realizada nos resultados obtidos das amostras de chocolate criando um novo sistema de coordenadas com eixos ortogonais, dando origem aos componentes principais (CP's).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Avaliação da qualidade das amêndoas de cacau

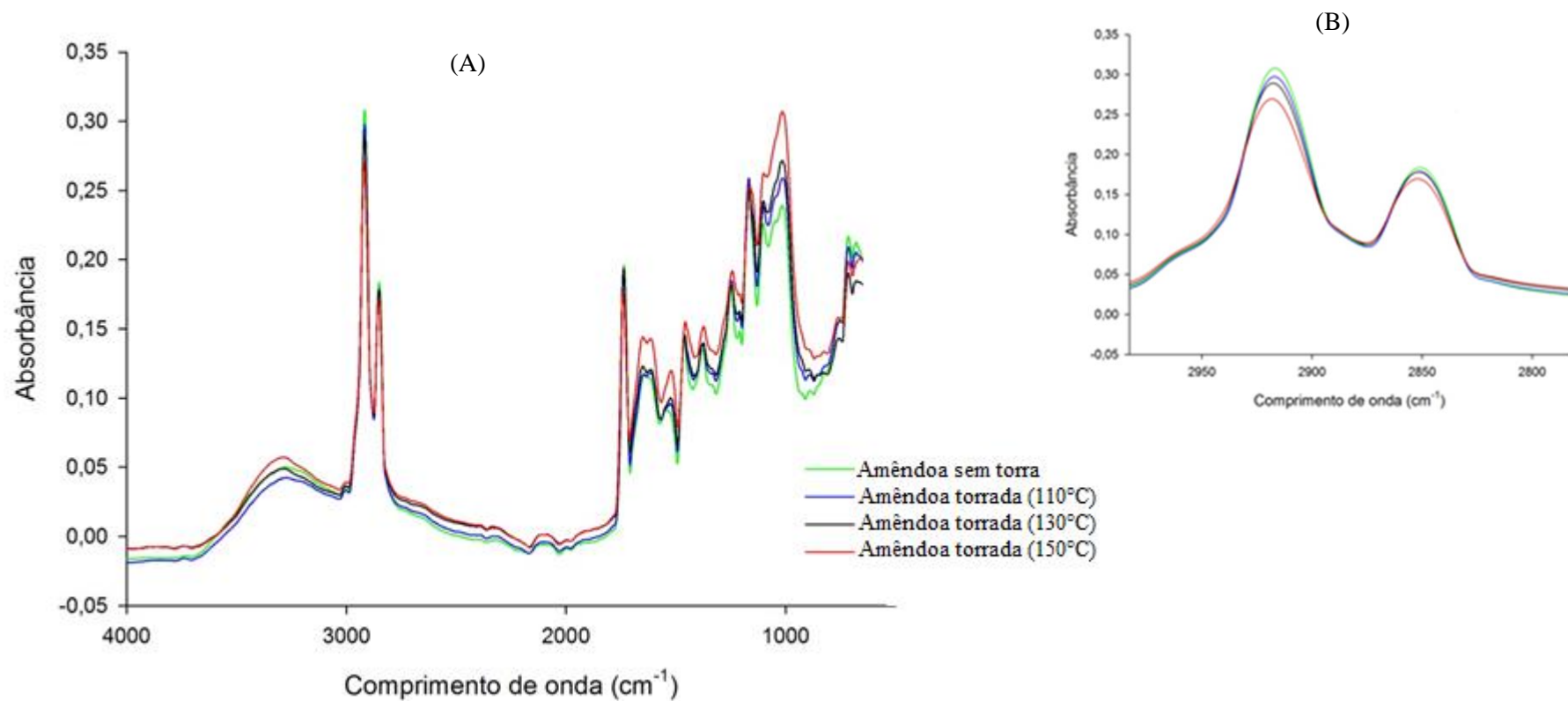
Por meio da prova de corte realizada nas amêndoas de cacau foi determinado um índice de fermentação de 72,33%, os percentuais de amêndoas mofadas e de ardósia foram de 0% e o percentual de amêndoas germinadas foi de 1,3%, sendo classificadas em amêndoas de cacau Tipo I, onde o percentual de amêndoas germinadas deve estar abaixo de 5%, podendo considerar essas amêndoas como de boa qualidade (BRASIL, 2008).

5.2. Pré-teste de temperaturas de torra

Após a torra das amêndoas nas temperaturas de: sem torra, 110°C, 130°C e 150°C, foi realizada a análise de MIR com o objetivo de realizar comparações entre os perfis espectroscópicos de amêndoas de cacau sem torra e torradas a diferentes temperaturas, afim de analisar as mínimas perdas causadas pelo processo de torra e de determinar qual temperatura as amêndoas deveriam ser torradas para produção dos chocolates.

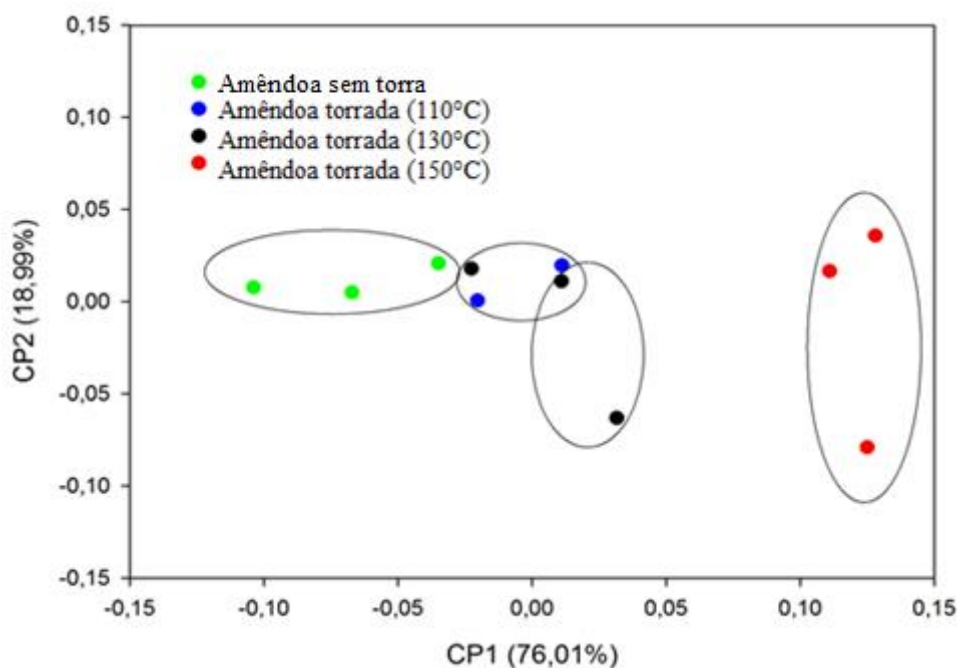
Após a obtenção dos espectros, foram identificados 18 bandas, com os valores das máximas absorbâncias, associadas à sua faixa de número de onda, que foram utilizados para análise estatística. Pode-se observar que o comportamento dos espectros das amostras foi semelhante com diferença apenas na intensidade das absorbâncias (Figura 5A). A partir do espectro (Figura 5B) observou-se que o aumento das temperaturas de torra das amêndoas de cacau resultou na diminuição da intensidade das absorbâncias nas regiões de 2983 – 2783 cm^{-1} (vibrações C-H) e 1768 – 1694 cm^{-1} (vibrações C=O) associadas a lipídeos e compostos fenólicos (BATISTA et al., 2016). Essa redução pode ocorrer devido à degradação desses compostos no processo de torra, ou seja, quanto maior a temperatura de torra, maior pode ser essas perdas. Ioannone et al. (2015) avaliaram a concentração de compostos fenólicos durante a torrefação das amêndoas de cacau e concluíram que a torra do cacau causou grandes diferenças na concentração de compostos fenólicos.

Figura 5 - Espectros das amêndoas de cacau sem torra e torradas a diferentes temperaturas obtidos por MIR, (A) espectro composto pela região de 4000 – 600 cm^{-1} ; (B) região ampliada de 2983 – 2783 cm^{-1} .



A ACP foi aplicada ao conjunto de dados para verificar as diferenças na composição das amostras (Figura 6). Os componentes principais (CP1 e CP2) mostraram uma clara separação entre as amostras de cacau de acordo com a temperatura de torra, descrevendo juntos 95% da variância total dos dados. O CP1 explicou 76,01% da variância, com alta correlação com todas as bandas analisadas, obtendo correlação negativa com os números de onda 2914, 2848 e 1737 cm^{-1} , associados a estruturas aromáticas atribuídas a compostos fenólicos, que se confirma pela observação na diferença de intensidade das bandas (Figura 5B).

Figura 6 - Gráfico de dispersão das amostras de amêndoas de cacau sem torra torradas a diferentes temperaturas em relação às componentes principais CP1 e CP2.



O CP1 foi o componente que melhor representou a distribuição dos dados, no qual as amostras foram separadas de acordo com a temperatura empregada no momento da torra, formando quatro grupos distintos, verificada na dispersão dos dados (Figura 6), sendo possível observar que as amêndoas torradas a 110 e 130°C apresentaram comportamentos similares e de forma menos dispersa quando comparadas com o cacau sem torra e torradas a 150°C.

Verificou-se a partir do gráfico de dispersão que as amêndoas torradas a 110°C tiveram características mais próximas das amêndoas sem torra, em comparação com as

temperaturas de 130 e 150°C, que apresentaram uma maior dispersão, resultados esses já esperados. Logo, por ser uma temperatura mais branda, com menores perdas de compostos fenólicos, a temperatura de 110°C foi escolhida para ser utilizada na torra das amêndoas para posterior produção de chocolates.

5.3. Composição e parâmetros físico-químicos das amêndoas de cacau e chocolates produzidos

Para os resultados das análises realizadas nas amêndoas de cacau sem torra e torradas foram calculadas as médias e aplicada a análise de variância a 5% de significância para as análises físico-químicas de pH e acidez titulável, teor de açúcar total, açúcar redutor, gordura, proteína, umidade e cinzas (Tabela 3).

Tabela 3. Valores médios e desvios padrões das análises físico-químicas e de composição das amostras de amêndoas de cacau sem torra e torradas.

Variáveis	Amêndoas de cacau	
	Sem torra	Torradas
pH	5,15 ± 0,02 ^a	5,05 ± 0,01 ^b
Acidez (meqNaOH/100g)	12,05 ± 1,07 ^a	5,72 ± 1,73 ^b
Umidade (%)	6,29 ± 0,15 ^a	3,5 ± 0,1 ^b
Cinzas (%)	2,67 ± 0,08 ^a	2,61 ± 0,07 ^a
Gordura (%)	31,60 ± 0,75 ^a	32,58 ± 0,66 ^b
Proteína (%)	14,36 ± 0,34 ^a	13,55 ± 0,12 ^b
Açúcar Total (%)	12,39 ± 2,95 ^a	13,89 ± 1,19 ^a
- Açúcar Redutor (%)	1,12 ± 0,062 ^a	0,81 ± 0,063 ^b

Resultados seguidos de mesma letra em linha não diferem (P < 0,05) pelo teste F.

Houve diferenças significativas ($P < 0,05$) entre as amostras de amêndoas de cacau sem torra e torradas para a maioria das variáveis analisadas, exceto para o teor de cinzas e açúcar total. Nas variáveis que apresentaram diferença, todos os resultados médios das amêndoas sem torra foram superiores aos valores da torrada, exceto para a gordura.

As análises de cinzas tem o objetivo de determinar o teor de minerais presentes, como para as amostras não houve diferença significativa no teor de cinzas entre amêndoas sem torra e torradas, acredita-se que também não existam diferenças no teor de minerais entre elas.

Leite (2012) em análise da composição de amêndoas sem torra encontrou valores próximos aos do presente estudo, onde o valor de umidade foi 6,95%, pH de 5,2 e acidez total de 8,76 meqNaOH/100g. Para as amêndoas torradas o autor obteve valores de pH, umidade, gordura e proteína próximos aos encontrados nesse estudo, 5,0, 3,34%, 36,52% e 14,61%, respectivamente.

A diferença observada para os teores de acidez e umidade podem ser justificados por ocorrer durante o processo de torra uma maior perda de água e dos ácidos voláteis presentes nas amêndoas, como por exemplo, o ácido acético, reduzindo assim de maneira significativa o teor de acidez. A queda no teor de proteína e açúcar redutor pode ser explicada pela reação de Maillard que segundo Francisquini et al. (2017), se tem início quando o alimento é submetido a temperaturas elevadas, ocorrendo a condensação do grupo carbonila do açúcar redutor com o grupamento amino livre de aminoácidos, peptídeos ou proteínas. Na fase intermediária da reação de Maillard ocorre a degradação de cetosaminas, nela se desenvolve o poder redutor, ocasionando uma diminuição de pH, o que foi observado (Tabela 3).

Os dados obtidos por meio das análises de composição dos chocolates foram submetidos à análise de variância e de regressão. Apesar de encontrar diferença significativa para a composição das amêndoas de cacau, o mesmo não foi observado para a composição dos chocolates, onde não ocorreu diferença significativa ($P > 0,05$) para o tipo de amêndoas utilizadas, ou seja, não houve diferença entre os chocolates produzidos com amêndoas sem torra e torradas em relação às análises de composição e parâmetros físico-químicos, sendo possível afirmar que o processo de torra não exerceu influência para essas variáveis. Esse resultado pode ser explicado pela adição de outros ingredientes na produção do chocolate, onde essas diferenças do tipo de cacau foram neutralizadas pela composição desses ingredientes. A temperatura de torra também pode

não ter influenciado na composição, tornando interessante a opção de retirada da etapa de torra, sendo uma economia para a empresa preservando a composição química dos chocolates.

Para a concentração de massa de cacau nos chocolates foi observada diferença significativa ($P < 0,05$) para a maioria das variáveis analisadas. Na Tabela 4 estão descritos os valores mínimos e máximos, as equações obtidas pela análise de regressão e o coeficiente de determinação (R^2).

Tabela 4. Composição e parâmetros físico-químicos das diferentes formulações de chocolates produzidos a partir de amêndoas de cacau sem torra e torradas (valores mínimos, valores máximos, equações de regressão ajustadas e coeficientes de determinação (R^2)).

Chocolates						
Variáveis	Amêndoas Sem torra			Amêndoas Torradas		
	Mín. – Máx.	Equações Estimadas	R^2	Mín. – Máx.	Equações Estimadas	R^2
pH	5,86 - 6,42	$\hat{Y} = -0,00873x+6,57367$	0,4454	5,74 - 6,28	$\hat{Y} = -0,01247x+6,704$	0,8321
Acidez (meqNaOH/100g)¹	3,04 - 7,09	$\hat{Y} = \bar{Y}$	**	2,72 - 5,97	$\hat{Y} = 0,09083x-0,51333$	0,9556
Umidade (%)	1,08 - 2,86	$\hat{Y} = 0,04767x-0,74833$	0,9452	0,86 - 2,34	$\hat{Y} = 0,04117x-0,63$	0,8930
Cinzas (%)	1,28 - 2,09	$\hat{Y} = 0,0245x+0,33667$	0,9813	1,28 - 2,16	$\hat{Y} = 0,0273x+0,21167$	0,9897
Gordura (%)	31,35 - 33,62	$\hat{Y} = \bar{Y}$	**	30,87 - 33,86	$\hat{Y} = \bar{Y}$	**
Proteína (%)	7,54 - 12,62	$\hat{Y} = 0,16193x+1,11867$	0,9919	6,40 - 12,84	$\hat{Y} = 0,1688x+0,85667$	0,9369
Açúcar Total (%)	33,70 - 71,11	$\hat{Y} = -1,073x+110,49$	0,9466	30,35 - 77,15	$\hat{Y} = -1,14x+113,29$	0,8966
- Açúcar redutor (%)	2,76 - 5,66	$\hat{Y} = 0,054x+1,07$	0,6909	2,47 - 4,95	$\hat{Y} = 0,05x+1,071$	0,6476

¹Miliequivalentes de solução de NaOH (0,1 N) por 100 g de produto. \hat{Y} = variável resposta. x = valores obtidos nas medidas analíticas para geração da variável resposta. \bar{Y} = valor médio da respectiva medida analítica. ** Não foi possível ajustar equações de regressão de modelo linear ou quadrático ($P > 0,05$).

Podemos observar o efeito dos diferentes percentuais de massa de cacau nos chocolates, onde para as formulações produzidas a partir de amêndoas de cacau sem torra os teores de umidade, cinzas, proteína e açúcar redutor obtiveram um comportamento linear crescente, ou seja, com o aumento da massa de cacau nas formulações houve o aumento dessas variáveis, já para os valores de pH e açúcar total foi o oposto, obteve-se um comportamento linear decrescente, onde houve redução no valor desses parâmetros à medida que se aumentou a massa de cacau. Para os valores de acidez e gordura, o aumento da massa de cacau não teve efeito sobre essas variáveis, não sendo possível ajustar um modelo para elas.

Os resultados encontrados para as formulações produzidas a partir de amêndoas de cacau torradas demonstraram um comportamento linear crescente para os teores de acidez, umidade, cinzas, proteína e açúcar redutor, e um comportamento linear decrescente para os valores de pH e açúcar total, à medida que se aumentou a massa de cacau. O aumento do teor de massa de cacau também não apresentou efeito sobre o teor de gordura dos chocolates. Esses resultados mostram que os chocolates produzidos com amêndoas de cacau sem torra e torradas apresentaram comportamentos semelhantes, diferenciando apenas no efeito da acidez, onde com as amêndoas sem torra não foi possível observar um comportamento e com amêndoas torradas obteve um comportamento linear crescente.

O comportamento dessas variáveis pode ser explicado devido às formulações utilizadas para a produção dos chocolates, onde o chocolate produzido com menor percentual de massa de cacau (a partir tanto de amêndoas sem torra quanto torradas) foi adicionado de grande percentual de açúcar, fazendo com que a sua composição se sobressaia em relação aos outros ingredientes. À medida que se aumenta o percentual de massa de cacau na produção, a quantidade de açúcar adicionada é substituída, adicionando-se menos açúcar, conseqüentemente, há o aumento dos valores dos outros componentes presentes nos demais ingredientes, principalmente das amêndoas.

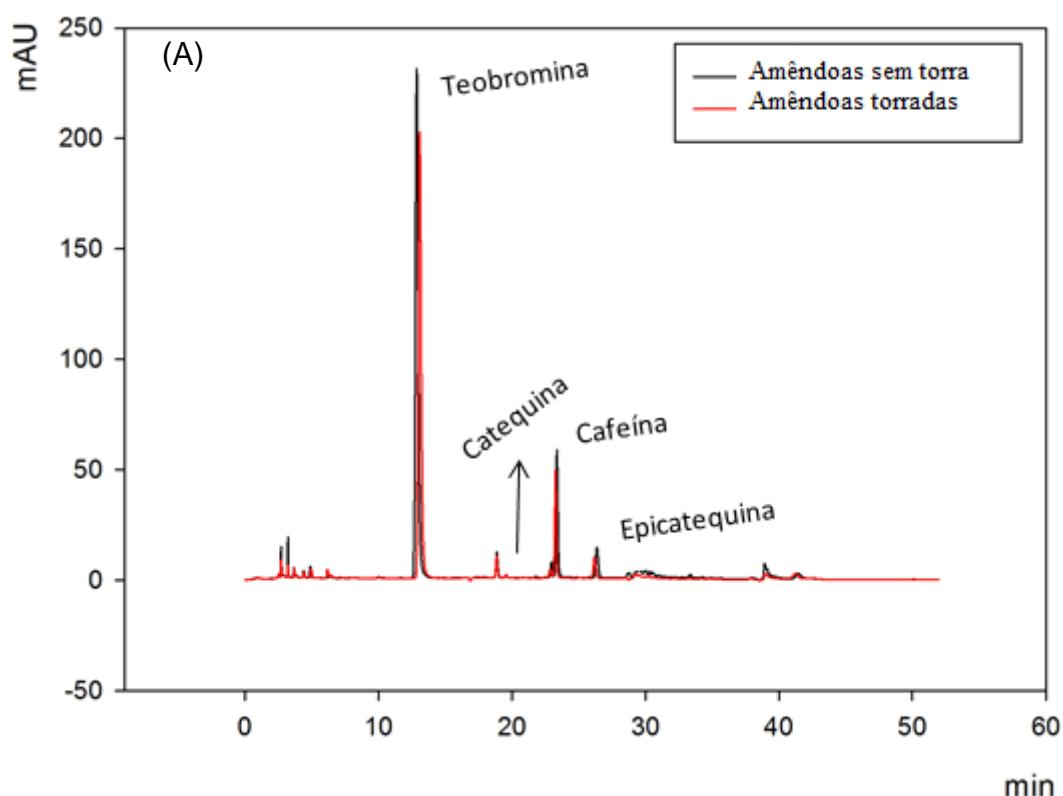
Para os valores de gordura nos chocolates produzidos tanto com amêndoas sem torra como com torradas, não houve ajuste de modelo de regressão linear ou quadrático ($P > 0,05$), ou seja, a concentração de massa de cacau e o tipo de cacau utilizado (cru e torrado) não exerceu influência sobre os valores dessa variável. Esse resultado se difere do encontrado por Estrada et al. (2020), que ao avaliarem percentuais de massa de cacau variando de 60 a 100%, observaram um aumento no teor de gorduras totais à medida em

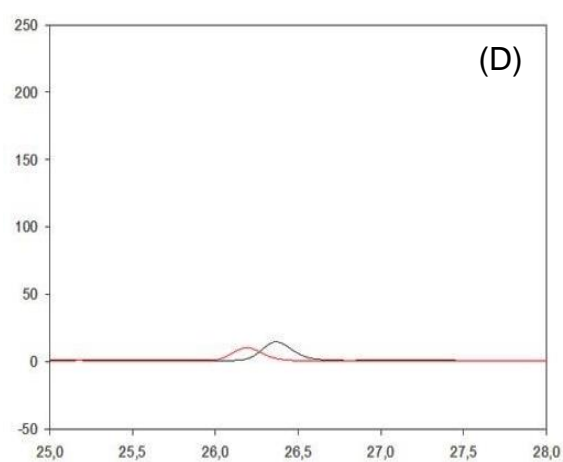
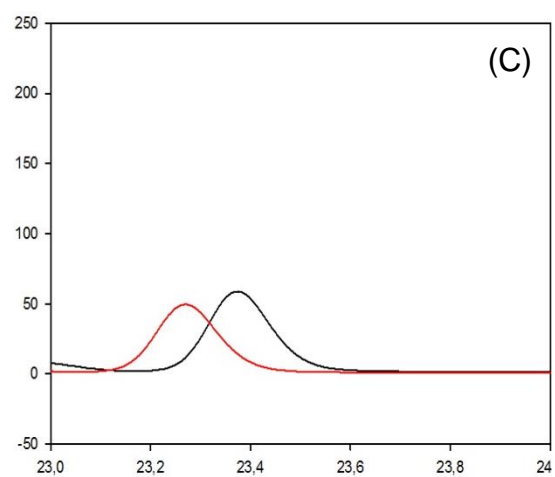
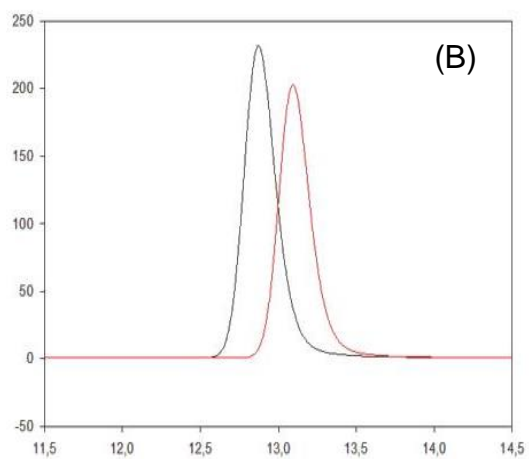
que se aumentou o teor de massa de cacau nos chocolates, com um comportamento crescente para o teor de gordura, variando de 32,71 a 57,90%, respectivamente.

5.4. Teor de compostos bioativos e atividade antioxidante de amêndoas de cacau e chocolates produzidos

A partir da análise por CLAE foram obtidos cromatogramas relacionados aos compostos bioativos de interesses: teobromina, cafeína, catequina e epicatequinas. A partir dos cromatogramas das amêndoas de cacau sem torra e torradas (Figura 7), foi possível verificar a redução da área dos picos dos compostos analisados (Figuras 7B, 7C e 7D), podendo observar essa diferença visualmente, sendo confirmadas nas posteriores análises estatísticas.

Figura 7 – (A) Cromatograma geral dos compostos bioativos das amêndoas de cacau sem torra e torradas obtidas por CLAE; (B) cromatograma referente à teobromina; (C) cafeína e (D) epicatequina.





Os resultados das análises dos teores de compostos fenólicos totais, atividades antioxidantes (DPPH e BCAL), fenólicos (epicatequina, catequina e taninos condensados) e das metilxantinas (teobromina e cafeína) das amêndoas sem torra e torradas estão apresentados na Tabela 5.

Tabela 5. Valores médios e desvios padrões para fenólicos totais, atividade antioxidante, teobromina, cafeína, catequina, epicatequina e taninos condensados das amêndoas sem torra e torradas.

Variáveis	Amêndoas de cacau	
	Sem torra	Torradas
Fenólicos Totais		
(mg/100g)	450,77 ± 11,22 ^a	398,47 ± 12,44 ^b
Atividade antioxidante		
- DPPH (%)	44,98 ± 4,65 ^a	44,35 ± 0,15 ^a
- BCAL (%)	91,96 ± 3,65 ^a	90,58 ± 2,62 ^a
Teobromina (mg/100g)	3249,36 ± 128,87 ^a	2433,37 ± 177,69 ^b
Cafeína (mg/100g)	272,55 ± 11,10 ^a	224,18 ± 4,77 ^b
Catequina (mg/100g)	34,47 ± 0,82 ^a	38,43 ± 2,78 ^a
Epicatequina (mg/100g)	466,51 ± 36,63 ^a	292,58 ± 17,78 ^b
Taninos condensados		
(mg/100g)	9179,2 ± 366,66 ^a	7072,1 ± 496,18 ^b

Resultados seguidos de mesma letra em linha não diferem ($P < 0,05$) pelo teste F.

É possível observar que as atividades antioxidantes (DPPH e BCAL) e o teor de catequina não apresentaram diferença significativa ($P < 0,05$) entre as amêndoas sem torra e torradas. Já para os outros parâmetros analisados, teor de fenólicos totais, teobromina, cafeína, epicatequina e taninos condensados observou-se uma diminuição dos valores após a torra, com diferença significativa ($P > 0,05$).

Cruz et al. (2015) em suas análises de amêndoas sem torra encontraram valores diferentes dos encontrados no presente estudo. Os autores encontraram valores de 248mg/100g de catequina e 937mg/100g de epicatequina, muito acima dos valores encontrados nesse estudo. Para as metilxantinas, os autores encontraram 216mg/100g de cafeína, sendo o valor mais próximo obtido nesse estudo, e 618mg/100g de teobromina,

valor abaixo do encontrado. Essas diferenças podem ser devido a variedade de cacau utilizadas, condições climáticas de cultivo e diferentes tratamentos no seu beneficiamento.

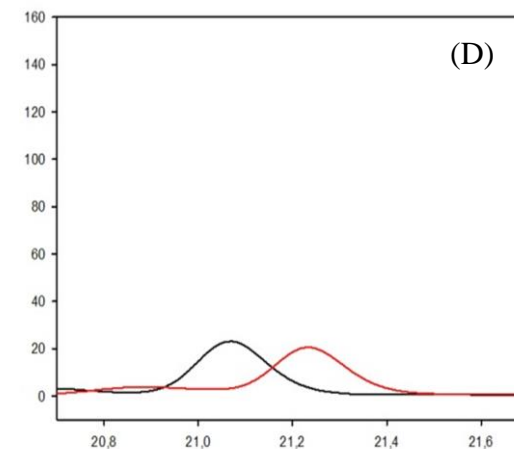
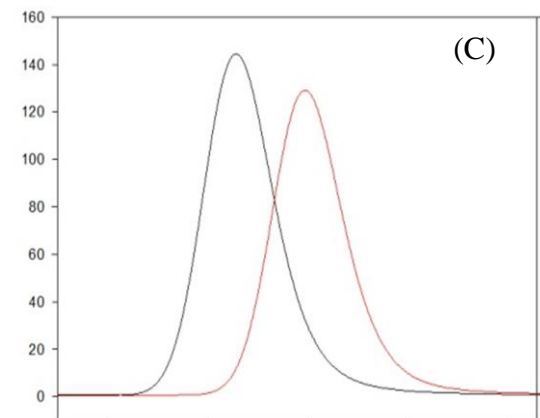
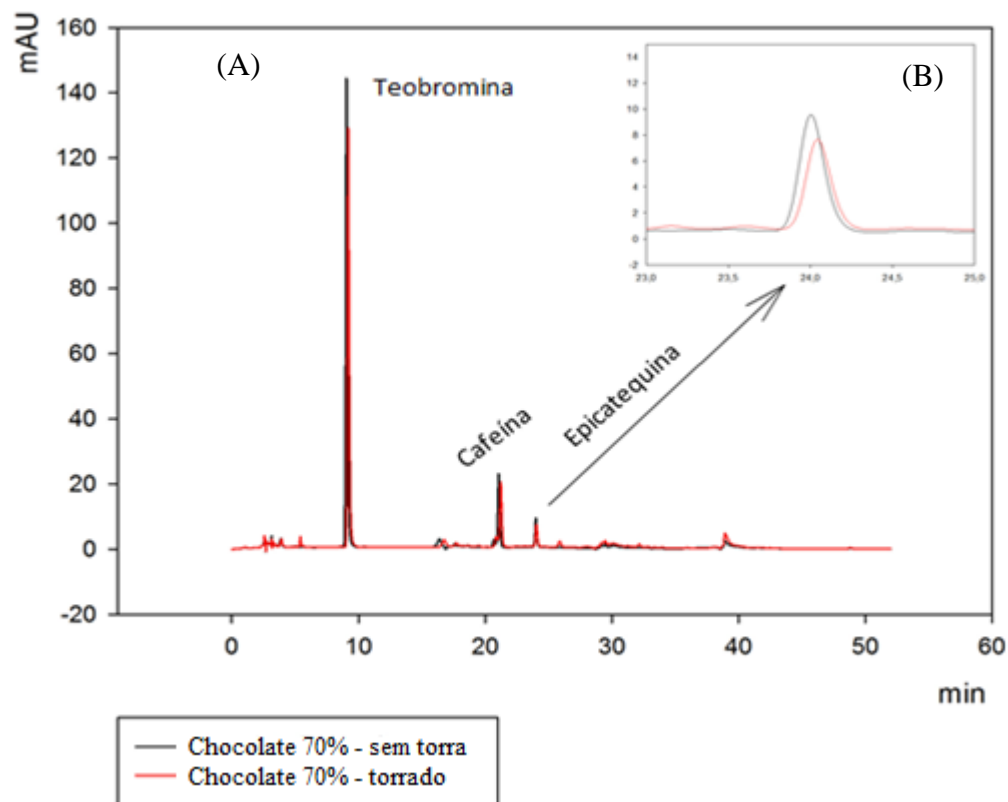
Esses resultados apontam que o processo de torra dessas amêndoas, mesmo utilizando temperatura mais branda exerceu influência sobre suas características, tanto na sua composição e parâmetros físico-químicos (Tabela 3), quanto para compostos bioativos. Essas mudanças nos teores de compostos fenólicos podem ser explicadas devido às diversas reações que ocorrem nessa etapa, como é o exemplo da oxidação não enzimática desses compostos para o-quinonas, podendo ocorrer a condensação de compostos oxidados com outros polifenóis, proteínas e polissacarídeos em substâncias altamente polimerizadas. Essas reações degradam e formam novos compostos, dando origem ao aroma e sabor característico de chocolate (Żyżelewicz et al., 2018).

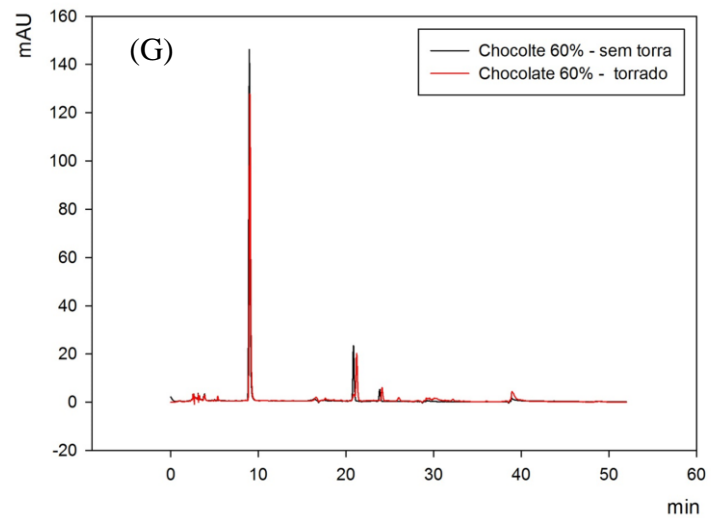
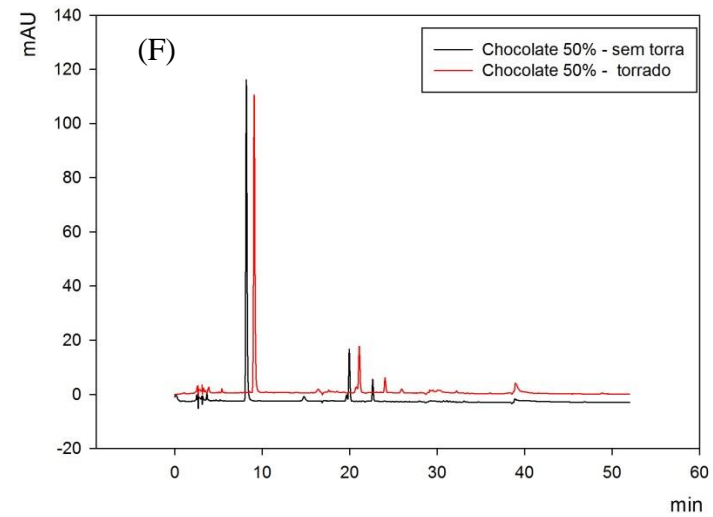
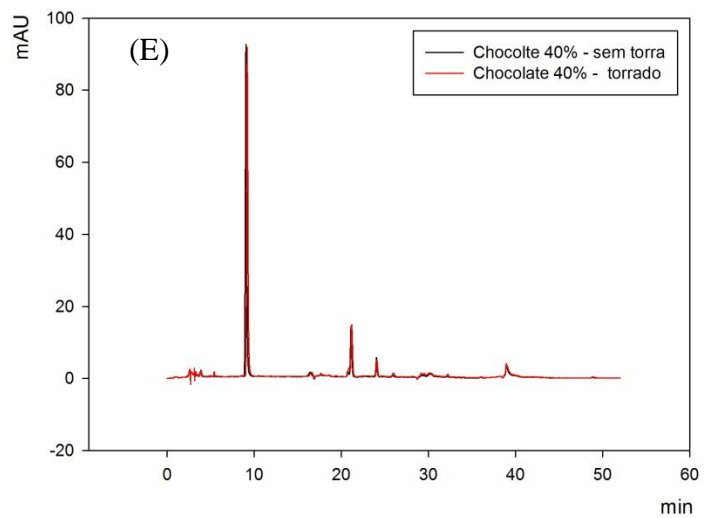
Segundo Kothe et al. (2013), além da ocorrência da reação de epimerização de monômeros durante o processo de torra das amêndoas de cacau, ocorre também a epimerização dos dímeros de procianidinas (taninos condensados), resultando na redução encontrada no teor de procianidinas, concluindo que quanto maior é a temperatura de torra, mais a epimerização é acelerada, influenciando no perfil de flavanol.

A partir dos resultados encontrados apesar da redução no teor de compostos fenólicos nas amêndoas pelo processo de torra ter ocorrido, a atividade antioxidante não foi afetada. Tal fato pode ter ocorrido devido à grande quantidade de novos compostos formados nessas reações que acontecem nas amêndoas durante o processo de torra.

Foram obtidos cromatogramas relacionados aos compostos bioativos de interesse também das formulações de chocolate produzidos a partir das amêndoas sem torra e torradas. Na Figura 8 estão ilustrados os cromatogramas das formulações processadas, mostrando primeiramente a formulação de 70% de massa de cacau, de amêndoas sem torra e torradas, que é a formulação com maior concentração de cacau e posteriormente os cromatogramas das formulações de 40, 50 e 60%.

Figura 8 - (A) Cromatograma geral obtido por CLAE dos compostos bioativos dos chocolates com 70% de massa de cacau produzidos a partir de amêndoas de cacau sem torra e torradas. (B) cromatograma referente à epicatequina; (C) teobromina; (D) cafeína; (E) cromatograma geral dos compostos bioativos dos chocolates com 40% de massa de cacau; (F) cromatograma geral dos compostos bioativos dos chocolates com 50% de massa de cacau e (G) cromatograma geral dos compostos bioativos dos chocolates com 60% de massa de cacau .





Por meio dos cromatogramas e posteriores análises estatísticas foi possível observar a diferença na área dos picos de epicatequina (Figura 8), percebendo uma redução desse composto nos chocolates produzidos com amêndoas torradas. Nos picos de teobromina e cafeína as áreas de pico são bem semelhantes, não havendo alteração nesses teores para chocolates produzidos com amêndoas sem torra e torradas. A catequina não foi detectada para nenhum dos chocolates produzidos.

Os dados dos compostos bioativos dos chocolates foram submetidos à análise de variância, observando-se significância ($P < 0,05$) para o tipo de amêndoas utilizada nos teores de compostos fenólicos totais, epicatequina e taninos condensados (Tabela 6), ou seja, houve diferença significativa entre os chocolates produzidos com amêndoas sem torra e torradas em relação a esses parâmetros. Já para as atividades antioxidantes (DPPH e BCAL) e os teores de teobromina e cafeína, o tipo de amêndoas utilizadas na produção dos chocolates não influenciou de maneira significativa ($P > 0,05$), ou seja, a torra não influenciou nos teores desses compostos nos chocolates produzidos.

Tabela 6. Valores médios e desvios padrões dos valores de fenólicos totais, atividades antioxidantes (DPPH e BCAL), teobromina, cafeína, epicatequina e taninos condensados das formulações de chocolates produzidos a partir das amêndoas de cacau sem torra e torradas.

Chocolates			
Variáveis		Amêndoas sem torra	Amêndoas torradas
Fenólicos Totais (mg/100g)	40%	372,04 ± 12,24 ^a	344,72 ± 5,19 ^b
	50%	442,40 ± 13,56 ^a	400,46 ± 14,11 ^b
	60%	544,59 ± 40,25 ^a	444,58 ± 45,16 ^b
	70%	574,50 ± 30,13 ^a	511,66 ± 6,98 ^b
Atividade Antioxidante			
- DPPH (%)	40%	15,77 ± 0,32 ^a	16,18 ± 0,58 ^a
	50%	19,71 ± 1,49 ^a	19,94 ± 0,48 ^a
	60%	21,14 ± 0,46 ^a	21,96 ± 1,34 ^a
	70%	21,77 ± 1,82 ^a	25,69 ± 0,25 ^a
- BCAL (%)	40%	35,56 ± 1,90 ^a	44,76 ± 2,40 ^a
	50%	37,46 ± 2,77 ^a	41,90 ± 3,58 ^a
	60%	49,42 ± 3,94 ^a	48,78 ± 3,79 ^a
	70%	52,17 ± 3,19 ^a	57,36 ± 3,76 ^a
Teobromina (mg/100g)	40%	883,90 ± 18,50 ^a	840,56 ± 124,96 ^a
	50%	1098,60 ± 53,84 ^a	1087,53 ± 77,51 ^a
	60%	1356,10 ± 51,97 ^a	1178,03 ± 74,95 ^a
	70%	1527,70 ± 144,77 ^a	1521,10 ± 223,37 ^a
Catequina (mg/100g)		-	-
Cafeína (mg/100g)	40%	77,71 ± 2,28 ^a	81,20 ± 13,81 ^a
	50%	95,27 ± 5,51 ^a	102,03 ± 7,90 ^a
	60%	119,58 ± 3,93 ^a	107,82 ± 7,03 ^a
	70%	135,43 ± 11,00 ^a	134,83 ± 19,57 ^a
Epicatequina (mg/100g)	40%	132,35 ± 13,16 ^a	85,81 ± 16,07 ^b
	50%	174,34 ± 12,53 ^a	106,64 ± 21,85 ^b
	60%	188,60 ± 37,94 ^a	127,52 ± 13,94 ^b
	70%	212,49 ± 10,13 ^a	140,63 ± 43,78 ^b
Taninos (mg/100g)	40%	4459,50 ± 780,35 ^a	2622,60 ± 391,64 ^b
	50%	5555,60 ± 351,17 ^a	3408,40 ± 308,08 ^b
	60%	5665,70 ± 168,76 ^a	4179,20 ± 125,02 ^b
	70%	5800,80 ± 930,97 ^a	5210,20 ± 1107,0 ^b

Resultados seguidos de mesma letra em linha não diferem (P < 0,05) pelo teste F.

Os flavonóides, catequina, epicatequina e procianidinas (taninos condensados), são compostos considerados como termicamente instáveis (Kothe et al., 2103), o que pode explicar o resultado encontrado, uma vez que não se detectou catequina nos chocolates produzidos, e aqueles produzidos a partir de amêndoas torradas obtiveram um menor teor de epicatequina e taninos condensados em relação aos produzidos com amêndoas sem torra e, conseqüentemente, o teor de compostos fenólicos totais também foi reduzido nesses chocolates.

Mudenuti et al. (2018), em estudo com chocolates elaborados a partir de amêndoas sem torra e torradas (à 100°C) identificaram que os chocolates produzidos com amêndoas sem torra continham mais polifenóis em relação aos chocolates elaborados com amêndoas torradas. Żyżelewicz et al. (2018) desenvolveram chocolates com diferentes porcentagens de liquor de cacau obtidos de amêndoas sem torra e torradas (à 120 e 135°C), e observaram que a formulação que continha apenas liquor de cacau torrado foi o chocolate que apresentou o menor valor de compostos fenólicos.

Para os valores de atividade antioxidante, percebe-se que mesmo com a redução no teor de compostos fenólicos nos chocolates produzidos, esse parâmetro não foi afetado, mesmo comportamento observado para as amêndoas de cacau (Tabela 5).

O efeito dos diferentes percentuais de massa de cacau no teor de compostos fenólicos totais, atividade antioxidante, epicatequina e metilxantinas (teobromina e cafeína) das formulações de chocolate estudadas foi avaliado por meio da análise de regressão (Tabela 7).

Tabela 7. Equações de regressão ajustadas para os teores de compostos fenólicos totais, atividade antioxidante, teobromina, cafeína e epicatequinas (valores mínimos, valores máximos, equações de regressão ajustadas e coeficientes de determinação (R²)) dos chocolates elaborados com amêndoas sem torra e torradas.

Chocolates						
Variáveis*	Amêndoas Sem torra			Amêndoas Torradas		
	Mín. – Máx.	Equações Estimadas	R²	Mín. – Máx.	Equações Estimadas	R²
Fenólicos Totais (mg/100g)	350,32 - 602,37	$\hat{Y} = 7,1011x + 87,35533$	0,8868	340,07 - 518,35	$\hat{Y} = 5,2814x + 136,27633$	0,8841
Atividade antioxidante						
- DPPH (%)	15,58 - 23,41	$\hat{Y} = 0,19437x + 8,909$	0,7347	15,72 - 25,90	$\hat{Y} = 0,30543x + 4,14533$	0,9547
- BCAL (%)	33,65 - 55,55	$\hat{Y} = 0,618x + 9,661$	0,8148	39,68 - 59,68	$\hat{Y} = 0,447x + 23,63$	0,5973
Teobromina (mg/100g)	869,11 - 1621,87	$\hat{Y} = 21,89027x + 12,6203$	0,9257	700,43 - 1765,78	$\hat{Y} = 21,3204x - 15,82367$	0,7854
Cafeína (mg/100g)	75,08 - 143,16	$\hat{Y} = 1,97473x - 1,61367$	0,9388	66,55 - 156,56	$\hat{Y} = 1,66703x + 14,78233$	0,7229
Epicatequina (mg/100g)	118,71 - 224,18	$\hat{Y} = 2,34677x + 42,872$	0,6151	80,53 - 209,39	$\hat{Y} = 2,22977x + 1,26367$	0,5447
Taninos condensados (mg/100g)	3573,57 - 6726,73	$\hat{Y} = 41,34x + 3096,60$	0,3847	2177,18 - 6471,47	$\hat{Y} = 85,33x - 838,34$	0,7825

* número de replicatas: 3. \hat{Y} = variável resposta. x = valores obtidos nas medidas analíticas para geração da variável resposta.

Todos os parâmetros obtiveram um comportamento linear crescente em relação ao aumento de massa de cacau, ou seja, quanto maior a quantidade de massa de cacau nos chocolates, maior foi a sua capacidade antioxidante (DPPH e BCAL) e teores de compostos fenólicos, teobromina, cafeína, epicatequina e taninos condensados. Não foi possível detectar a presença de catequina nas amostras estudadas, podendo se considerar que a pequena quantidade de catequina presente nas amêndoas de cacau foi perdida durante o processo de produção de chocolate.

Żyżelewicz et al. (2018) em estudo com chocolates com 40% de massa de cacau elaborados com liquor produzidos com amêndoas de cacau sem torra e torradas, observaram que os chocolates produzidos a partir das amêndoas sem torra apresentaram um teor de epicatequina de 361,7mg/100g, enquanto os elaborados a partir das torradas 192,31mg/100g. No presente estudo, para a formulação de chocolate com menor porcentagem de massa de cacau (40%) observou-se valor de epicatequina de 118,71mg/100g para chocolates elaborados com amêndoas sem torra e 80,53mg/100g para chocolates elaborados com amêndoas torradas, valores esses abaixo do encontrados pelo autor, porém ambos apresentaram uma redução desse composto. A diferença desses valores pode ser explicada pela variação da composição das amêndoas de cacau, ela irá depender da variedade de cacau utilizada, onde esse autor utilizou cacau das variedades *Criollo e Forasteiro*, grau de maturação do fruto, do local de cultivo, condições climáticas, do seu processo de beneficiamento, principalmente nas etapas de fermentação e secagem, além do seu processamento dentro da indústria desde a torra até o produto final e a variação no método utilizado para a quantificação desses compostos.

Para os valores de teobromina, Żyżelewicz et al. (2018) obtiveram o valor de 703mg/100g para chocolates com liquor de amêndoas sem torra e 934mg/100g para torradas, valores próximos dos encontrados no presente trabalho, porém o valor de teobromina foi menor no chocolate produzido com amêndoas torradas, comportamento contrário ao dos autores. O mesmo comportamento ocorreu para o teor de cafeína, os autores obtiveram valores de 90mg/100g para chocolates produzidos com liquor de amêndoas sem torra e 103mg/100g para torradas, enquanto no presente estudo além de serem encontrados valores menores para o teor de cafeína, os chocolates produzidos com amêndoas de cacau torradas apresentaram menor valor que os produzidos com amêndoas sem torra.

Comparando-se os valores de atividade de inibição de radicais livres (DPPH) das amêndoas de cacau sem torra com os chocolates produzidos a partir das mesmas

podemos observar que as amêndoas de cacau sem torra apresentaram um percentual médio de 44,98% (Tabela 5) e os chocolates produzidos com essas amêndoas apresentaram um valor máximo de 23,41%. O valor médio da atividade de proteção à oxidação lipídica (BCAL) nessas mesmas amêndoas foi de 91,96%, enquanto que nos chocolates produzidos com as mesmas se alcançou um valor máximo de 55,55%. A partir disso é possível observar que apesar das atividades antioxidantes não serem influenciadas pelo processo de torra, ela é bastante influenciada pelo processo de produção dos chocolates, podendo ser explicada pela perda e/ou diluição dos compostos com a adição de outros componentes, como açúcar, leite, manteiga de cacau.

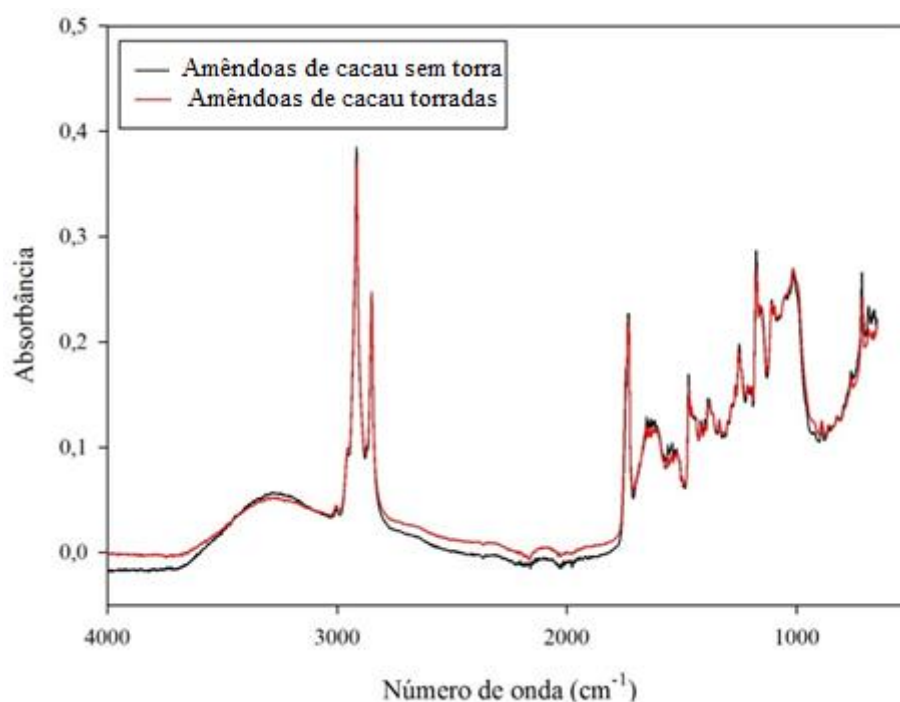
O teor de teobromina nas amêndoas sem torra foi de 3249,36 mg/100g, já no chocolate atingiu um valor máximo de 1621,87 mg/100g. O teor de cafeína atingiu um valor médio de 272,55 mg/100g nas amêndoas e apresentou no chocolate um valor máximo de 143,16 mg/100g. A quantidade de epicatequina foi de 466,51 mg/100g na amêndoa de cacau sem torra, e nos chocolates o seu valor máximo encontrado foi de 224,18 mg/100g. O teor médio de taninos condensados nas amêndoas sem torra foi de 9179,2 mg/100g, atingindo no chocolate um valor máximo de 6726,73 mg/100g. A partir dessa comparação é possível perceber que houve uma redução de aproximadamente 50% desses valores, redução considerável, mostrando novamente a influência do processo de produção dos chocolates.

O processo de produção dos chocolates mostrou-se muito prejudicial a esses compostos bioativos, podendo ser observada uma queda no teor dos compostos analisados. Além de ter esses compostos diluídos devido à adição de outros ingredientes, a temperatura do processo de produção se elevou durante a etapa de refino e conchagem com presença de oxigênio, aumentando a atividade oxidativa dos polifenóis, além do processo ter durado 24 horas, favorecendo a perda e degradação desses componentes. Portanto, quanto mais esses compostos forem preservados nas amêndoas, uma melhor fonte de compostos bioativos o chocolate será. Segundo Żyżelewicz et al. (2018), durante o processo de produção de chocolates em todas as etapas, os polifenóis das amêndoas de cacau podem sofrer muitas alterações, incluindo polimerização, hidrólise ou reações com proteínas, podendo ocorrer também na reação de Maillard. Assim, se a etapa de torra é eliminada desse processo de produção dos chocolates, um maior teor desses compostos importantes é conservado.

5.5. Espectros obtidos por infravermelho médio (MIR)

Com a finalidade avaliar os perfis espectroscópicos das amêndoas de cacau sem torra e torradas, e das formulações de chocolates produzidas com essas amêndoas, aplicou-se o MIR. Os espectros obtidos por MIR mostraram bandas de absorção características comuns para as amêndoas sem torra e torradas (Figura 9). Foram identificadas 18 bandas principais de absorção referentes aos modos vibracionais de diferentes grupos funcionais presentes nas amostras, associadas a sua faixa de número de onda de $3281,97 - 716,80\text{cm}^{-1}$. No entanto, foi possível observar diferenças nas intensidades das bandas entre as amostras analisadas. A comparação dos espectros das amostras de amêndoas sem torra e torradas revelaram que após a torração houve uma diminuição da intensidade de algumas bandas principalmente na região entre 1800 cm^{-1} e 650 cm^{-1} , região de impressão digital das amostras.

Figura 9 - Espectros das amêndoas de cacau sem torra e torradas obtidos por MIR.



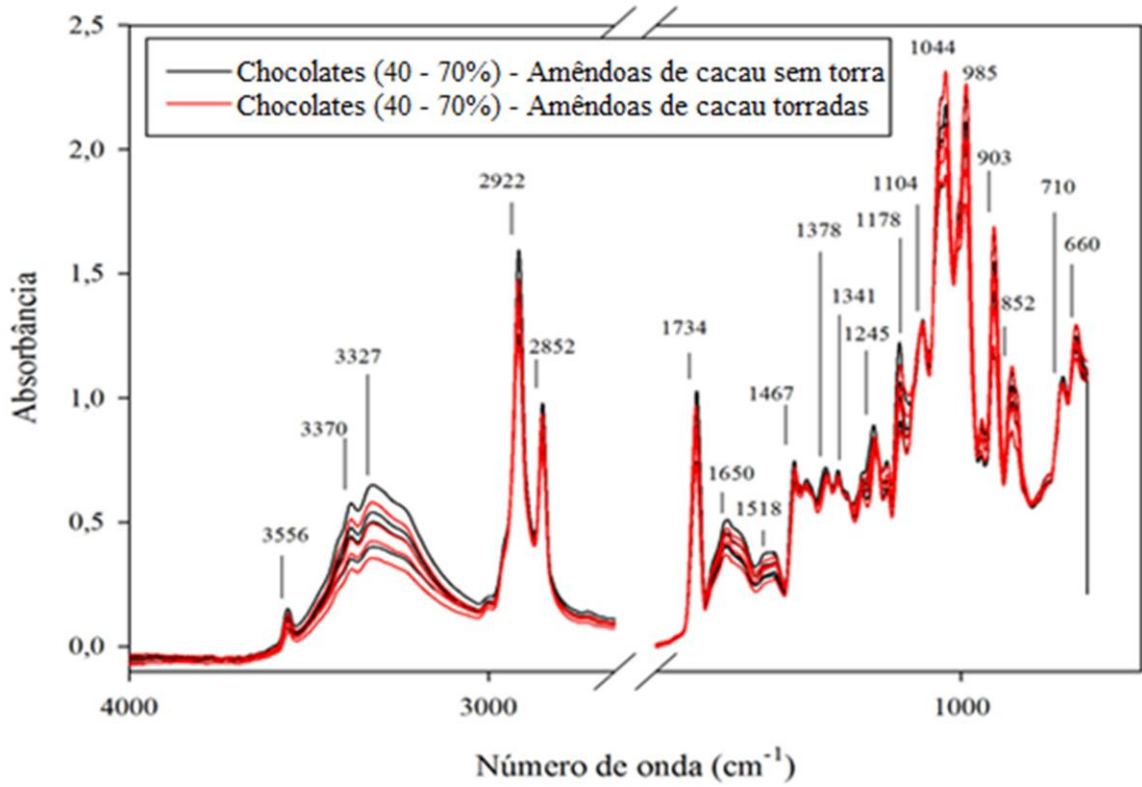
Os espectros obtidos no MIR refletem os grupos funcionais das amostras analisadas e, conseqüentemente, a composição química das mesmas, sendo que as diferenças nas intensidades das bandas puderam ser confirmadas através das análises de composição das amostras, mostrando que as amêndoas torradas sofreram influência em sua composição ao serem submetidas ao processo de torra.

As características espectrais dos chocolates permitiram a identificação de diferentes vibrações de grupos funcionais, característicos à sua composição (manteiga de cacau, massa de cacau, leite e açúcar). Pode-se observar que os espectros das amostras de chocolates apresentaram comportamentos semelhantes (Figuras 10), também se diferenciando apenas nas intensidades das bandas.

Os chocolates produzidos com amêndoas sem torra apresentaram maior intensidade das bandas quando comparado com os chocolates produzidos com amêndoas torradas. Durante o processo de torra das amêndoas do cacau alguns componentes são perdidos devido à temperatura empregada para esse processo, o que pode ter resultado na diminuição da intensidade de absorvância nas regiões observadas.

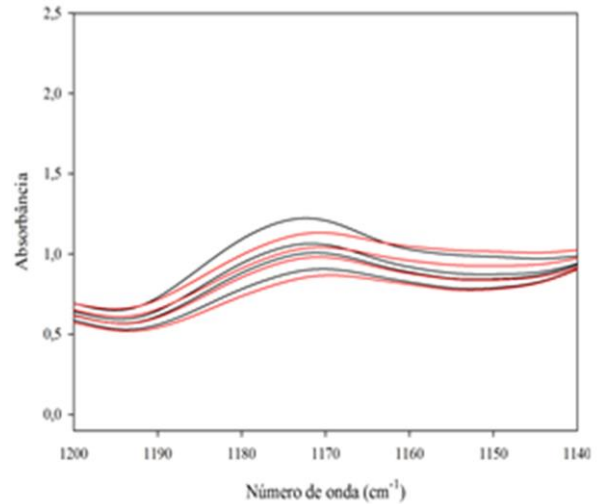
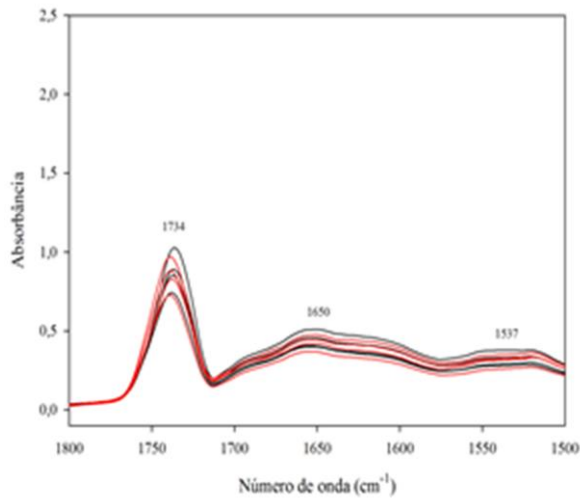
Nas Figura 10A e 10B estão apresentados os espectros ampliados das regiões $1800-1500\text{cm}^{-1}$ e $1200-1140\text{cm}^{-1}$ que estão associadas a lipídeos, proteína e compostos fenólicos (vibrações C-H e C=O). A região de $1080-980\text{cm}^{-1}$ corresponde às vibrações O – H / C – O / C — C / C – O – C, que está associada a carboidratos, nessa região as bandas das formulações de chocolate de amêndoas não torradas e torradas se sobrepõem devido à utilização da mesma formulação para os chocolates produzidos com amêndoas sem torra e torradas (BATISTA et al., 2016; SANTOS et al., 2021).

Figura 10 - Espectros das formulações de chocolates produzidos com amêndoas sem torra e torradas obtidos por MIR (A) Espectro da região de 1800 – 1500 cm^{-1} ; (B) região de 1200 – 1140 cm^{-1} .



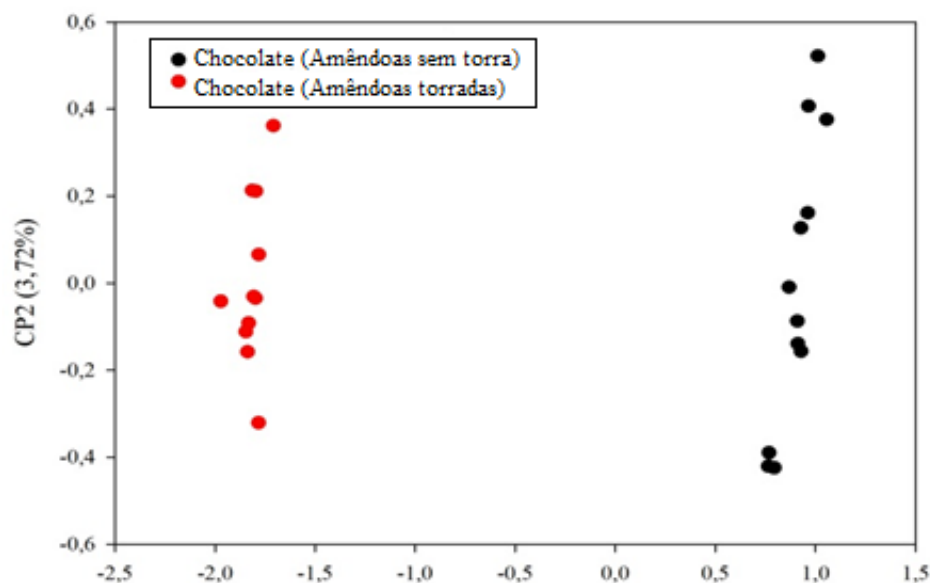
(A)

(B)



Para verificar diferença entre as amostras de chocolates, foi aplicada a Análise de Componentes Principais (AC) ao conjunto de dados obtidos no MIR. Foi observada separação entre as amostras de chocolate de acordo com o tipo de amêndoas utilizadas no processamento (sem torra e torradas) por meio dos componentes principais (CP's). Os dois primeiros componentes principais explicaram 97,73% da variância total para as formulações, no qual CP1 explicou 94,01% e CP2 3,72%. A distribuição dos dados foi representada melhor pelo CP1, onde os chocolates foram separados de acordo com o tipo de amêndoas utilizadas na sua produção, formando dois grupos distintos, verificada na dispersão dos dados (Figura 11). Os chocolates produzidos com amêndoas de cacau torradas, independente da concentração de massa de cacau apresentaram forte similaridade sendo agrupados do lado negativo do CP1 e os chocolates produzidos com amêndoas sem torra agruparam do lado oposto, se correlacionando negativamente com os números de onda 3327 cm^{-1} (O-H), 2922 cm^{-1} , 2852 cm^{-1} (C-H) associados a lipídeos, 1650 cm^{-1} (C=O) associado à proteína e 1518 cm^{-1} , 1178 cm^{-1} , 852 cm^{-1} (C-H, C-OH) associados aos compostos fenólicos. Já o CP2 correlacionou-se negativamente com o número de onda 1341 cm^{-1} (C-H) associado a lipídeos.

Figura 11- Gráfico de dispersão das amostras de chocolates produzidos a partir de amêndoas de cacau sem torra e torradas em relação às componentes principais CP1 e CP2.



Esses resultados estão de acordo com as análises de composição química, físico-químicas e análises cromatográficas, e assim a utilização do MIR para verificar os comportamentos das amostras torna-se viável permitindo uma avaliação rápida e confiável dos parâmetros analisados.

7. CONCLUSÃO

As amostras de amêndoas de cacau torradas apresentaram diferenças na maioria dos parâmetros, exceto para os valores de cinzas, açúcar total, atividade antioxidante e de catequina em relação às amêndoas sem torra. Isso mostra que o processo de torra das amêndoas de cacau afeta diretamente a sua composição.

Nos chocolates analisados não houve diferença para composição e parâmetros físico-químicos para o tipo de amêndoas (sem torra ou torradas) utilizadas na produção. Já para os teores de compostos fenólicos totais, epicatequina e procianidinas, houve diferença entre os chocolates produzidos com amêndoas sem torra e torradas, onde os produzidos com amêndoas sem torra apresentaram maior valores desses parâmetros em relação aos produzidos com amêndoas torradas.

O aumento de massa de cacau na produção de chocolates apresentou efeito na composição dos mesmos. À medida que se aumentou a porcentagem de massa de cacau nesses chocolates, o teor dos compostos fenólicos e metilxantinas foram aumentados.

A eliminação da etapa de torra no processamento de chocolates se torna uma alternativa interessante tanto economicamente para o produtor de chocolate, por ser menos uma operação no sistema de produção, quanto para os consumidores que estarão consumindo um produto rico em polifenóis.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIA - https://www.abia.org.br/vsn/tmp_2.aspx?id=19, acesso em 01/08/2020.

ABICAB - <http://www.abicab.org.br/paginas/chocolate/beneficios/>. Acessado em Agosto de 2020.

AFOAKWA, E. O.; PATERSON, A.; FOWLER, M.; RYAN, A. Flavor formation and character in cocoa and chocolate: A critical review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, v. 48, p. 840–857, 2008.

ALAMPRESE C.; DATEI L.; SEMERARO, Q. Optimization of processing parameters of a ball mill refiner for chocolate. *Journal of Food Engineering*, v. 83, p. 629-636, 2007.

ALMEIDA, J. M. D.; SANTOS, R. J.; GENOVESE, M. I.; LAJOLO, F. M. Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema β -caroteno/ácido linoléico e método de seqüestro de radicais dpph•. *Food Science and Technology*, n. 26, v. 2, p. 446-452, 2006.

AMAROWICZ, R.; PEGG, R. B. Natural antioxidants of plant origin. *Advances in Food and Nutrition Research*, v. 90, v. 1, p. 1–81, 2019.

AOAC – Association of Official Analytical Chemists. *Official Methods of Analysis* 18th ed, 3th Review, Washigton: AOAC, 2016.

ARLORIO, M.; LOCATELLI, M.; TRAVAGLIA, F.; COISSON, JD.; GROSSO, E. D.; MINASSI, A.; APPENDINO, G.; MARTELLI, A. Roasting impact on the contents of clovamide (N-caffeoyl-L-DOPA) and the antioxidant activity of cocoa beans (*Theobroma cacao* L.). *Food Chemistry*, v. 106, p. 967–975, 2008.

BATISTA, N. N. ANDRADE, D. P. RAMOS, C. L. DIAS, D. R. SCHWAN, R. F. Antioxidant capacity of cocoa beans and chocolate assessed by FTIR. *Food Research International*, 2016.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução - RDC nº 264, de 22 de setembro de 2005. Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Chocolate e Chocolate Branco. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 2005.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento-Instrução Normativa nº 38, de 23 de jun. de 2008. Regulamento Técnico da Amêndoa de Cacau. *Diário Oficial da União*, Brasília, 30 jun. 2008.

CAMPOS, J. R.; BUENDÍA, H. B. E.; RAMOS, S. M. C.; AVILA, I. O.; FLORES, E. J.; CERVANTES, E. L. Effect of fermentation time and drying temperature on volatile compounds in cocoa. *Food Chemistry*, v. 132, p. 277-288, 2012.

CAPAROSA, M. H.; HARTEL, R. W. Structure and Properties of Chocolate. *Encyclopedia of Food Chemistry*, v. 3, p. 61-65, 2019.

CECCHI, H. M. Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos, 2.ed, p. 73, Campinas: Unicamp, 2003.

COHEN, K. O.; LUCCAS, V.; JACKIX, M. N. H. Revisão: temperagem ou pré cristalização do chocolate. *Brazilian Journal of Food Technology*, v. 7, p. 23-30, 2004.

COPETTI, M. V.; IAMANAKA, B. T.; NESTER, M. A.; EFRAIM, P.; TANIWAKI, M. H. Occurrence of ochratoxin A in cocoa by-products and. *Food Chemistry*, v. 136, p. 100–104, 2013.

COSTA, T.; JORGE, N. Compostos Bioativos Benéficos Presentes em Castanhas e Nozes. *UNOPAR Científica Ciências Biológicas Saúde*, v. 3, p. 195-203, 2011.

CRAFACK, M.; KEUL, H.; ESKILDSEN, C. E.; PETERSEN, M. A.; SAERENS, S.; BLENNOW, A.; SKOVMAND-LARSEN, M.; SWIEGERS, J. H.; PETERSEN, G. B.; HEIMDAL, H.; NIELSEN, D. S. Impact of starter cultures and fermentation techniques on the volatile aroma and sensory profile of chocolate. *Food Research International*, v. 63, p. 306–316, 2014.

CRUZ, J. F. M. (EM MEMÓRIA), LEITE, P. B.; SOARES, S. E.; BISPO, E. S. Bioactive compounds in different cocoa (*Theobroma cacao*, L) cultivars during fermentation. *Food Science and Technology*, v.35, n.2, 2015.

CUNHA, K. M.; QUAST, L. B.; LUCCAS, V. Influência da adição de lecitina de soja e do poliglicerol poliricinolato nas propriedades reológicas do chocolate. *Boletim ceppa*, v. 28, p. 321-330, 2010.

DI MATTIA, C. D.; SACCHETTI, G.; MASTROCOLA, D.; SERAFINI, M. From Cocoa to Chocolate: The Impact of Processing on In Vitro Antioxidant Activity and the Effects of Chocolate on Antioxidant Markers In Vivo. *Frontiers in Immunology*. v. 8, 2017.

DJIKENG, F. T.; TEYOMNOU, W. T.; TENYANG, N.; TIENCHEU, B.; MORFOR, A. T., TOUKO, B. A. H.; HOUKETCHANG, S. N.; BOUNGO, G. T.; KARUNA, M. S. L.; NGOUFACK, F. Z.; WOMENI, H. M. Effect of traditional and oven roasting on the physicochemical properties of fermented cocoa beans. *Heliyon*, ed. 00533, v. 4, 2018.

EFRAIM, P.; ALVES, A. B., JARDIM, D. C. P. Revisão: Polifenóis em cacau e derivados: teores, fatores de variação e efeitos na saúde. *Brazilian Journal Food Technology*, v. 14, p. 181-201, 2011.

FENNEMA, O. R.; PARKIN, K. L.; DAMODARAN, S. *Química de Alimentos de Fennema*. 4. Ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.

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

FRANCISQUINI, J.A.; MARTINS, E.; SILVA, P. H. F.; SCHUCK, P.; PERRONE, I. T.; CARVALHO, A. F. Reação de maillard: uma revisão. *Revista Instituto de Laticínios Cândido Tostes, Juiz de Fora*, v. 72, n. 1, p. 48-57, jan/mar, 2017.

ENGESETH, N. J., PANGAN, M. F. Current context on chocolate flavor development - a review. *Current Opinion in Food Science*, v. 21, p. 84-91, 2018.

GNOATTO, S. C. B.; BASSANI, V. L.; COELHO, G. C.; SCHENKEL, E. P. Influência do método de extração nos teores de metilxantinas em erva-mate (*ilex paraguariensis* a. st.-hil., aquifoliaceae). *Química Nova*, v. 30, n. 2, p. 304-307, 2007.

GRANATO, D.; SHAHIDI, F.; WROLSTAD, R.; KILMARTIN, P.; MELTON, L. D.; HIDALGO, F. J.; MIYASHITA, K.; CAMP, J. Van; ALASALVAR, C.; ISMAIL, A. B.; ELMORE, S.; BIRCH, G. G.; CHARALAMPOPOULOS, D.; ASTLEY, S. B.; PEGG, R.; ZHOU, P.; FINGLAS, P. Antioxidant activity, total phenolics and flavonoids contents: Should we ban in vitro screening methods? *Food Chemistry*, v. 264, n. October 2017, p. 471–475, 2018.

HU, Y., PAN, Z. J., LIAO, W., Li, J., GRUGET, P., KITTS, D. D., e LU, X. Determination of antioxidant capacity and phenolic content of chocolate by attenuated total reflectance-Fourier transformed-infrared spectroscopy. *Food Chemistry*, v. 202, p. 254–261, 2016.

ICCO - <https://www.icco.org/statistics/production-and-grindings/production.html>. Acessado em junho de 2020.

IOANNONE, F.; DI MATTIA, C. D.; DE GREGORIO, M.; SERGI, M.; SERAFINI, M.; SACCHETTI, G. Flavanols, proanthocyanidins and antioxidant activity changes during cocoa (*Theobroma cacao* L.) roasting as affected by temperature and time of processing. *Food Chemistry*, v. 174, p. 256–262, 2015.

KONGOR, J. E.; HINNEH, M.; WALLE, D. V.; AFOAKWA, E. O.; BOECKX, P.; DEWETTINCK, K. Factors influencing quality variation in cocoa (*Theobroma cacao*) bean flavour profile - A review. *Food Research International*, v. 82, p. 44-52, 2016.

JOLIC, S. M.; REDOVNIKOVIC, I. R.; MARKOVIC, K.; SIPUSIC, D. I.; DELONGA, K. Changes of phenolic compounds and antioxidant capacity in cocoa beans processing. *International Journal of Food Science and Technology*, v. 46, p. 1793–1800, 2011.

KOMES D, HORZIC D, BELSCAK A, GANIC KK, VULIC I. Green tea preparation and its influence on the content of bioactive compounds. *Food Research International*, n. 43, v. 1, p. 167-76, 2010.

KONAR, N.; TOKER, O. S.; OBA, S.; SAGDIC, O. Improving functionality of chocolate: A review on probiotic, prebiotic, and/or synbiotic characteristics. *Trends in Food Science & Technology*, v. 49, p. 35-44, 2016.

KOTHE, L.; ZIMMERMANN, B. F.; GALENSA, R. Temperature influences epimerization and composition of flavanol monomers, dimers and trimers during cocoa bean roasting. *Food Chemistry*, v. 141, p. 3656–3663, 2013.

LANNES, S. C. S. Estudo das propriedades físico-químicas e de textura de chocolates (Tese de Doutorado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Universidade de São Paulo, São Paulo, p. 175, 1997.

LEE, K. W.; KIM, Y. K.; LEE, H. J.; LEE, C. Y. Cocoa has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 51, n. 25, p. 7292-7295, 2003.

LEITE, P. B.; MACIEL, L. F.; OPRETZKA, L. C. F.; SOARES, S. E.; BISPO, E. S. Phenolic compounds, methylxanthines and antioxidant activity in cocoa mass and chocolates produced from "witch broom disease" resistant and non resistant cocoa cultivars. *Ciência e Agrotecnologia*, v. 37, p. 244-250, 2012.

LIMA, A. B. S. Prospecção de constituintes bioativos em própolis vermelha do estado da bahia: utilização de espectroscopia nir e mir para calibração multivariada (Dissertação de mestrado). Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB), Itapetinga-Ba, 2020.

LIM, Y. P.; PANG, S. F.; YUSOFF, M. M.; MUDALIPA, S. K. A.; GIMBUN, J. Correlation between the extraction yield of mangiferin to the antioxidant activity, total phenolic and total flavonoid content of Phaleria macrocarpa fruits. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, v. 14, 2019.

LUCCAS, V.; BONOMI, E. C.; KIECKBUSCH, T. G. Caracterização comparativa entre chocolates ao leite formulados com gordura de leite anidra e com estearina de gordura de leite. *Braz. Journal Food Technology*, v. 17, n. 2, p. 130-138, 2014.

MARTINI, S.; CONTE, A.; TAGLIAZUCCHI, D. Phenolic compounds profile and antioxidant properties of six sweet cherry (*Prunus avium*) cultivars. *Food Research International*, v. 97, p. 15-26, 2017.

MEHTA, B. M.; DEETH, H. C. Blocked Lysine in Dairy Products: Formation, Occurrence, Analysis, and Nutritional Implications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, v. 15, 2016.

MILLER, H. E. Simplified Method for the Evaluation of Antioxidants. *Journal of the American Oil Chemists Society*, v. 48, n. 2, p. 91, 1971.

MITCHELL, E. S.; SLETTENAAR, M.; MEER, N.; TRANSLER, C.; JANS, L.; QUADT, F.; BERRY, M. Differential contributions of theobromine and caffeine on mood, psychomotor performance and blood pressure. *Physiology & Behavior*, v. 104, p. 816–822, 2011.

MOLYNEUX, P. The use of the Stable Free Radical Diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarinn Journal of Science and Technology*, v. 26, n. 2, p. 211-219, 2004.

MOREIRA, I. M. V.; VILELA, L. F.; SANTOS, C.; LIMA, N.; SCHWAN, R. F. Volatile compounds and protein profiles analyses of fermented cocoa beans and chocolates from different hybrids cultivated in Brazil. *Food Research International*. v. 109, p. 196-203, 2018.

MUDENUTI, N. V. R.; CAMARGO, A. C.; SHAHIDI, F.; MADEIRA, T. B.; HIROOKA, E. Y.; GROSSMANN, M. V. E. Soluble and insoluble-bound fractions of phenolics and alkaloids and their antioxidant activities in raw and traditional chocolate: A comparative study. *Journal of Functional Foods*, v. 50, p. 164–171, 2018.

MURGA, L. F.; TARÍN, J. J.; PEREZ, M. A. G.; CANO, A. The impact of chocolate on cardiovascular health. *Maturitas*, v. 69, p. 312-321, 2011.

OBERRAUTER, L. M.; JANUSZEWSKA, R.; SCHLICH, P.; MAJCHRZAK, D. Sensory evaluation of dark origin and non-origin chocolates applying Temporal Dominance of Sensations (TDS). *Food Research International*, v. 111, p. 39-49, 2018.

PANZA, F.; SOLFRIZZI, V.; BARULLI, M. R.; BONFIGLIO, C.; GUERRA, V.; OSELLA, A.; SERIPA, D.; SABBÀ, C.; PILOTTO, A.; LOGROSCINO, G. Systematica: dementia and decline cognitive lifelate of prevention and consumption caffeine and, tea, coffee. *The Journal of Nutrition, Health & Aging*, 2014.

PEDAN, V.; FISCHER, N.; ROHN, S. An online NP-HPLC-DPPH method for the determination of the antioxidant activity of condensed polyphenols in cocoa. *Journal of Food Research International*, v. 71, p. 01-11, 2015.

SILVA, M. R.; CLÉMENT, D.; GRAMACHO, K. P.; MONTEIRO, W. R.; ARGOUT, X.; LANAUD, C.; LOPES, U. Genome-wide association mapping of sexual incompatibility genes in cacao (*Theobroma cacao* L.). *Tree Genetics & Genomes*, v. 12, p. 62, 2016.

RICHTER, M.; LANNES, S. C. S. Ingredientes usados na indústria de chocolates. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*. São Paulo, v. 43, n. 3, p. 357-369, 2007.

ROBBINS, R. J.; LEONCZAK, J.; JOHNSON, J. C.; LI, J.; URIBE, C. K.; PRIOR, R. L.; GU, L. Method performance and multi-laboratory assessment of a normal phase high pressure liquid chromatography-fluorescence detection method for the quantitation of flavanols and procyanidins in cocoa and chocolate containing samples. *Journal of Chromatography A*, v. 1216, ed 24, p. 4831-4840, 2009.

RUSCONI, M.; CONTI, A. *Theobroma cacao* L., the Food of the Gods: A scientific approach beyond myths and claims. *Pharmacological Research*, v. 61, p. 5–13, 2010.

SAMPAIO, S. C. S. Chocolate meio amargo produzido de amêndoas de cacau fermentadas com polpa de cajá, cupuaçu ou graviola: características físico-químicas, reológicas e sensoriais. (Dissertação de Pós-Graduação) Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 80 p., 2011.

SANTOS, I. A.; CONCEIÇÃO, D. G.; VIANA, M. B.; SILVA, G. J.; SANTOS, L.S.; FERRÃO, S. P. B. NIR and MIR spectroscopy for quick detection of the adulteration of cocoa content in chocolates. *Food Chemistry*, v. 349, 2021.

SIM, S. Y. J.; NG, J. W.; NG, W. K.; FORDE, C. G.; HENRY, C. J. Plant polyphenols to enhance the nutritional and sensory properties of chocolates. *Food Chemistry*, v. 200, p. 46-54, 2016.

SILVA, P. D. Determinação de compostos fenólicos por HPLC. (Dissertação de Mestrado). Universidade da Beira Interior, Covilhã - Portugal, 2012.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. Principles of instrumental analysis, 5. ed., p. 836, 2002.

SOUZA, J.; HADLICH, D. P. F.; MAAHS, T. R. Automação da produção de chocolates em escala não industrial. Revista Liberato, v. 14, p. 113-238, 2013.

STANLEY, T. H.; BUITEN, C. B. V.; BAKER, S. A.; ELIAS, R. J.; ANANTHESWARAN, R. C.; LAMBERT, J. D. Impact of roasting on the flavan-3-ol composition, sensory-related chemistry, and in vitro pancreatic lipase inhibitory activity of cocoa beans. Food Chemistry, v. 255, p. 414–420, 2018.

TIITTO-JULKUNEM, R. Phenolic constituents in the leaves of Northern Willows: methods for the analysis of certain phenolics. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 33, p. 213-217, 1985.

TSOI, B.; YI, R. N.; CAO, L. F.; LI, S. B.; TAN, R. R.; CHEN, M.; LI, X. X.; WANG, C.; LI, Y. F.; KURIHARA, H.; HE, R. R. Comparing antioxidant capacity of purine alkaloids: A new, efficient trio for screening and discovering potential antioxidants in vitro and in vivo. Food Chemistry, v. 176, p. 411 – 419, 2015.

VOIGT, J.; LIEBEREI, R. Biochemistry of cocoa fermentation. Cocoa and coffee fermentation, CRC Press, Boca Raton, p. 193-227, 2014.

ZERAIK, M. L.; PEREIRA, C. A. M.; ZUIN, V. G.; YARIWAKE, J. H. Maracujá: um alimento funcional? Revista Brasileira de Farmacognosia, n. 20, v. 3, 2010.

ŻYŻELEWICZ, D.; BUDRYN, G.; ORACZ, J.; ANTOLAK, H.; KRĘGIEL, D.; KACZMARSKA, M. The effect on bioactive components and characteristics of chocolate by functionalization with raw cocoa beans. Food Research International, v. 113, p. 234-244, 2018.