



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

NIARA MARIA DE JESUS SILVA

**PARÂMETROS DA QUALIDADE DAS AMÊNDOAS DE CACAU (*Theobroma cacao*
L.) DE REGIÕES PRODUTORAS NO ESTADO DO PARÁ E APLICAÇÃO DE NIR
ASSOCIADO A FERRAMENTAS QUIMIOMÉTRICAS PARA SUA
CLASSIFICAÇÃO.**

Belém - PA

2021

NIARA MARIA DE JESUS SILVA

**PARÂMETROS DA QUALIDADE DAS AMÊNDOAS DE CACAU (*Theobroma cacao*
L.) DE REGIÕES PRODUTORAS NO ESTADO DO PARÁ E APLICAÇÃO DE NIR
ASSOCIADO A FERRAMENTAS QUIMIOMÉTRICAS PARA SUA
CLASSIFICAÇÃO.**

Dissertação IV apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Pará, como requisito à obtenção do título de mestre

Orientadora: Prof.^a Dr.^a. Consuelo Lúcia Sousa de Lima.

Coorientador: Prof. Dr. Jesus Nazareno Silva de Souza.

Belém - PA

2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Pará
Gerada automaticamente pelo módulo Ficat, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

S586p Silva, Niara Maria de Jesus.
PARÂMETROS DA QUALIDADE DAS AMÊNDOAS DE CACAU (*Theobroma cacao* L.) DE REGIÕES PRODUTORAS NO ESTADO DO PARÁ E APLICAÇÃO DE NIR ASSOSSIADO A FERRAMENTAS QUIMIOMÉTRICAS PARA SUA CLASSIFICAÇÃO / Niara Maria de Jesus Silva. — 2021.
64 f. : il. color.

Orientador(a): Prof^a. Dra. Consuelo Lúcia Sousa de Lima
Coorientador(a): Prof. Dr. Jesus Nazareno Silva de Souza
(Mestrado) - Universidade Federal do Pará,
Instituto de Tecnologia, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Belém, 2021.

1. Amazônia. 2. *Theobroma cacao*. 3. Espectroscopia no Infravermelho Próximo. 4. Quimiometria. 5. Qualidade. I. Título.

CDD 664.07098115



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

NIARA MARIA DE JESUS SILVA

DATA DE AVALIAÇÃO: ____/____/____.

CONCEITO: _____.

BANCA EXAMINADORA:



Documento assinado digitalmente

Consuelo Lúcia Sousa de Lima

Data: 26/02/2024 17:44:01-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof^ª. Dr^ª. Consuelo Lúcia Sousa de Lima
(PPGCTA/ITEC/UFPA – Orientadora)

Documento assinado digitalmente



JESUS NAZARENO SILVA DE SOUZA

Data: 29/02/2024 11:54:05-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Jesus Nazareno Silva de Souza
(PPGCTA/ITEC/UFPA – Coorientador)

Documento assinado digitalmente



NELSON ROSA FERREIRA

Data: 27/02/2024 11:34:06-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Nelson Rosa Ferreira
(PPGCTA/ITEC/UFPA - Membro Interno)

Documento assinado digitalmente



EDER AUGUSTO FURTADO ARAUJO

Data: 27/02/2024 17:32:07-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Éder Augusto Furtado Araújo
(FEA/ITEC/UFPA) – Membro Externo)

Belém - PA

2021

Dedico a conclusão desse sonho aos meus pais Gérson e Irene que sempre me ajudaram a pavimentar as estradas da minha vida, com a certeza de que eu sempre teria amor, abrigo, refúgio e apoio.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por ter permitido a conclusão de mais esta etapa na minha formação acadêmica e profissional, além de todas as oportunidades concedidas ao longo da minha vida.

À minha orientadora Professora Dr.^a Consuelo Lima, que tenho grande admiração desde o dia em que a conheci. Obrigada por sempre acreditar em mim, por todos os ensinamentos, apoio, incentivo, carinho e amizade. Sou grata por absolutamente tudo!

Ao meu Coorientador Professor Dr. Jesus Souza, por ter confiado a mim o desenvolvimento deste trabalho, por todo apoio dedicado e ensinamentos essenciais para esta pesquisa. Agradeço também ao Centro de Valorização Agroalimentar de Compostos Bioativos da Amazônia (CVACBA), pelo suporte inenarrável.

Aos membros da banca examinadora Professor Dr. Nelson Rosa e Professor Dr. Éder Araújo pelas contribuições nesta pesquisa. Ao Professor Msc. Darly Pompeu pela ajuda nos tratamentos estatísticos.

À Universidade Federal do Pará (UFPA) e ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos (PPGCTA). Ao CNPq pela concessão da bolsa de estudo.

Aos meus pais, Gérson Silva e Irene Silva por todo o amor, apoio incondicional, dedicação e por nunca terem medido esforços para me proporcionarem uma excelente educação. Eu me reconheço em vocês, muito obrigada. Às minhas tias Yêda Bezerra e Izete Bezerra pelo carinho, apoio e amizade.

Aos amigos da Equipe Cacau: Ana Luíza Magalhães, Bruno Cunha, Juliana Letícia, Laila Moreira, Luan Nazareno, Mariele Trindade, Nayara Penelva, Renato Mourão, Renato Santos, Samara Emanuella e Tayane Vasconcelos. Foram meses de trabalho duro, muitas e muitas amêndoas, apoio mútuo, amizade e descontrações. Vocês foram fundamentais nesta pesquisa, gratidão!

Agradeço aos amigos que fiz durante a graduação e mestrado: Maria Ribeiro, Willen Igreja, Danielle Amaral, Helber Cardoso, Flávia Pires, Camille Lisboa, Sabrina Baleixo e Ana Júlia Lima, pela amizade, apoio mútuo, troca de saberes e torcida genuína. Vê-los crescer, também é meu sonho.

Gratidão a todos que contribuíram de forma direta ou indiretamente para que esta pesquisa fosse concluída, obrigada.

RESUMO

O cacauzeiro (*Theobroma cacao* L.) é uma cultura nativa das florestas tropicais e desempenha um papel importante na economia de regiões produtoras, porém, devido à falta de infraestrutura e práticas inadequadas no beneficiamento, geram amêndoas com baixo potencial de aplicação na indústria alimentícia. Afim de valorizar as amêndoas de cacau, esta pesquisa objetivou avaliar a qualidade das amêndoas de regiões paraenses (Baixo Tocantins, Nordeste, Oeste, Sudeste e Transamazônica) produtoras de cacau por avaliação física, físico-química e cromatográficas e comparar o desempenho da espectroscopia no infravermelho próximo aliado a ferramentas quimiométricas. Foi aplicado um questionário com os produtores para as práticas de fermentação e secagem, seguido de avaliação física, físico-químicas, capacidade antioxidante, quantificação dos polifenóis totais e compostos bioativos, além de utilizar o NIR como ferramenta analítica. De acordo com a avaliação física, as amostras apresentam padrão comercial aceitável, porém, os resultados do teste de corte evidenciaram a falta de padronização no pré-processamento das sementes. Dentre os parâmetros físico-químicos (proteínas, lipídeos, umidade, cinzas, pH, acidez e atividade de água), a umidade estava dentro do limite tolerado pela legislação e somente lipídeos apresentaram diferenças significativas. Quanto a capacidade antioxidante, polifenóis totais e compostos bioativos, somente os compostos bioativos apresentaram diferenças significativas, com a região do Baixo Tocantins apresentando valores superiores para todos os compostos estudados. O agrupamento das amostras em função das variações de composição físico-químicas foi evidenciado pela Análise de Componentes Principais que houve formação de *cluster* para a região do Baixo Tocantins.

Palavras-chaves: Amazônia; *Theobroma cacao*; Espectroscopia no Infravermelho Próximo; Quimiometria.

ABSTRACT

Cocoa (*Theobroma cacao* L.) is a native fruit of tropical forests and plays an important role in the economy of producing regions, however, due to the lack of infrastructure and inadequate processing practices, they generate almonds with low potential for application in the food industry. In order to value cocoa beans, this research aimed to evaluate the quality of cocoa beans from regions of Pará (Lower Tocantins, Northeast, West, Southeast and Trans-Amazon) by physical, physicochemical and chromatographic evaluation and near infrared spectroscopy combined with chemometric tools. A questionnaire was informed with the producers about fermentation and drying practices, followed by physical, physical-active, antioxidant capacity, quantification of total polyphenols and bioactive compounds, in addition to using NIR as an analytical tool. According to the physical evaluation, as it presents an acceptable commercial standard, however, the cutting test results showed the lack of standardization in the pre-processing of the seeds. Among the physicochemical parameters (proteins, lipids, moisture, ash, pH, acidity and water activity), moisture within the limit tolerated by legislation and only relevant dissipation lipids. As for the antioxidant capacity, total polyphenols and bioactive compounds, only the bioactive compounds differences differences, with the Lower Tocantins region these values higher for all studied compounds. The grouping of the functions of physical-chemical composition variations was evidenced by the Principal Components Analysis that there was a cluster formation for a region of Baixo Tocantins.

KEYWORDS: Amazon; *Theobroma cacao*; Near Infrared Spectroscopy; Chemometry.

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Tabela 1. Tolerância de defeitos para amêndoas de cacau, expressa em porcentagem (%) e classificação do produto em tipos	23
---	----

CAPÍTULO 2

Tabela 1. Resultados médios relacionados à parâmetros físicos usados para avaliar a qualidade de amêndoas de cacau.....	44
Tabela 2. Resultados médios da composição físico-químico de nibs de amêndoas de cacau .	47
Tabela 3. Avaliação da capacidade antioxidante e quantificação dos compostos bioativos encontrados em nibs de amêndoas de cacau de regiões produtivas	50

CAPÍTULO 2

Figura 1. Tempo de fermentação e secagem das amêndoas de cacau provenientes de cinco regiões do Estado do Pará	42
Figura 2. Dados brutos do NIR de amêndoas inteiras e nibs de amêndoas de cacau em pó ...	53
Figura 3. Gráfico dos escores PC1 <i>versus</i> PC2 das amêndoas de cacau e nibs de amêndoas de cacau em pó, respectivamente	54
Figura 4. Gráfico de escores de PC1 <i>versus</i> PC2 em amêndoas de cacau (a) e nibs de amêndoa de cacau em pó (b).....	55

LISTA DE TABELAS

Figura 5. Gráfico de escores PC1 *versus* PC2 em amêndoas de cacau (a) e Gráfico de *loadings* de amêndoas de cacau..... 56

CAPÍTULO I

1 INTRODUÇÃO 122

2 OBJETIVOS 144

3. REVISÃO DE LITERATURA 15

3.1 ASPECTOS GERAIS DO CACAU 15

3.2 PRODUÇÃO MUNDIAL DE CACAU E O POTENCIAL DA CACAUCULTURA
NA AMAZÔNIA PARAENSE 166

3.3 QUALIDADE DAS AMÊNDOAS DE CACAU 18

3.4.1 Colheita 200

3.4.2 Fermentação 211

3.4.3 Secagem 222

3.5 AVALIAÇÃO DA QUALIDADE FÍSICA DAS AMÊNDOAS: PROVA DE CORTE
..... 233

3.6 ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO PRÓXIMO (NIR) 255

3.7 QUIMIOMETRIA 277

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 300

CAPÍTULO II

ARTIGO Determinação dos parâmetros de qualidade das amêndoas de cacau (*Theobroma*

LISTA DE TABELAS

<i>cacao</i> L.) produzidos na Amazônia oriental e utilização da espectroscopia do infravermelho próximo e ferramentas quimiométricas para sua classificação.	34
--	----

1 INTRODUÇÃO

O cacauero (*Theobroma cacao* L.) é uma espécie da família Malvaceae, nativa das florestas tropicais da América Central e do Sul (MORORÓ, 2012; MÜLLER; VALLE, 2012). No Brasil, o estado da Bahia ostentou, desde o século passado, a posição de maior produtor de cacau (BEG et al., 2017). Todavia, desde 2017 o estado do Pará ultrapassou a produção da Bahia, consolidando-se como maior produtor nacional, respondendo por mais de 51% da produção nacional (IBGE, 2021).

O fruto do cacauero é uma cultura comercial de grande impacto econômico na região amazônica e no mundo pois, suas amêndoas destacam-se como uma commodity de exportação agrícola (HO et al., 2015). O mercado mundial de cacau busca amêndoas de qualidade para a produção de chocolate e derivados, desta maneira, o Pará sendo o maior produtor nacional, é necessário promover discussões acerca da qualidade das amêndoas paraenses como forma de fomentar o aumento da rentabilidade de produtores e a valorização das amêndoas amazônicas.

No mercado internacional, a valorização da qualidade das amêndoas de cacau está relacionada à classificação dos cacaos em comuns ou finos, o qual a ISO 2451 define um padrão de qualidade, para classificar as amêndoas de cacau e identificar defeitos de aroma desejáveis para fins comerciais. No Brasil, a Instrução Normativa nº 38 de 23 de junho de 2008 (MAPA, 2008) define o padrão oficial para importação de amêndoas, em função dos limites máximos de tolerância de defeitos.

O estado do Pará possui uma área de 1.248.000 km² e considerando as grandes distâncias geográficas das cinco regiões produtoras de cacau (Baixo Tocantins, Nordeste, Oeste, Sudeste e Transamazônica), além de condições edafoclimáticas, variações que podem ocorrer durante o pré-processamento, além da diversidade de variedades genotípicas de cacaueros, supõe-se que as amêndoas de cacau provenientes de diferentes regiões no estado possuam *terroir* característicos. As possíveis diferenças existentes entre as amêndoas podem ser em relação a composição química, alcalóides xantínicos (cafeína e teobromina) e dos compostos fenólicos, os quais podem ser

determinantes para o desempenho tecnológico da matéria prima e para as características sensoriais dos produtos derivados.

O método mais utilizado e aceito internacionalmente é a prova de corte, uma análise que demanda certo tempo, subjetiva, sujeita a erro humano e que fornece informações limitadas acerca da qualidade real das amêndoas de cacau (BRASIL, 2008). Um método objetivo de classificação por categorias de qualidade contribuiria para garantir identidade e valor às amêndoas paraenses, além de diminuir riscos de fraude. Por este motivo, há necessidade do emprego de novas técnicas analíticas e métodos que possam vir a ser aplicáveis em diversas etapas do processamento das amêndoas de cacau.

Nesse sentido, a avaliação rápida da qualidade de amêndoas de cacau é de interesse de muitos pesquisadores e produtores. Por esta razão, alternativas analíticas rápidas e robustas permitindo a consideração de toda a composição metabólica do cacau em uma única análise geram grande interesse. A Espectroscopia no Infravermelho Próximo (NIR) associada à quimiometria apresenta-se como uma excelente alternativa, dada à possibilidade do desenvolvimento de métodos analíticos rápidos, não destrutivos e que permitam a obtenção e interpretação de uma grande quantidade de informações sobre a amostra, além de ser uma alternativa aplicável avaliação qualitativa e quantitativa simultânea na determinação de vários constituintes primários e secundários de matrizes vegetais (HASHIMOTO, 2015; HU et al., 2016; TEYE et al., 2020).

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

- Avaliar a qualidade das amêndoas de regiões paraenses (Baixo Tocantins, Nordeste, Oeste, Sudeste e Transamazônica) produtoras de cacau por avaliação física, físico-químicas, NIR e ferramentas quimiométricas.

2.2 Específicos

- Avaliar a qualidade física das amêndoas (Prova de corte);
- Determinar o teor de polifenóis totais e capacidade antioxidante;
- Quantificar as principais classes de compostos bioativos por HPLC;
- Obter dados de espectros de amostras de amêndoas de cacau utilizando Espectroscopia de Infravermelho – NIR;
- Aplicar ferramentas quimiométricas para encontrar as possíveis relações entre as amostras analisadas.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 ASPECTOS GERAIS SOBRE O CACAU

O cacauveiro é uma espécie da família Malvaceae, gênero *Theobroma*, da espécie *Theobroma cacao* L., é nativa das florestas tropicais da América Central e do Sul (MORORÓ, 2012; MÜLLER; VALLE, 2012). Este fruto possui sementes com tamanhos variados de 2 a 3cm de comprimento, as quais são as responsáveis pelo valor agregado desse fruto, o qual possui uma coloração no seu interior podendo variar do branco ao violeta, visto que, quanto mais violáceo o interior, maior adstringência e amargor da semente. As sementes são envolvidas por uma polpa branca com sabor adocicado e ácido, rica em açúcares e utilizada na fabricação de geleias, vinho, suco, entres outros. Do fruto do cacau, além das amêndoas, é extraída a manteiga e o *liquor* para fabricação de chocolate, sendo a manteiga, um produto fundamental para a indústria de cosméticos e farmacológicos (BRASIL, 2014; SALES e CÂNDIDA, 2016).

No Brasil, os cultivos mais antigos de cacau, foram iniciados em 1679, na então capitania do Grão-Pará, por meio da Carta Régia que autorizava os colonizadores a plantar em suas terras. Na Bahia, a história do cacau começa em 1746 no município de Canavieiras, a partir da fazenda Cubículo (BRASIL, 2015; FERREIRA, 2017).

O cacau dispõe de uma composição química única, com cerca de 500 compostos, dentre os quais merecem destaque as metilxantinas, consideradas substâncias estimulantes, a teobromina (3,7 dimetilxantina), que possui ação diurética, seguida da cafeína, essa é comumente encontrada em chás, cafés e produtos derivados de cacau, seus efeitos fisiológicos na saúde humana envolvem a estimulação do sistema nervoso central, dos músculos cardíacos, do sistema respiratório e da secreção de ácido gástrico. Alguns estudos apontam que as metilxantinas colaboram para o sabor do chocolate, juntamente com compostos formados durante a torração das amêndoas, além de possuir efeitos farmacológicos sobre os sistemas nervoso, cardiovascular, gastrintestinal, respiratório e renal (KREIBICH, 2016; KONGOR et al., 2016).

A composição centesimal da amêndoa do cacau apresenta: 2-5% de umidade, 11-16% de proteínas, 48-57% de lipídios, 6-9% de amido, 2,6-4,2 de cinzas, 2,21- 3,2% de fibras, 0,8-1,4% de teobromina e 0,1-0,7% de cafeína (BECKETT, 2009). Para Hashimoto (2015), os valores reportados anteriormente são apenas referências, pois podem variar de acordo com a sua origem de procedência, variedade do fruto, grau de fermentação e secagem, condições de armazenamento e métodos analíticos utilizados. Essas razões podem afetar de diferentes formas a composição química das amêndoas de cacau, assim como o aroma e a coloração das amêndoas que estão diretamente ligados à qualidade do produto.

As árvores de cacau são classificadas em três variedades, as quais se diferenciam entre si pelas suas particularidades. A variedade Criollo, vista como a mais nobre, produz um cacau de excelente qualidade e apresenta casca fina e rugosa, amêndoas grandes e coloração rosácea. É de fácil fermentação, possui baixa acidez e pouco sabor amargo, entretanto, é muito sensível a doenças (KREIBICH, 2016).

A variedade Forasteiro possui amêndoas achatadas de coloração violeta, exige uma fermentação prolongada e possui um acentuado sabor adstringente. É uma variedade do cacau de maior resistência a doenças, portanto, é considerado produtivo como algumas subespécies que produzem cacau de excelente qualidade. A variedade Trinitária é considerada híbridos, resultantes do cruzamento natural do Criollo e Forasteiro, que possui também uma excelente qualidade devido à junção das características do cruzamento (KREIBICH, 2016).

3.2 PRODUÇÃO MUNDIAL DE CACAU E O POTENCIAL DA CACAUCULTURA NA AMAZÔNIA PARAENSE

A cadeia produtiva de cacau é considerada longa e complexa, pois envolve desde os produtores, compradores, indústrias processadoras e consumidores, tornando-se base de um arranjo produtivo que envolve 60 bilhões de dólares anualmente a nível mundial. Em virtude disso, é classificado como *commodity* por seu valor ser formado na bolsa de Nova Iorque, em função do

grande volume comercializado, cujo número chega a milhões de toneladas anuais (SOUZA et al., 2016).

Segundo a Organização Internacional do cacau (*International Cocoa Organization* – ICCO, 2021) a estimativa da produção global de amêndoas de cacau para a safra de 2020/21 será de 4,84 milhões de toneladas, um aumento de 2,50% em relação à temporada 2019/20 e os países que mais produzem cacau são Costa do Marfim, Gana e Nigéria ocupando respectivamente as primeiras posições.

O Brasil ocupa a sétima posição e fica entre os grandes produtores mundiais de cacau (ICCO, 2019). Em 2021, o Brasil produziu em torno de 284.177 mil toneladas de amêndoas. A produção brasileira de cacau encontra-se distribuída principalmente nas regiões: norte (Pará); nordeste (Bahia) e sudeste (Espírito Santo), com destaque para as Regiões Norte e Nordeste que são responsáveis por mais de 96% da produção nacional (IBGE, 2021).

A Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira – CEPLAC apresenta um estudo demonstrando as potencialidades que tornam o Pará um estado promissor na produção mundial de cacau: sua produtividade de 930kg/ha corresponde a maior do mundo, com destaque para Medicilândia, município do sudoeste paraense, onde chega-se a tirar 1.190kg/ha. Enquanto em todo o país o crescimento da área plantada foi de 1,3%, no Pará o crescimento foi de 5% (CEPLAC, 2019).

A produção paraense cresce 15% ao ano e o Estado já se tornou o maior produtor nacional de cacau, com 131.582 toneladas, em 2018, superando a produção da Bahia de 122 mil toneladas. A proposta é aumentar em 40 mil hectares a área de plantio e de mais quatro mil produtores até 2022 buscando assim alcançar maior excelência e qualidade na produção cacaueira do estado do Pará. Além disso, a produção tende a aumentar ainda mais, devido à forte demanda por sementes híbridas para novos plantios (em média 15 milhões por ano), associada à disponibilidade de mais de um milhão de hectares de solos de média a alta fertilidade nas regiões cacaueiras do Pará que garantem espaço para expansão (CEPLAC, 2019).

3.3 QUALIDADE DAS AMÊNDOAS DE CACAU

A ISO 2451 (ISO, 2014) é uma regulamentação internacional oficial de cacau que estabelece um padrão de qualidade baseado na prova de corte para classificar as amêndoas de cacau e identificar defeitos de aroma desejáveis para fins comerciais. No Brasil, a Instrução Normativa nº 38 de 23 de junho de 2008 (MAPA, 2008) e retificada pela Instrução Normativa nº 57 de 12 de novembro de 2008, ambas do Ministério da Agricultura (BRASIL, 2008), que define o padrão oficial para importação de amêndoas de cacau no país e se refere aos requisitos de qualidade da amêndoa, em função dos limites máximos de tolerância de defeitos, incluindo dentre estes o teor de fumaça. Para o cacau de qualidade superior com padrão para exportação, o país ainda não possui uma normativa padrão que caracterize e reconheça este tipo de produto (FERREIRA, 2017).

No mercado internacional a valorização das amêndoas está muito relacionada a classificação dos cacaos que são: comuns (bulk) ou finos (flavor). De forma geral, a maioria dos cacaos considerados finos pertence aos grupos genéticos Criollo, Trinitário ou variedade Nacional do Equador e cacaos comuns são originados de frutos do grupo Forastero. No entanto, a definição de cacau fino permanece controversa porque não existe um critério universalmente aceito que possa ser adotado para determinar se uma amostra de cacau de uma dada origem pode ou não ser classificado como cacau fino. Porém, critérios relevantes que podem ser utilizados incluem: origem genética do material plantado, características morfológicas e químicas da planta, aroma e sabor das amêndoas, coloração das amêndoas e nibs, grau de fermentação, secagem, acidez e presença de *off flavors* (HASHIMOTO, 2015).

Existem várias associações que estabelecem critérios para a qualidade do cacau tais como: na Europa, a Federation of Cocoa Commerce (FCC), nos EUA, a Food and Drugs Administration (FDA), a Cocoa Merchants Association of America, Inc. (CMAA), a Intercontinental Exchange (ICE). De forma geral, os critérios adotados pelas diferentes associações comerciais não são harmonizados e geralmente se referem ao percentual de defeitos no lote (presença de materiais

estranhos, defeitos, *off-flavours*) e há parâmetros que afetam o rendimento como, por exemplo, os teores de casca, umidade e lipídios (FCC, 2012).

Outros parâmetros adotados para a avaliação e classificação de amêndoas de qualidade na prova de corte são: apresentar no mínimo de 65% (sessenta e cinco por cento) de amêndoas totalmente marrom, não ter máximo de 15% (quinze por cento) de amêndoas sub-fermentadas (violetas), possuir percentagem máxima de 3% para defeitos como: mofo interno, danificadas por inseto, germinadas, achatadas, máxima de 1% para ardósia, ter umidade final de, no máximo 8%, ser livre de impurezas e matérias estranhas, ter boa apresentação externa e possuir aroma natural (FERREIRA, 2017).

Segundo Araújo et al. (2014), o produtor deve ser capaz de produzir cacau com excelente qualidade, baixo custo e ótimo rendimento. Muitos pontos foram pensados, desenvolvidos e aperfeiçoados para suprir essa demanda, facilitar distinções de produtos, além de agregar valor como o sistema de rastreabilidade, certificações ambientais, denominação de origem e clareza nos processos produtivos, promovendo um importante diferencial competitivo para a cadeia produtiva (CEPLAC, 2019).

O conhecimento e dedicação dos produtores aos procedimentos realizados desde o cultivo até a secagem e armazenamento de cacau são essenciais para obtenção de amêndoas de qualidade. Alguns fatores indispensáveis são: homogeneização dos lotes da área de cultivo, identificação da variedade do cacau que será cultivado, utilização de produtos para proteção contra insetos e doenças prejudiciais ao fruto e o processo de adubação e sombreamento do cacauzeiro. Portanto, depois de tomadas as decisões de como será o manejo do fruto, é necessário também que haja conhecimento por parte dos produtores nas posteriores etapas envolvidas na produção de uma amêndoa de cacau de qualidade, que são compreendidas em: colheita, quebra, transporte, fermentação, secagem e armazenamento (FERREIRA et al., 2013; KRÄHMER et al., 2015).

Os principais fatores climáticos que influenciam no rendimento e na qualidade do cacau são as chuvas, temperatura e a exposição à luz. A fermentação e a secagem são os dois tratamentos pós-

colheita fundamentais em sua produção e os que mais influenciam na qualidade das amêndoas (FERREIRA, 2017; BUDIANSKY, 2018; PEROTTIA et al., 2019).

3.4 BENEFICIAMENTO DOS FRUTOS ÀS AMÊNDOAS DE CACAU

3.4.1 *Colheita*

A colheita do cacau é a fase inicial no beneficiamento, deve ser efetuada quando os frutos apresentarem ponto ideal de maturação, a depender da variedade apresentará uma coloração da casca diferenciada, pois na prática a maturidade é reconhecida pela mudança da cor do cacau. Na colheita, é essencial colher apenas frutos maduros, pois somente estes possuem açúcar e outros substratos em quantidade adequada para uma boa fermentação. A colheita deve ser realizada utilizando podões ou tesouras de poda, devendo-se ter o cuidado de não cortar o pedúnculo do fruto e evitar danificar a almofada floral, para não comprometer a produtividade da planta. Outro fator que deve ser levado em consideração é não causar nenhum corte no fruto, pois desta forma dará início ao processo fermentativo antes mesmo de estar nos cochos, comprometendo a qualidade das amêndoas (BECKETT, 2009).

Após a colheita, os frutos devem ser quebrados e deles retiradas as sementes com a polpa aderida, que serão submetidas à fermentação. O período entre a quebra e o início da fermentação não deve ser superior a 24 horas para que não ocorram reações químicas indesejáveis. É importante que sementes provenientes de quebras em dias diferentes não sejam fermentadas juntas, pois isso conduz a uma fermentação desigual. O intervalo de tempo para se realizar a quebra dos frutos é de 2 a 3 dias em relação à colheita, pois a separação das sementes da casca é facilitada, caso esse tempo seja estendido acaba por comprometer a qualidade das sementes ocasionando germinação no interior dos frutos, alterando todo o mecanismo do sabor e aroma do chocolate (GUEHI et al., 2010; RAMOS et al., 2020).

3.4.2 Fermentação

Posteriormente à quebra e separação da casca, as sementes de cacau envoltas por uma polpa mucilaginosa são submetidas à fermentação. As sementes são geralmente fermentadas em caixas de madeira, podendo ser também em bandejas e montes, durante 2-8 dias, dependendo da variedade e das condições do cacau. A fermentação também pode ser realizada em montes, cochos de madeira ou cestos, os locais de fermentação variam de acordo com a região (SCHWAN e WHEALS, 2010; KONGOR et al., 2016).

A fermentação é considerada a principal etapa do beneficiamento das amêndoas de cacau para a sua produção. Durante este processo, diversas reações bioquímicas ocorrem nas amêndoas, induzindo a síntese de aromas ou de seus precursores. Há diversos métodos utilizados nesta operação, que variam de acordo com o produtor ou país de origem. A fermentação é adaptada para cada tipo de variedade por isso, o método empregado irá influenciar diretamente na qualidade da amêndoa (HIL, LAW e CLOKE, 2009; SCHWAN e WHEALS, 2010; CALIGIANI, MARSEGLIA e PALLA, 2016).

A fermentação apresenta duas fases: a primeira é desenvolvida principalmente por leveduras, onde há uma diminuição do pH, em conjunto com o aumento da temperatura (45-50°C) são responsáveis pela morte do gérmen, ou seja, elimina o poder de germinação da semente e, portanto, à partir desse momento, os grãos passam a se denominar amêndoas. A morte da semente resulta em mudanças de estruturas subcelulares, as quais são importantes para a produção de precursores do sabor, como a hidrólise das proteínas, originando aminoácidos livres. A geração de precursores de sabor é um importante resultado da fermentação. Amêndoas mal fermentadas ou sementes não fermentadas apresentam uma coloração marrom-violácea ou acinzentada (EFRAIM, 2009; OZTURK; YOUNG, 2017; ROTTIERS et al., 2019).

Na segunda fase da fermentação ocorre uma condensação oxidativa, com enzimas como a polifenoloxidase, que convertem os polifenóis para quinonas, a qual tem como principal característica a redução da adstringência e amargor devido à oxidação dos compostos fenólicos, formando complexos com proteínas e peptídeos, refletindo-se, entre outras, na transformação da cor púrpura

dos cotilédones, com o aumento da concentração de ácido acético e oxidação das antocianinas. Uma amêndoa de cacau bem fermentada apresenta cotilédones de coloração marrom. Quando há mistura de coloração marrom com violeta, roxa ou púrpura, a amêndoa é classificada como parcialmente fermentada. Caso a amêndoa apresente coloração de violeta a púrpura, em grande parte de sua extensão, é considerada como mal fermentada (OWUSU; PETERSEN; HEIMDAL, 2012; EVINA et al., 2016).

3.4.3 Secagem

Com o processo fermentativo concluído, inicia-se imediatamente a etapa de secagem a fim de reduzir a umidade das amêndoas de cacau de 40 - 60% à 6 - 8% impedindo a proliferação de microrganismos (BRASIL, 2008). A maioria das reações bioquímicas iniciadas na fermentação continua durante a secagem, permitindo o escurecimento dos cotilédones, além de reduzir o teor de umidade e atividade de água das amêndoas de cacau, garantindo maior estabilidade durante o armazenamento. O período ótimo para que ocorra a secagem é de 4 a 5 dias (DI MATTIA et al., 2013; KEDJEBO et al., 2015; BRACHÈNE, 2015).

O processo de secagem das amêndoas de cacau pode ser realizado por dois métodos distintos: natural ou artificial. A secagem natural, realizada ao sol, é uma operação simples e bastante utilizada em fazendas cacauceiras. No Brasil, é normalmente realizada em plataformas de madeira, denominadas barcaças, onde as sementes são espalhadas e revolvidas frequentemente para que seja propiciada a uniformização e redução da umidade, além da remoção de compostos indesejáveis formados durante a fermentação, como, por exemplo, o ácido acético. Em dias chuvosos ou quando o espaço disponível nas barcaças não é suficiente para comportar o volume de produção, tem-se como alternativa a secagem artificial, com a aplicação de ar quente (EFRAIM et al., 2010).

Em ambos os métodos de secagem utilizados em amêndoas de cacau não se deve utilizar altas temperaturas ou longos tempos de processo, pois, há a redução do teor de polifenóis nas sementes de cacau. Além de ter sido constatada a redução de 50% de epicatequinas em amêndoas

fermentadas após dois dias de secagem natural e redução da atividade enzimática da polifenoloxidase em 2% (WOLLGAST e ANKLAM, 2000; SALTINI, AKKERMAN e FROSCH, 2013).

Por outro lado, a secagem muito rápida propicia a produção excessiva de ácidos, incluindo ácido acético, que é prejudicial ao sabor, enquanto que uma secagem muito lenta resulta em menores valores de pH, ausência da cor ideal e aumento do crescimento de bolores na amêndoa de cacau (ZAHOULI et al., 2010; RODRIGUEZ-CAMPOS et al., 2012). Portanto, a temperatura é um importante parâmetro durante a etapa de secagem, uma vez que, enzimas presentes nas amêndoas de cacau, atuam no interior da amêndoa e promovem reações químicas. A temperatura ótima da atividade enzimática está entre 35 – 40°C, o que justifica os melhores resultados obtidos pela secagem natural. O uso de temperaturas reduzidas ou acima desta faixa promovem perdas na qualidade das amêndoas, consequência da diminuição da atividade enzimática (SALTINI et al., 2013).

3.5 AVALIAÇÃO DA QUALIDADE FÍSICA DAS AMÊNDOAS: PROVA DE CORTE

A prova de corte é a principal forma de avaliar a qualidade das amêndoas fermentadas e secas, esse teste é utilizado mundialmente como forma de classificar e caracterizar lotes quanto à sua qualidade (BRASIL, 2008; ICCO, 2019). Geralmente, a prova de corte é realizada pelo comprador, de acordo com o procedimento estabelecido pela *Federation of Cocoa Commerce* (FCC) e pela Instrução Normativa nº 38 de 23 de junho de 2008 do Ministério da Agricultura (BRASIL, 2008).

O teste mensura o grau de fermentação das amêndoas pela coloração (marrom, parcialmente marrom, violácea, ardósia) e compartimentação dos cotilédones (bem, parcialmente ou pouco compartimentada), bem como avalia a presença de fungos, infestações por pragas durante a estocagem, amêndoas germinadas (provenientes de frutos sobre maduros) e achatadas, além do aroma externo e após o corte, entre outros parâmetros. Também são realizadas medidas da umidade e da massa de 100 amêndoas. A classificação dos lotes quanto ao tipo é dada de acordo com as características mensuradas, e varia de acordo com normas estabelecidas em cada país produtor ou comprador de cacau (EFRAIM, 2009).

Apesar da aceitação internacional este método é demasiadamente limitado para a avaliação de qualidade, devido ao embasamento na avaliação de defeitos, listados em ordem decrescente de gravidade: amêndoas mofadas, presença de aroma de fumaça, danificadas por insetos, ardósias, germinadas e achatadas (BRASIL, 2008). De acordo com a porcentagem dos defeitos observados na amostra, o lote pode ser classificado em tipos (Tabela 1). Já a recomendação da FCC é que sejam contadas separadamente as amêndoas mofadas ou danificadas por insetos e as amêndoas ardósias. Ainda, qualquer evidência da presença de amêndoas violáceas e/ou contaminação deve ser descrita (FCC, 2012).

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

Classificação	Mofadas	Fumaça	Danificadas por insetos	Ardósia	Germinadas	Achatadas
Tipo 1	0 a 4	0 a 1	0 a 4	0 a 5	0 a 5	0 a 5
Tipo 2	4 a 6	1 a 4	4 a 6	5 a 10	5 a 6	5 a 6
Tipo 3	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).

A mudança de coloração da amêndoa de violáceas para marrom indica uma amêndoa bem fermentada, que apresenta normalmente aroma agradável de vinagre. A coloração e a compartimentação das amêndoas de cacau são indicadores da ocorrência de importantes reações bioquímicas durante a fermentação e secagem, como a ruptura das membranas celulares e o contato de substâncias que antes encontravam-se separadas, como das enzimas com os compostos fenólicos (EFRAIM et al., 2010).

A avaliação das amêndoas através da prova de corte nos dá um indicativo da presença de compostos fenólicos nos ensaios, visto que os cotilédones de sementes de cacau possuem coloração violácea intensa (presença de compostos fenólicos) e durante a fermentação há uma difusão dos conteúdos celulares que permite diversas reações bioquímicas, enzimáticas e de oxidação dos compostos fenólicos, as quais propiciam um escurecimento dos cotilédones para coloração marrom

e a formação de sulcos (depressão linear encontrada no interior dos cotilédones) (EFRAIM et al., 2011).

Dos polifenóis encontrados no cacau 60%, em peso seco, são (+) catequinas, (-) epicatequinas e procianidinas. Os flavonóides majoritários são a (+)- catequina e a (-)-epicatequina. Apesar do elevado conteúdo de compostos fenólicos nas sementes de cacau, alguns estudos indicam que durante o pré-processamento do cacau (fermentação e secagem) há perda de compostos fenólicos, estas perdas de compostos fenólicos têm sido atribuídas às condições de processamento e além de outros fatores à atuação da polifenoloxidase (PFO), que durante os processos de fermentação e secagem é responsável pela oxidação dos compostos fenólicos (EFRAIM et al., 2010).

3.6 ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO PRÓXIMO (NIR)

As técnicas analíticas utilizadas para análise de qualidade de amêndoas de cacau apresentam vários desafios ligados a processo lento de leitura, exigirem estrutura tecnológica avançada e pessoas qualificadas, acarretando barreiras no avanço da cadeia produtiva. Dessa forma, há uma necessidade de um método confiável, rápido e barato de avaliação da qualidade das amêndoas de cacau configurando em um avanço na produção e diminuição dos riscos de fraude, uma vez que normalmente são feitas apenas inspeções de lotes através de métodos visuais, como o teste de corte (TEYE et al., 2020).

Nas últimas duas décadas, os métodos de espectroscopia do infravermelho próximo (NIR) provaram ser rápidos e possuem alternativas rotineiramente aplicáveis para avaliação qualitativa e quantitativa simultânea na determinação de vários constituintes primários e secundários de matrizes vegetais (SCHULZ E BARANSKA, 2009; KRÄHMER et al., 2013; TEYE et al, 2020).

O método de NIR (*Near-Infrared Spectroscopy* - NIR) é um tipo de espectroscopia vibracional, a qual emprega fótons com a energia correspondente aos comprimentos de onda na faixa de 750 à 2500nm (números de onda: 13300 à 4000cm⁻¹). As interações desta radiação eletromagnética

com moléculas orgânicas permitem obter um espectro que contém informação qualitativa e quantitativa sobre os constituintes da amostra (PASQUINI, 2003).

A espectroscopia infravermelha (IV) está dividida em três regiões: o infravermelho próximo, o qual compreende a faixa de número de onda de $13330 - 4000\text{cm}^{-1}$, o infravermelho médio (MIR) o qual varia de $4000 - 400\text{cm}^{-1}$ e por fim o infravermelho distante, que abrange a região de $400 - 10\text{cm}^{-1}$ (STUART, 2005; SIESLER et al., 2008; SUN, 2009).

O Infravermelho emite energia suficiente para excitar transições vibratórias e rotacionais, e as maneiras que uma molécula pode vibrar está diretamente relacionado ao número de ligações e átomos que contém, e cada molécula possuiu uma absorção única, as moléculas só conseguem absorver radiação infravermelha (IV) se estas sofrerem mudanças no momento dipolo, se a frequência da radiação emitida corresponder à frequência vibracional das moléculas e então a radiação será absorvida (CHRISTIAN, DASGUPTA e SCHUG, 2014).

Na região do NIRS ocorre à absorção de *overtones* ou combinações de vibrações fundamentais de estiramento das moléculas, e os espectros dependem da composição química e características físicas destas. As ligações mais comuns são de C-H, N-H, O-H e S-H (HOLLER, SKOOG e CROUCH, 2009; KUMAR; 2014).

Estudos iniciais sobre massa de cacau em pó e chocolate mostraram a aplicabilidade de espectroscopia do infravermelho próximo (NIR) para quantificação dos seus principais constituintes - gordura, proteína, umidade e carboidratos. Outras aplicações desse método incluem: a previsão de parâmetros de composição química; a qualidade sensorial de amêndoas; a avaliação de adulterações na comercialização; o monitoramento em etapas de processos e a discriminação de amostras em relação a sua origem geográfica. As amêndoas de cacau, como qualquer outro produto alimentício, são constituídas por abundantes grupos orgânicos de hidrogênio, possibilitando a utilização da análise de NIR (ALVAREZ et al., 2012; TEYE, HUANG, DAI e CHEN, 2014; TEYE et al., 2020).

Kutsanedzie (2018) usou o NIR para discriminar três graus de qualidade de amêndoas de cacau, em termos de graus de fermentação e observou 94% de precisão usando os métodos de

“Máquinas de Vetores de Suporte” (SVM, *Support Vector Machines*) e “Máquina de Aprendizagem Extrema” (ELM, *Extreme Learning Machine*) com tratamento de pré-processamento de transformação padrão normal de variação (SNV, *Standard Normal Variate*). Todos esses estudos revelaram que a espectroscopia do infravermelho próximo - NIR acoplada à ferramenta quimiométrica correta, pode ser usada para medições qualitativas de amêndoas de cacau. E o mais importante, essas medições ajudarão bastante na detecção da qualidade e de fraudes por meio de rotulagem incorreta e adulteração de matéria-prima de baixo custo para obter vantagem indevida de preço.

A espectroscopia no infravermelho próximo, além de fornecer os resultados de maneira mais rápida, é um método não destrutivo, assim como não gera subprodutos tóxicos e apresenta simplicidade na preparação de amostras, sendo que a maior desvantagem da técnica é provavelmente, a baixa sensibilidade a constituinte em menores concentrações (BURNS e CIURCZAK, 2001; SKOOG et al., 2002).

As determinações analíticas no infravermelho próximo são baseadas em relações matemáticas estabelecidas entre o espectro inteiro da amostra e concentrações medidas por métodos de referência. Essa relação matemática é obtida pela aplicação da quimiometria, que consiste no uso de ferramentas estatísticas, matemáticas e gráficas para resolver sistemas químicos, utilizada tanto no planejamento e otimização de experimentos quanto na análise multivariada de resultados (BARROS NETO, SCARMINIO e BRUNS, 2010).

3.7 QUIMIOMETRIA

Parâmetros vitais de qualidade de interesse em materiais biológicos podem ser medidos analisando seus dados espectrais NIR usando quimiometria. A quimiometria compreende vários algoritmos estatísticos multivariados, por exemplo, análise de componentes principais (PCA), análise discriminante linear (LDA), mínimos quadrados parciais (PLS), máquina de vetores de suporte (SVM), intervalo de sinergia entre mínimos quadrados parciais (Si-PLS) que exigem a análise rápida

de espectro NIR para a concentração real de componentes importantes na matriz da amostra e facilita a detecção simultânea de vários parâmetros qualitativos e quantitativos em uma única varredura (HASHIMOTO, 2015; KRÄHMER et al., 2015; TEYE et al., 2020).

A quimiometria pode ser compreendida como uma ciência que correlaciona variáveis químicas baseados na álgebra linear, focando de maneira geral em dois temas fundamentais: o planejamento experimental e a análise de dados multivariados. A evolução da quimiometria ocorreu no século 21 devido a sua importância nas análises de dados obtidos por meio da química analítica, ou seja, as ferramentas quimiométricas buscam encontrar as possíveis relações entre as amostras analisadas e as variáveis estudadas, com objetivo de diminuir a complexidade dos dados de um experimento (BRERETON, 2007; KUMAR, et al. 2014).

Os métodos analíticos baseados na aplicação de NIR e quimiometria apresentam vantagens porque são: rápidos (um minuto ou menos por amostra), não destrutivos, não invasivos, adequados para monitoramento de processos, aplicáveis para a análise de quaisquer moléculas contendo ligações C-H, N-H, S-H ou O-H e exigem pouco ou nenhum preparo de amostra (PASQUINI, 2003). Outras vantagens incluem a possibilidade de calibração de vários componentes de forma simultânea, baixo custo, não utilização de reagentes e solventes e, portanto, sem geração de resíduos. Além disso, quando bem desenvolvidos, os modelos de calibração fornecem resultados com alta precisão e repetitividade (SIMAS, 2005).

Métodos quimiométricos podem ser aplicados com diferentes finalidades em análises de cacau, incluindo a análise exploratória de dados, a calibração multivariada para a predição quantitativa de propriedades da amostra e também a classificação de amostras de acordo com critérios de agrupamento (origem geográfica, tipo de processamento ou grau de maturação) (HASHIMOTO, 2015; TEYE et al., 2020).

Em relação à análise de adulteração, Teye et al. (2014) desenvolveram modelos quimiométricos para a detecção e quantificação de amêndoas de cacau não fermentadas indevidamente misturadas às fermentadas. Modelos empregando os métodos de “Máquinas de

Vetores de Suporte” (SVM, Support Vector Machines) e “mínimos quadrados parciais” (PLS) foram desenvolvidos para discriminação entre amêndoas fermentadas, não fermentadas e adulteradas (5 a 40% m/m) e para quantificar o nível de adulteração com amêndoas não fermentadas. Os resultados para o modelo de classificação (100% de identificação correta para os conjuntos de calibração e previsão) e para o modelo de mínimos quadrados parciais - PLS (erro de previsão=1,68% e coeficiente de correlação=0,98) indicaram que os métodos desenvolvidos são apropriados para o monitoramento da qualidade do cacau.

As ferramentas quimiométricas se baseiam em conceitos importantes, como o espaço químico, que pode ser identificado como uma área multidimensional, em um sistema de coordenadas com múltiplos eixos que caracteriza uma quantidade de propriedades físicas, químicas e físico-químicas. Essas ferramentas consideram que as posições das estruturas químicas no sistema de coordenadas estão baseadas nos diferentes valores de seus respectivos eixos. Sendo possível navegar de forma eficiente e inteligente através do espaço químico e extrair informações significativas a partir da grande quantidade de dados obtidos (LINUSSON, et al., 2000).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVAREZ, C.; PEREZ, E.; CROS, E.; LARES, M.; ASSEMAT, S.; BOULANGER, R.; DAVRIEUX, F. The use of near infrared spectroscopy to determine the fat, caffeine, theobromine and epicatechin contents in unfermented and sun-dried beans of Criollo cocoa. **Journal of Near Infrared Spectroscopy**, v.20, p.307-315, 2012.

ARAÚJO, Q. R.; FERNANDES, C. A. F.; RIBEIRO, D. O.; EFRAIM, P.; STEINMACHER, D.; LIEBEREI, R.; BASTIDE, P.; ARAUJO, T. G. Cocoa Quality Index – A proposal. **Food Control**, v.46, p.49–54, 2014.

BARROS NETO, B. B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Como Fazer Experimentos - Pesquisa e Desenvolvimento na Ciência e na Indústria**. 4. ed., Porto Alegre, RS: Bookman, 413 p., 2010.

BECKETT, S. T. **Industrial Chocolate Manufacture and use**. 4. Ed, Wiley-Blackwell, York, 2009.

BEG, M. S.; AHMAD, S.; JAN, K.; BASHIR, K. Status, supply chain and processing of cocoa - A review. **Food Science e Technology**, v.66, p.108 e 116, 2017.

BRACHÈNE, Y. C. **Assessment of qualitative parameters including polyphenol oxidase activity for different drying methods in Amazonian cocoa processing, targeting optimization and standardization**. Master thesis. Université Catholique de Louvain, 2015.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - Instrução Normativa n° 38, de 23 de jun. de 2008. Regulamento Técnico da Amêndoa de Cacau. **Diário Oficial da União**, 2008.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - Instrução Normativa n° 57, de 12 de nov. de 2008. Regulamento Técnico da Amêndoa de Cacau. **Diário Oficial da União**, 2008.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - Implantação do cacau em sistemas agroflorestais / Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira. **Diário Oficial da União**, 2014.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Implantação do cacau em sistemas agroflorestais. Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira. **Diário Oficial da União**, Brasília: MAPA, 2015.

BRERETON, R. G. **Applied chemometrics for scientists**. Cichester, John Wiley, p.379, 2007.

BUDIANSKY, E. Cocoa and Climate Change: Urban Legends and Rural Realities. 2018. Disponível em: <https://www.worldcocoaoundation.org/blog/cocoa-and-climate-change-urban-legends-and-rural-realities/>. Acesso em: 22 fev. 2020.

BURNS, D. A.; CIURCZAK, E. W. **Handbook of Near-Infrared Analysis**. New York: Marcel Dekker, 2001.

CALIGIANI, A.; MARSEGLIA, A.; PALLA, G. Cocoa: Production, Chemistry, and use. **Encyclopedia of Food and Health**, Elsevier, ed. 1, p.185-190, 2016.

CEPLAC. Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira. A crise da lavoura cacaueira, condicionantes, ação governamental, análise e recomendações. **Nota Técnica: Programa de Recuperação da Lavoura Cacaueira – 3ª e 4ª etapas**. 2019.

CHRISTIAN, G. D.; DASGUPTA, P. K.; SCHUG, K.A. **Analytical chemistry**. 7 ed., Wiley: New York, 2014.

DIMATTIA, C.; MARTUSCELLI, M.; SACCHETTI, G.; SCHEIRLINCK, I.; BEHEYDT, B.; MASTROCOLA, D.; PITTIA, V. Effect of fermentation and drying on procyanidins, antiradical activity and reducing properties of cocoa beans. **Food and Bioprocess Technology**, v.6, n.12, p.3420-3432, 2013.

EFRAIM, P. **Contribuição à melhoria de qualidade de produtos de cacau no Brasil, por meio da caracterização de derivados de cultivares resistentes à vassoura-de-bruxa e de sementes danificadas pelo fungo**. 208 p. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos). Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2009.

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

EFRAIM, P.; ALVES, A. B.; JARDIM, D. C. P. Polyphenols in cocoa and derivatives: factors of variation and health effects. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.14, p.181-201, 2011.

EVINA, V. J. E.; TAEYE, C.; NIEMENAK, N.; YOUMBI, E.; COLLIN, S. Influence of acetic and lactic acids on cocoa flavan-3-ol degradation through fermentation-like incubations. **Food Science and Technology**, v.68, p.514-522, 2016.

FCC - Federation of Cocoa Commerce Ltd. FCC Quality Rules. 2012. 30p. Disponível em: <https://www.icco.org/faq/59-fermentation-a-drying/108-how-is-the-quality-of-cocoa-checked-by-hand-by-machine.html>. Acesso em: 12 fev. 2020.

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

FERREIRA, A. C. R. **Guia da indicação geográfica Sul da Bahia**. Ilhéus: PTCSB, 59p., 2017.

FERREIRA, A. C. R. **Indicação de Procedência Sul da Bahia - Manual de controle da Qualidade do Cacau Sul da Bahia**. Editora: PTCSB, Ilhéus-BA, 2017.

GUEHI, S.; DABONNE, S.; BAN-KOFFI, L.; KEDJEBO, D.; ZAHOULI, G. Effect of turning beans and fermentation method on the acidity and physical quality of raw cocoa beans. **Advance Journal of Food Science Technology**, 2 (3), 163–171, 2010.

HASHIMOTO, J. C. **Caracterização de amêndoas de cacau produzidas em diferentes estados brasileiros e aplicação de espectroscopia no infravermelho próximo e quimiometria como alternativa para o controle de qualidade**. Tese (Doutorado). Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, 2015.

HII, C. L.; LAW, C. L.; CLOKE, M. Modeling using a new thin layer drying model and product quality of cocoa. **Journal of Food Engineering**, v.90, p.191–198, 2009.

HO, V. T. T.; ZHAO, J.; FLEET, G. The effect of lactic acid bacteria on cocoa bean fermentation. **International Journal of Food Microbiology**, v.205, p.54–67, 2015.

HOLLER, F. J.; SKOOG, D. A.; CROUCH, S. R. **Princípios de análise instrumental**. 6 ed., Porto Alegre: Bookman, 1055 p., 2009.

HU, Y.; PAN, Z. J.; LIAO, W.; Li, J.; GRUGET, P.; KITTS, D. D.; 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.

HUANG, D.; OU, B.; HAMPSCH-WOODILL, M. F.; JUDITH, A.; PRIOR, R. L. High-throughput assay of oxygen radical absorbance capacity (ORAC) using a multichannel liquid handling system coupled with a microplate fluorescence reader in 96-well format. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.50, p.4437-4444, 2002.

IBGE. Indicadores IBGE. Estatística da Produção Agrícola. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2017. Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br>. Acesso em: 26 de agosto de 2021.

IBGE. Indicadores IBGE. Estatística da Produção Agrícola. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2021. Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br>. Acesso em: 16 de setembro de 2019.

ICCO - International Cocoa Organization. ICCO Quarterly Bulletin of Cocoa Statistics, vol XLVII, n. 3, 2020/21. Disponível em: <http://www.icco.org>. Acesso em: 16 de setembro de 2021.

ISO. Cocoa beans - Specification (ISO 2451). **Geneva: International Organization for Standardization**, 2014.

KEDJEBO, K. B.; GUEHI, T. S.; KOUAKOU, B.; DURAND, N.; AGRUILAR, P.; FONTANA, A.; MONTET, D. Effect of post-harvest treatments on the occurrence of ochratoxin A in raw cocoa beans. **Food Additives & Contaminants**, Ed. A, p.1-10, 2015.

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

KRÄHMER, A.; ENGEL, A.; KADOW, D.; ALI, N.; UMAHARAN, P.; KROH, L. W.; SCHULZ, H. Fast and neat – Determination of biochemical quality parameters in cocoa using near infrared spectroscopy. **Food Chemistry**, v.181, p.152–159, 2015.

KRÄHMER, A.; GUDI, G.; WEIHER, N.; GIERUS, M.; SCHÜTZE, W. & SCHULZ, H. Characterization and quantification of secondary metabolite profiles in leaves of red and white clover species by NIR and ATR-IR spectroscopy. **Vibrational Spectroscopy**, v.68, p.96-103, 2013.

KREIBICH, H. H. **Qualidade e segurança das amêndoas de cacau (*Theobroma cacao* L.) e seus produtos com relação aos contaminantes biológicos e a descontaminação de fungos toxigênicos com ozônio gasoso**. Dissertação (mestrado). Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Ciências Agrárias, Florianópolis- SC, 2016.

KUMAR, N.; BANSAL, A.; SARMA, G. S.; RAWAL, R. K. Chemometrics tools used in analytical chemistry: An overview. **Talanta**, v.123, p.186–199, 2014.

KUTSANEDZIE, F. Y. Near infrared system coupled chemometric algorithms for enumeration of total fungi count in cocoa beans neat solution. **Food Chemistry**, v.240, p.231-238, 2018.

LINUSSON, A.; GOTTFRIES, J.; LINDGREN, F.; WOLD, S. Statistical molecular design of building blocks for combinatorial chemistry. **Journal of Medicinal Chemistry**, v.43, p. 1320-1328, 2000.

MORORÓ, R. C. **Aproveitamento de derivados, subprodutos e resíduos de cacau.** Ciência, tecnologia e manejo do cacau, 2 ed., Ceplac, Ilhéus, p.597-653, 2012.

MÜLLER, M. W.; VALLE, R. R. M. **Ecofisiologia do cacau.** Ciência, tecnologia e manejo do cacau, 2 ed., Ceplac, Ilhéus, p.31-66, 2012.

OWUSU, M; PETERSEN, M. A; HEIMDAL, H. Effect of fermentation method, roasting and conching conditions on the aroma volatiles of dark chocolate. **Journal of Food Processing and Preservation**, v.36, n.5, p.446-456, 2012.

OZTURK, G; YOUNG, G. M. Evolução alimentar: o impacto da sociedade e da ciência na fermentação de grãos de cacau. **Ciência e Segurança Alimentar**, v.16, n.3, p.431-455, 2017.

PASQUINI, C. Near Infrared Spectroscopy: fundamentals, practical aspects and analytical applications. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v.14, n.2, p.198-219, 2003.

PEROTTIA, P.; CORDEROA, C.; BORTOLINIB, C.; RUBIOLOA, P.; BICCHIA, C.; LIBERTO, E. Cocoa smoky off-flavor: Chemical characterization and objective evaluation for quality control. **Food Chemistry**, v.309, 2019.

RAMOS, S.; SALAZAR, M.; NASCIMENTO, L.; CARAZZOLLE, M.; PEREIRA, G.; DELFORNO, T.; NASCIMENTO, M.; DE ALELUIA, T.; CELEGHINI, R.; EFRAIM, P. Influence of pulp on the microbial diversity during cupuassu fermentation. **International Journal of Food Microbiology**, 318, 2020.

RODRIGUEZ-CAMPOS, J; ESCALONA-BUENDÍ, H. B; CONTRERAS-RAMOS, S. M; OROZCO-ÁVILA, I; JARAMILLO-FLORES, I; LUGO-CERVANTES, E. Effect of fermentation time and drying temperature on volatile compounds in cocoa. **Food Chemistry**, v.132, n.1, p.277-288, 2012.

ROTTIERS, H; SOSA, D. A. T; WINNIE, A; RUALES, J; CLIPPELLER, J; LEERSNYDER, I; WEVER, J; EVERAERT, H; MESSENS, K; DEWETTINCK, K. Dynamics of volatile compounds and flavor precursors during spontaneous fermentation of fine flavor Trinitario cocoa beans. **European Food Research and Technology**, v.245, n.9, p.1917-1937, 2019.

SALES, J. H.; CÂNDIDA. T. Efeito da temperatura sobre a amêndoa de cacau: secador vertical. **Revista GEINTEC**, v.6, n.3, p.3437-3446, 2016.

SALTINI, R.; AKKERMAN, R.; FROSCH, S. Optimizing chocolate production through traceability: A review of the influence of farming practices on cocoa bean quality. **Food Control**, n.29, p.167-187, 2013.

SCHULZ, H.; BARANSKA, M. Fruits and Vegetable. **Infrared Spectroscopy for Food Quality Analysis and Control**, Ed. Academic Press, p.321-353, 2009.

SCHWAN, R. F.; WHEALS, A. E. The microbiology of cocoa fermentation and its role in chocolate quality. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.44, p.205-221, 2010.

SIESLER, H.W.; OZAKI, Y.; KAWATA, S.; HEISE, H.M. **Near-infrared Spectroscopy: Principles Instruments Applications**. John Wiley e Sons, New York, p. 125–128, 2008.

SIMAS, R. C. **Determinação de proteínas e aminoácidos em farelo de soja por espectroscopia no infravermelho próximo**. Dissertação (mestrado). 2012.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. **Princípios de análise instrumental**. 5 ed., São Paulo: Bookman., 2002.

SOUZA, C. A. S.; DIAS, L. A. S.; AGUILAR, M. A. G. **Importância Econômica e Social**. Cacau do plantio à colheita, Viçosa, MG: Editora UFV, 2016.

STUART, B. **Infrared spectroscopy**. John Wiley & Sons, Inc, 2005.

SUN, D. W. **Infrared spectroscopy for food quality analysis and control**. Academic Press, 2009.

TEYE, E.; HUANG, X.; LEI, W.; DAI, H. Feasibility study on the use of Fourier transform near-infrared spectroscopy together with chemometrics to discriminate and quantify adulteration in cocoa beans. **Food Research International**, v.55, p.288-293, 2014.

TEYE, E.; ANYIDOHO, E.; AGBEMAFLE, R.; SAM-AMOA, L.; ELLIOTT, C. Cocoa bean and cocoa bean products quality evaluation by NIR spectroscopy and chemometrics: A review. **Infrared Physics & Technology**, v.104, 2020.

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

ZAHOULI, G. I. B.; GUEHI, S. T.; FAE, A. M.; NEMLI, J. G. Effect of drying methods on the chemical quality traits of cocoa raw material. **Journal of Food Science**, v.2, p.184-190, 2010.

Determinação dos parâmetros de qualidade das amêndoas de cacau (*Theobroma cacao* L.) produzidos na Amazônia oriental e utilização da espectroscopia do infravermelho próximo e ferramentas quimiométricas para sua classificação.

Artigo em fase de revisão para ser submetido a Revista Food Research International

(Configuração conforme normas da revista)

RESUMO

O cacauzeiro (*Theobroma cacao* L.) é uma cultura nativa da América Central e florestas tropicais e desempenha um papel importante na economia das regiões produtoras, porém, devido à falta de infraestrutura e práticas inadequadas no beneficiamento, geram amêndoas com valor agregado baixo. Portanto, afim de valorizar as amêndoas de cacau, esta pesquisa objetivou avaliar a qualidade das amêndoas de regiões paraenses (Baixo Tocantins, Nordeste, Oeste, Sudeste e Transamazônica) produtoras de cacau por avaliação física, físico-química e cromatográficas e comparar o desempenho da espectroscopia no infravermelho próximo aliado a ferramentas quimiométricas para discriminar regiões. Foi aplicado um questionário com os produtores para as práticas de fermentação e secagem, seguido de avaliação física, físico-químicas, capacidade antioxidante, quantificação dos polifenóis totais e compostos bioativos, além de utilizar o NIR como ferramenta analítica. De acordo com a avaliação física, as amostras apresentam padrão comercial aceitável, porém, os resultados do teste de corte evidenciaram a falta de padronização no pré-processamento das sementes. Dentre os parâmetros físico-químicos (proteínas, lipídeos, umidade, cinzas, pH, acidez e atividade de água), a umidade estava dentro do limite tolerado pela legislação e somente lipídeos apresentaram diferenças significativas. Quanto a capacidade antioxidante, polifenóis totais e compostos bioativos, somente os compostos bioativos apresentaram diferenças significativas, com a região do Baixo Tocantins apresentando valores superiores para todos os compostos estudados. O agrupamento das amostras em função das variações de composição físico-químicas foi evidenciado pela Análise de Componentes Principais que houve formação de *cluster* para a região do Baixo Tocantins.

PALAVRAS-CHAVE: Amazônia; *Theobroma cacao*; Espectroscopia no Infravermelho Próximo; Quimiometria.

Determination of the quality parameters of cocoa seeds (*Theobroma cacao* L.) produced in the eastern Amazon and use of near infrared spectroscopy and chemometric tools for their classification.

Article under review to be submitted to Food Research International Magazine

(Configuration according to magazine standards)

ABSTRACT

Cocoa (*Theobroma cacao* L.) is a native crop of the Eastern Amazon and is an important role in the economy of producing regions, however, due to the lack of infrastructure and inadequate processing practices, it generates low added value almonds. Therefore, in order to value cocoa beans, this research aimed to evaluate the quality of beans from regions of Pará (Lower Tocantins, Northeast, West, Southeast and Trans-Amazonian) cocoa producers by physical, physical-chemical and chromatographic evaluation and to compare the performance of Near infrared spectroscopy combined with chemometric tools to discriminate regions. A questionnaire was applied to producers for fermentation and drying practices, followed by physical, physicochemical, antioxidant capacity, quantification of total polyphenols and bioactive compounds, in addition to using NIR as an analytical tool. According to the physical evaluation, the samples present an acceptable commercial standard, however, the cutting test results showed the lack of standardization in the pre-processing of the seeds. Among the physicochemical parameters (proteins, lipids, moisture, ash, pH, acidity and water activity), moisture was within the limit tolerated by legislation and only lipids showed significant differences. As for the antioxidant capacity, total polyphenols and bioactive compounds, only the bioactive compounds showed significant differences, with the Lower Tocantins region showing higher values for all studied compounds. The grouping of samples in function of variations in physicochemical composition was evidenced by the Principal Components Analysis that there was formation of a cluster for the Baixo Tocantins region.

KEYWORDS: Amazon; *Theobroma cacao*; Near Infrared Spectroscopy; Chemometry.

1 INTRODUÇÃO

O cacauero (*Theobroma cacao* L.) é uma dicotiledônea da família das Malvaceae, presente nas regiões de clima tropical, como a Amazônia (Mororó, 2012). A sua polpa é bastante apreciada e comercializada, além disso a partir das sementes é possível obter o chocolate, alimento mundialmente conhecido. (Rusconi & Conti, 2010). Existem 3 variedades de cacau que podem dar origem ao chocolate, sendo o Criollo, cultivado majoritariamente na América Central e do Sul; o Forastero, típico da região do alto e baixo Amazonas e o Trinitário, um híbrido natural entre as duas variedades citadas acima (Thompson, Miller, & Lopez, 2001).

No mercado internacional, a valorização da qualidade das amêndoas de cacau está relacionada à classificação dos cacaos em comuns ou finos, o qual a ISO 2451 define um padrão de qualidade, para classificar as amêndoas de cacau e identificar defeitos de aroma desejáveis para fins comerciais. No Brasil, a Instrução Normativa nº 38 de 23 de junho de 2008 (MAPA, 2008) define o padrão oficial para importação de amêndoas, em função dos limites máximos de tolerância de defeitos. Portanto, etapas de pós-colheita de amêndoas, desenvolvem características de aroma e sabor importantes para o produto final e são determinantes para a formação de preço das amêndoas de cacau e, conseqüentemente, do chocolate.

O estado do Pará alcançou a maior produção do Brasil em 2021 de mais de 144 mil toneladas, o que corresponde a 51% da produção nacional, segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2021), e sua grande importância econômica acarreta uma necessidade de conhecer a qualidade das amêndoas como forma de fomentar alternativas que permitam aumentar a rentabilidade dos produtores de cacau e valorizar o potencial de qualidade do cacau amazônico.

O estado do Pará possui uma área de 1.248.000 km² e considerando as grandes distâncias geográficas é dividido em cinco mesorregiões produtoras de cacau (Baixo Tocantins, Nordeste, Oeste, Sudeste e Transamazônica) e, considerando as condições edafoclimáticas, variações que podem ocorrer durante o pré-processamento, além da diversidade de variedades genótípicas de cacaueros, supõe-se que as amêndoas de cacau provenientes de diferentes regiões no estado possuam *terroir*

característicos. Destaca-se a mesorregião do Baixo Tocantins, onde parte do cacau é nativo e pertence ao ecossistema de várzea, chamado cacau de várzea, o qual apresenta características particulares.

No que diz respeito as técnicas analíticas para examinar as amêndoas de cacau antes de negociar no mercado internacional ainda são incipientes e possuem diversos desafios (Teye, Anyidoho, Agbemafle, Sam-Amoah, & Elliott, 2020). Neste contexto, alternativas analíticas rápidas e robustas permitindo a consideração de toda a composição metabólica do cacau em uma única análise gera grande interesse.

A Espectroscopia no Infravermelho Próximo (NIR) associada à quimiometria apresenta-se como uma alternativa, possibilitando métodos analíticos rápidos, não destrutivos e que permitam a obtenção e interpretação de uma grande quantidade de informações sobre a amostra. (Hu, Kim, & Baik, 2016; Teye *et al.*, 2020), além de terem provado ser uma excelente alternativa para superar o desafio da substituição dos métodos tradicionais, seja para predição de parâmetros de qualidade (Hashimoto *et al.*, 2018) como para classificação em função de sua localização geográfica (Teye, Huang, Dai, & Chen, 2013).

Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar a qualidade das amêndoas de regiões paraenses (Baixo Tocantins, Nordeste, Oeste, Sudeste e Transamazônica) produtoras de cacau por avaliação física, físico-química e cromatográficas e comparar o desempenho da espectroscopia no infravermelho próximo associado as ferramentas quimiométricas para fornecer informações sobre a qualidade das amêndoas de cacau provenientes destas regiões para fins de discriminação geográfica.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Amostras

Foram coletadas 60 amostras comerciais de amêndoas de cacau provenientes de 19 municípios das cinco principais regiões produtoras do Estado do Pará (Baixo Tocantins, Nordeste, Oeste, Sudeste e Transamazônica) e destas, somente 55 foram analisadas para avaliação física, análise físico-química, compostos fenólicos totais, alcaloides xantínicos e compostos fenólicos majoritários.

Aplicou-se um questionário a todos os produtores para obtenção de informações sobre o beneficiamento das amêndoas. As amostras foram transportadas em temperatura ambiente até o Centro de Valorização Agroalimentar de Compostos Bioativos da Amazônia (CVACBA) onde foram identificadas e armazenadas a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ até a realização das análises.

2.2 Avaliação física das amêndoas e obtenção das amêndoas de cacau trituradas

As avaliações de teste de corte, *bean count* e massa média de amêndoas de cacau foram realizados de acordo com o procedimento estabelecido pela ISO 2451 (ISO, 2014) e pela Instrução Normativa n° 38 (MAPA, 2008). Após as avaliações físicas, as amêndoas foram descascadas manualmente e separados os cotilédones (nibs) das cascas (testa) e do gérmen. Posteriormente, os nibs foram triturados (partículas $< 1\text{mm.}$) em triturador modelo LUCA-226/5 (Lucadema Científica - Brasil) e armazenados em freezer a -18°C para as análises posteriores.

2.3 Análises físico-química de amêndoas de cacau trituradas

O teor de umidade (método 925.09), cinzas (método 923.03), proteínas (método 920.87) e lipídeos (método 920.85) foram determinados segundo a Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 2005). Acidez total titulável e pH foram determinados segundo as normas do Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008). A atividade de água foi determinada através da quantificação da fugacidade de água em equipamento AQUALAB (Decagon Devices, Inc - EUA) Todas as amostras foram analisadas em triplicata e os resultados são apresentados como média seguido de seus respectivos desvios padrão ($x \pm SD$).

2.4 Extração dos compostos fenólicos de amostras

A extração ocorreu de acordo com a metodologia proposta por Counet e Collin (2003), com modificações, onde se utilizou a proporção (1:19), 1g de nibs em 19ml de solução extratora contendo acetona, água e ácido acético (70:29,5:0,5 v/v). As amostras, em solução, foram colocadas sob agitação em vortex (Basic Kasvi - Brasil) por 1 minuto. Em seguida, transferiu-se o sobrenadante

para tubos tipo eppendorfs seguidos de centrifugação a 8000 rpm por 20 min, a 4°C (CT15RE - Japão). O extrato, sobrenadante, foi armazenado a -18°C.

2.5 Quantificação dos compostos fenólicos totais

A determinação de compostos fenólicos totais foi realizada utilizando-se o método de Folin-Ciocalteu (Singleton & Rossi, 1965) com leitura à 750 nm em espectrofotômetro IL-592 (Kasuaki – Japão). As análises foram realizadas em triplicatas e os resultados foram expressos em miligramas de equivalentes em catequina por grama de nibs seco (mgEC/gNS).

2.6 Determinação da Capacidade Antioxidante pelo método Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC)

A determinação da capacidade antioxidante pelo método ORAC foi baseada no protocolo proposto por Huang, Ou, Hampsch-Woodill, Judith e Prior (2002). A determinação de fluorescência foi realizada utilizando-se espectrofotômetro de fluorescência, modelo Synergy HTX (Biotek - EUA). A análise foi realizada em triplicata e os resultados expressos em μmol de equivalente trolox por grama de nibs seco ($\mu\text{molET/gNS}$).

2.7 Quantificação de Cafeína, Teobromina, Teofilina, Catequina, Epicatequina e Procianidina B2 por Cromatografia Líquida de Ultra alta Eficiência – UHPLC

A quantificação dos alcaloides xantínicos (cafeína, teobromina e teofilina) e compostos fenólicos majoritários do cacau ((+) catequina, (-) - epicatequina e procianidina B2), foram realizados em triplicata. Foi utilizado o sistema UHPLC (Thermo Scientific, EUA) equipado com bomba quaternária (LPG-3400 RS), injetor automático (WPS-3000SL Analytical), célula de fluxo (Standard Analytical), coluna Kinetex C18 2,6 μm 100x4,6 mm (Phenomenex, EUA)), acoplado a um detector de fotodiodos (DAD) e software de dados Chromeleon 7.1 SR2. Implementou-se um gradiente composto de fase móvel A (Água ultrapura com 2,5% de ácido acético) e B (Acetonitrila com 2,5%

de ácido acético) a um tempo total de corrida de 18 minutos. O gradiente de eluição iniciou 5% de B até 25% B em 9 minutos, em seguida foi a 95% de B até 12,5 minutos permanecendo constante até 15 minutos, em seguida, retornou a 5% B até 18 minutos para as condições iniciais do sistema. Os cromatogramas foram registrados de 200 a 800 nm e os compostos quantificados a 280 nm, com exceção da procianidina B2 que foi quantificada a 233 nm.

2.8 Medidas espectroscópicas no Infravermelho Próximo (FT – NIR)

Foram realizadas medidas espectrométricas na região do infravermelho próximo (faixa espectral de 10.000 cm^{-1} a 4.000 cm^{-1} , com resolução de 8 cm^{-1}) de amêndoas inteiras e de nibs triturados das 60 amostras. Os espectros de reflectância difusa foram adquiridos em um espectro da região do infravermelho próximo com transformada de Fourier (FT-NIR), modelo Nicolet Antaris II (Thermo Scientific, EUA), acoplado a uma sonda de fibra óptica Thermo Scientific SabIR™. Vinte amêndoas de cada amostra foram analisadas diretamente na probe e cada amêndoa foi lida 4 vezes em diferentes posições. Para os nibs triturados foram utilizados aproximadamente 5 g que foram colocada em uma placa de Petri (85 mm de diâmetro e 10 mm de altura). Estas amostras foram lidas 10 vezes em diferentes posições. Os espectros de cada amostra são as médias de 64 varreduras.

2.9 Análise de componentes principais (PCA – Principal Component Analysis)

A análise exploratória dos dados foi realizada utilizando-se a análise de componentes principais (PCA), testando-se diferentes faixas espectrais para visualizar possíveis correlações entre as variáveis e agrupamentos entre as amostras. Todos os dados foram centrados na média e a validação dos modelos foi realizada utilizando-se o método de validação cruzada total (*full cross validation*). As PCAs foram feitas utilizando-se o programa The Unscrambler® X versão 10.2.

2.10 Análise estatística

Os resultados obtidos pelas análises físicas, físico-químicas e cromatográficas foram analisados através da Análise de Variância (ANOVA) e do teste de Tukey para determinar a diferença entre as médias, a nível de significância de 95%, utilizando o software *STATISTIC* 13.0.

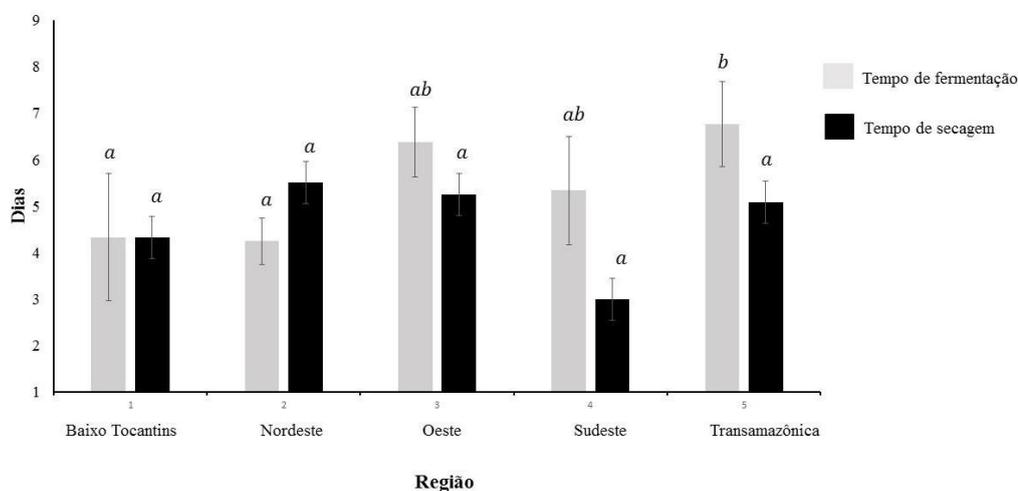
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Avaliação dos parâmetros de qualidade das amêndoas de cacau.

Em relação à qualidade de amêndoas de cacau, alguns aspectos extrínsecos e intrínsecos são levados em consideração para a produção de material comestível, principalmente de chocolate. Para que o produtor garanta uma amêndoa de boa qualidade, é necessário que se cumpra uma série de requisitos que iniciam dentro de suas propriedades tais como a colheita, fermentação e secagem. Por esta razão, foram analisadas 55 amostras de amêndoas para a realização da análise dos parâmetros de qualidade.

A Figura 1 demonstra os tempos médios de fermentação e secagem das amêndoas de cacau informados pelos produtores.

Figura 1. Tempo de fermentação e secagem das amêndoas de cacau provenientes de cinco regiões do Estado do Pará. As informações foram coletadas com os produtores através de questionário. *



O tempo de fermentação das amêndoas das cinco regiões variou entre 4,25 a 6,76 dias, sendo a região Transamazônica a que apresentou maior tempo de processo fermentativo. Esse tempo pode variar de acordo com alguns fatores intrínsecos e extrínsecos, como a variedade do fruto ou ainda a localidade e clima da região. No entanto, recomenda-se que o período de fermentação seja entre 5 e 7 dias, e o prolongamento representa uma possibilidade de desenvolvimento de *off-flavors*, comprometendo a qualidade do produto (Cohen & Jackix, 2005; BRASIL, 2020).

Além disso, Kyi *et al.* (2005) e Efraim *et al.* (2010), documentaram que as diferenças nos tempos de fermentação e secagem afetam o teor de compostos fenólicos das amêndoas de cacau, ocasionando a diminuição significativa em decorrência da ação de enzimas oxidativas, principalmente a polifenoloxidase (PPO).

Em relação ao tempo de secagem variaram entre 3,0 a 5,50 dias e não houve diferença estatística entre elas ($p < 0,05$). A secagem acontece com o intuito de volatilizar compostos indesejáveis, diminuição da umidade das amêndoas e oxidação de compostos fenólicos que conferem adstringência e amargor, escurecimento das amêndoas e cessar o processo fermentativo (Wan Daud, Meor Talib, & Kyi, 2007; Zahouli, 2010). De acordo com Biehl & Ziegler (2003), a secagem ideal

deve garantir a redução de, aproximadamente, 8%, considerado uma faixa ideal para a não proliferação de bolores.

O teste de corte foi realizado nas amêndoas de cacau de acordo com a Legislação nacional (MAPA, 2008) e internacional ISO 2451 (ISO, 2014). Os resultados estão apresentados na Tabela 1.

1 **Tabela 1.** Resultados médios relacionados à parâmetros físicos usados para avaliar a qualidade de amêndoas de cacau. *

Região produtora	Bean count	Massa Média Individual	Marrom	Parcialmente marrom	Violeta	Branca	CC	Defeitos
	(Unidade)	(g/amêndoa)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
Baixo Tocantins	103,78±7,39 ^a	0,97±0,08 ^a	25,17±20,54 ^a	71,28±20,52 ^a	1,22±0,96 ^a	0,28±0,53 ^a	86,50±16,30 ^a	1,76±0,09 ^a
Nordeste	94,83±6,32 ^{ab}	1,07±0,08 ^{ab}	24,75±17,81 ^a	70,67±19,20 ^{ab}	1,00±1,12 ^a	0,92±0,92 ^a	91,42±5,66 ^a	0,97±0,21 ^{ab}
Oeste	86,22±7,41 ^b	1,18±0,11 ^b	61,33±20,92 ^b	36,00±17,70 ^b	1,22±2,12 ^a	0,78±1,07 ^a	96,89±2,83 ^a	0,59±0,10 ^{ab}
Sudeste	93,27±7,31 ^{ab}	1,08±0,10 ^{ab}	56,86±19,92 ^b	41,63±20,75 ^b	0,21±0,59 ^a	0,35±0,34 ^a	91,47±10,26 ^a	0,17±0,03 ^b
Transamazônica	87,57±6,78 ^b	1,17±0,09 ^b	50,63±18,37 ^b	47,60±18,42 ^{ab}	0,66±2,75 ^a	0,55±0,81 ^a	94,18±8,73 ^a	0,32±0,04 ^b

2 Resultados expressos por meio da média ± desvio padrão. Médias com letras iguais em uma mesma coluna não apresentam diferença significativa ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey. *Bean*
 3 *count*: Número de amêndoas em 100 gramas. CC – Amêndoas com compartimentação.

4 *Baseado na IN n° 38 (MAPA, 2008) e ISO 2451 (ISO, 2014).

5 A avaliação de *bean count* e massa média indicam quais regiões possuem amêndoas com
6 tamanhos e pesos diferentes. Na avaliação de *bean count*, é recomendável que o valor seja igual ou
7 inferior a 100 amêndoas em 100 gramas de amostra segundo a Federation of Cocoa Commerce Ltd
8 (FCC, 2012). Quanto ao parâmetro físico das massas médias de amêndoas, Cubero et al. (1993)
9 afirmam que a massa de uma amêndoa deve pesar no mínimo 1,0 grama. A tabela 1 demonstra que
10 em ambos os parâmetros, a região do Baixo Tocantins difere ($p < 0,05$) das regiões Oeste e
11 Transamazônica.

12 No teste de corte, são avaliados atributos que são importantes indicativos relacionados as
13 boas práticas no pré-processamento. De acordo com a tabela 1, quanto a coloração marrom, Baixo
14 Tocantins e Nordeste diferiram ($p < 0,05$) das regiões Oeste, Sudeste e Transamazônica e para
15 parcialmente marrons, Baixo Tocantins e Nordeste diferiram ($p < 0,05$) de Oeste e Sudeste. É
16 possível justificar a menor quantidade de amêndoas marrons devido esta região apresentar um menor
17 tempo de fermentação. Amêndoas de coloração violeta e branca, foram identificadas em baixas
18 quantidade, não apresentando diferença ($p < 0,05$) entre as regiões.

19 A compartimentação das amêndoas indica um bom processo de beneficiamento, que
20 conduzem a ocorrência de importantes reações bioquímicas durante a fermentação e secagem, a
21 exemplo da ruptura das membranas celulares e de substâncias que antes encontravam-se separadas,
22 como das enzimas com os compostos fenólicos (Efraim *et al.*, 2010). De acordo com os dados
23 analisados em relação aos quesitos com e sem compartimentação, ambas não apresentaram diferenças
24 ($p < 0,05$) entre as regiões e exibiram uma boa compartimentação para todas as regiões.

25 A Instrução Normativa nº 38 de 2008 (MAPA, 2018), define lotes em tipos e cada tipo
26 refere-se a um limite de tolerância para quantidade de defeitos. Embora a região do Baixo Tocantins
27 seja diferente ($p < 0,05$) das regiões Sudeste e Transamazônica, todas as regiões apresentaram
28 percentual de defeitos baixo, tipificando todas as regiões em Tipo 1.

30 3.2 Composição físico-química de amêndoas de cacau paraenses.

31 Na Tabela 2 são apresentados os resultados da composição físico-química de nibs de
32 amêndoas de cacau fermentadas e secas das cinco regiões produtoras no estado do Pará.

33 **Tabela 2.** Resultados médios da composição físico-químico de nibs de amêndoas de cacau.

Regiões	Proteínas	Lipídeos	Umidade	Cinzas	pH	Acidez	<i>aW</i>
	(g/100g)	(g/100g)	(g/100g)	(g/100g)		(gAa/100g)	
Baixo Tocantins	15,57 ± 2,07 ^a	31,31 ± 9,09 ^{ab}	6,11 ± 0,62 ^a	3,11 ± 0,36 ^{ab}	5,66 ± 0,51 ^a	0,21 ± 0,08 ^a	0,62 ± 0,06 ^a
Nordeste	18,42 ± 1,45 ^a	35,85 ± 10,99 ^{ab}	5,42 ± 0,37 ^a	2,51 ± 0,11 ^{ab}	4,95 ± 0,06 ^a	0,33 ± 0,09 ^{ab}	0,59 ± 0,08 ^a
Oeste	14,75 ± 1,86 ^a	36,39 ± 7,55 ^{ab}	5,47 ± 0,48 ^a	2,93 ± 0,36 ^{ab}	4,57 ± 0,13 ^a	0,44 ± 0,13 ^b	0,59 ± 0,02 ^a
Sudeste	15,08 ± 1,48 ^a	35,65 ± 7,99 ^a	5,77 ± 0,29 ^a	3,17 ± 0,36 ^a	4,89 ± 0,18 ^a	0,47 ± 0,25 ^b	0,62 ± 0,03 ^a
Transamazônica	14,48 ± 6,13 ^a	26,27 ± 6,44 ^b	6,05 ± 0,60 ^a	2,59 ± 0,47 ^b	4,91 ± 0,22 ^a	0,44 ± 0,13 ^b	0,63 ± 0,04 ^a

34 Resultados expressos por meio da média ± desvio padrão. Médias com letras em comum, em uma mesma coluna, não apresentam diferença significativa ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.35 g H₂O/gNS – grama de água por grama de nibs seco. g Aa/100g – grama de ácido acético por 100 gramas de nibs seco. *aW*: Atividade de água.

De acordo com D'Souza *et al.* (2017), a concentração de proteínas presentes nas amêndoas tende a reduzir durante a fermentação pois há hidrólise de proteínas e complexação destas com compostos fenólicos, causando assim degradação gradual de proteínas em oligopeptídeos. Ao verificar o teor proteico, observa-se que não há diferença ($p < 0,05$) entre as regiões e está compreendido na faixa de valores esperada, de 11% a 16% (Beckett, 2009).

O teor de lipídios em amêndoas de cacau é imprescindível para a obtenção de manteiga de cacau, uma das principais matérias-primas para a indústria de chocolates. As regiões Sudeste e Transamazônica diferenciam-se ($p < 0,05$) quanto ao teor lipídico, entretanto, os valores médios encontrados apresentaram uma variação entre 26,27 a 36,39%, sendo estes, resultados próximos da faixa reportada por Pimentel (2016), que menciona o teor médio de lipídios em amêndoas de cacau igual a 31% e faixa de 28,5 a 33,7% para a amêndoas clonais do estado da Bahia.

Para fins de comercialização, a umidade deve ser obrigatoriamente determinada e apresentar o percentual máximo de 8% de umidade (MAPA, 2008). De acordo com dados apresentados na tabela 2, todas as regiões apresentam valores de umidade abaixo do limite máximo permitido pela legislação, indicando que o processo de secagem ao sol foi eficiente. Segundo Brachène (2015), o tempo de secagem deve variar de 4 a 5 dias, para garantir que fique dentro do limite aceitável. Barrientos, Oquendo, Garzón e Álvarez (2019) encontraram em Antioquia na Colômbia, umidade de 7% em processo de secagem semelhante.

A análise de cinzas em alimentos objetiva determinar o teor de minerais presentes na amostra. De acordo com Efraim (2010), as amêndoas com pouca fermentação apresentam maiores teores de cinzas em sua composição. O teor de cinzas variou de 2,51 a 3,17g/100g e estava dentro da faixa reportada por Hashimoto (2015) a qual variava de 2,6-4,2%. É possível afirmar que a presença elevada de cinzas indica uma grande quantidade de compostos inorgânicos presentes nas amêndoas.

Quanto ao pH e a acidez das amêndoas, devido às reações ocorridas durante a fermentação e secagem, tendem a sofrer alterações. Neste estudo o pH entre as regiões variou de 4,57 a 5,66. De acordo com Afoakwa, Paterson, Fowler e Ryan (2008) durante a secagem das amêndoas há uma elevação do pH, permanecendo entre 5,0 e 6,0 devido a volatilização dos ácidos presentes. A acidez total das amêndoas de cacau é um atributo de qualidade importante, pois indica a concentração de ácidos livres totais que podem interferir nas etapas de processamento e sabor de produtos finais. Quanto a acidez obteve-se uma faixa de 0,21 a 0,44.

Ao longo da fermentação as amêndoas retêm uma quantidade significativa de água devido ao aumento da temperatura e absorção de líquidos pelas proteínas vacuolares, além disso a intensa atividade das bactérias do ácido acético nos primeiros dias do processo fermentativo promove uma superoxidação do ácido acético com liberação de gás carbônico e água (Schwan & Wheals, 2004) Nesse sentido, análise de umidade e atividade de água apresenta-se como um instrumento fundamental no controle de qualidade. A *aW* presente nos nibs de amêndoas de cacau não apresentou diferença ($p < 0,05$) entre as regiões, apresentando uma variação pequena de 0,59 a 0,63, que pode ser explicada devido as amêndoas após a fermentação terem passado pelo processo de secagem, reduzindo a atividade de água.

3.3 Quantificação de capacidade antioxidante e dos principais compostos

bioativos

A Tabela 3 apresenta os resultados médios de compostos bioativos presentes nos nibs de amêndoas de cacau fermentadas e secas de regiões produtoras.

Tabela 3. Avaliação da capacidade antioxidante e quantificação dos compostos bioativos encontrados em nibs de amêndoas de cacau de regiões produtoras.

Regiões	Compostos Fenólicos	Capacidade Antioxidante ORAC	Epicatequina	Procianidina B2	Cafeína	Teofilina	Teobromina
	(mgEC/gNS)	μmolET/ gNS	mg/gNS	mg/gNS	mg/gNS	mg/ gNS	mg/gNS
Baixo Tocantins	21,48 ± 13,28 ^a	730,05 ± 288,36 ^a	6,63 ± 4,22 ^a	2,28 ± 1,88 ^a	1,83 ± 0,37 ^a	0,16 ± 0,09 ^{ab}	20,88 ± 3,83 ^a
Nordeste	16,17 ± 3,24 ^a	335,18 ± 113,58 ^b	2,00 ± 1,09 ^b	0,73 ± 0,27 ^b	1,96 ± 0,21 ^a	0,15 ± 0,06 ^{ab}	19,01 ± 1,75 ^{ab}
Oeste	14,73 ± 5,96 ^a	333,97 ± 88,61 ^b	1,64 ± 0,22 ^b	0,65 ± 0,13 ^b	1,98 ± 0,24 ^a	0,18 ± 0,08 ^{ab}	17,02 ± 1,92 ^{ab}
Sudeste	15,38 ± 5,54 ^a	358,52 ± 107,52 ^b	2,73 ± 1,46 ^b	0,98 ± 0,53 ^b	2,20 ± 0,54 ^a	0,18 ± 0,12 ^a	18,35 ± 2,15 ^{ab}
Transamazônica	15,83 ± 6,26 ^a	322,67 ± 145,15 ^b	1,84 ± 1,25 ^b	0,61 ± 0,41 ^b	1,96 ± 0,52 ^a	0,10 ± 0,04 ^b	15,99 ± 2,96 ^b

Resultados expressos por meio da média ± desvio padrão. Polifenóis totais: mgEC/gNS - miligramas de equivalente catequina por grama de nibs seco. Valor ORAC: μmolET/gNS - μmol de equivalente trolox por grama de nibs seco. Epicatequina, Procianidina B2, Cafeína, Teobromina e Teofilina: mg/gNS – miligrama por grama de nibs seco. Valores de uma mesma coluna com a mesma letra não diferem significativamente entre si (Teste de Tukey a 5% de significância).

Com relação aos compostos fenólicos totais, não foi observado diferença significativa entre todas as amostras analisadas e o teor destes compostos variou entre 14,73 mgEC/gNS a 21,48 mgEC/gNS, enquanto Chagas Junior *et al.* (2020) encontraram um valor de 36,95 mgECE/g em amêndoas de cacau fermentado e seco em Tomé-Açú no Nordeste do Pará.

Tomas-Barberán *et al.* (2007) ao documentarem os compostos fenólicos presentes no cacau de diferentes variedades e localidades do continente Americano, observaram que o cacau proveniente do Equador apresentou o maior teor de compostos fenólicos que o cacau da República Dominicana, dessa forma entende-se que diversos fatores influenciam a presença desses metabólitos secundários, como a variedade do fruto, o clima, idade do cacauero,

composição química do solo, as práticas do produtor rural e fatores de processamento que ocorrem na fermentação e secagem.

Além disso, durante a fermentação acontece a oxidação desses compostos em decorrência da atividade de algumas enzimas, principalmente a polifenoloxidase, que atuam na degradação dos compostos fenólicos ao longo do processo fermentativo e podem apresentar diferentes comportamentos e estabilidades durante a fermentação, influenciando na quantidade final dos compostos presentes no meio (Do Carmo Brito *et al.*, 2017).

Do ponto de vista sensorial, essa redução é interessante, pois a presença excessiva desses compostos causa amargor e adstringência aos diversos subprodutos alimentícios obtidos das amêndoas, como o chocolate em barra e cacau em pó. Mesmo assim, o cacau ainda tem mais capacidade antioxidantes que diversos produtos reconhecidos por estas propriedades, como chás e vinho tinto (Lee, Kim, Lee, & Lee, 2003; Lima, Almeida, Nout, & Zwieterin, 2011).

A alta capacidade antioxidante presente nos extratos de cacau está associada ao seu teor de compostos fenólicos e a aparição de outros compostos solúveis em metanol como as metilxantinas. De acordo com a Tabela 3, a faixa reportada para a capacidade antioxidante variou de 322,67 a 730,05 $\mu\text{molET/gNS}$ e apenas Baixo Tocantins diferenciou-se ($p < 0,05$) em relação às outras regiões. Carrillo *et al.*, (2014) em seus estudos, encontraram valores semelhantes ($387,29 \pm 10,84$ a $639,51 \pm 73,84$ $\mu\text{molET/gNS}$) pelo método ORAC. As regiões apresentaram uma boa capacidade antioxidante, o que faz com que seja interessante a utilização destas amêndoas para produção de chocolates funcionais, atentando para a região de Baixo Tocantins, que possui valores superiores às demais.

Epicatequina e procianidina B2 também tem participação na qualidade do produto e foram relatados como os principais flavan-3-ol em amêndoas de cacau (Oracz, Nebesny, &

Żyżelewicz, 2015; Quiroz-Reyes & Fogliano, 2018). Em ambas, Baixo Tocantins diferiu ($p < 0,05$) das diversas regiões, possuindo maior concentração destes compostos nas amêndoas (6,63 para Epicatequina e 2,28 para Procianidina B2). Embora a região do Baixo Tocantins apresente maiores concentrações de epicatequina e procianidina, todas as regiões estavam dentro das faixas estudadas. Com relação ao teor de Catequinas, os valores estavam abaixo do limite de quantificação da metodologia utilizada.

As metilxantinas representam mais de 2% de nibs seco, o teor de cafeína não houve diferença ($p < 0,05$) entre as regiões, a teofilina apresentou diferença entre as regiões Sudeste e Transamazônica ($p < 0,05$) e os valores para teobromina foram estatisticamente diferentes entre as regiões do Baixo Tocantins e Transamazônica ($p < 0,05$). Estas diferenças podem ser explicadas devido a ocorrência de um decréscimo gradual de alcaloides ao longo da fermentação em razão da complexação por peptídeos (Brunetto *et al.*, 2020). A presença das metilxantinas é interessante pois elas estão associadas com diversas propriedades farmacológicas, como redução de estresse e efeitos benéficos no tratamento e prevenção de doenças cardiovasculares, distúrbios metabólicos e câncer (Andujar, Recio, Giner, & Ríos, 2012).

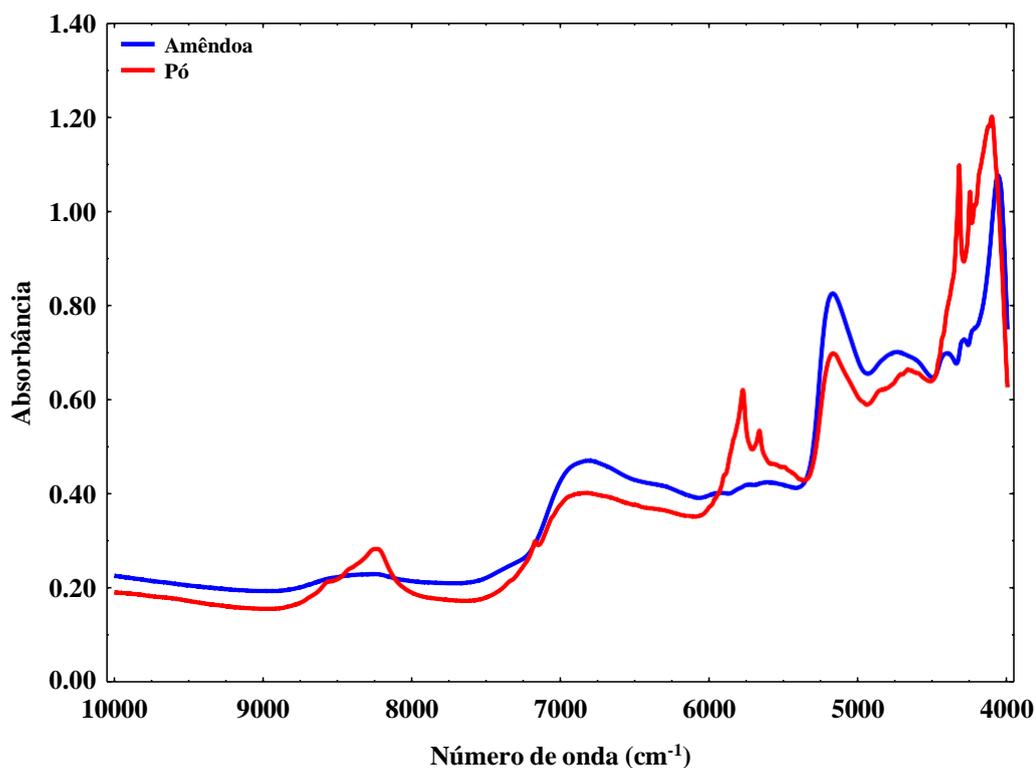
3.4 Espectroscopia do Infravermelho Próximo (NIR)

3.4.1 Obtenção dos espectros NIR das amostras de amêndoas de cacau

Os espectros brutos de NIR (Figura 2) foram obtidos por reflectância difusa de 60 amostras de amêndoas inteiras e nibs de amêndoas de cacau em pó, de cinco regiões no estado do Pará registrados na faixa de $10000-4000 \text{ cm}^{-1}$, onde é possível observar similaridades em relação a amêndoas de cacau e pó de nibs de amêndoas de cacau. Entretanto, o fator espalhamento de luz pode dificultar a análise dos dados, provocado pelas possíveis variações, devido à interação complexa entre os componentes da amostra, dispersão de luz, distorções espectrais, como falhas da varredura, ruídos no detector e variações nos espectros (Cruz-Tirado,

Pierna, Rogez, Barbin, & Baeten, 2020).

Figura 2. Dados brutos do NIR de amêndoas inteiras e nibs de amêndoas de cacau em pó, em triplicata de 60 amostras.



Observa-se que ambos os espectros revelaram picos principais centrados na faixa de $9000\text{-}5000\text{ cm}^{-1}$ que podem fornecer informações úteis para a classificação. Neste alcance há vários grupos funcionais, como fitoquímicos, proteínas, alcalóides, gorduras, compostos fenólicos, voláteis e ácido não voláteis presente em amêndoas de cacau, os quais fornecem a principal base para as classificações de qualidade do cacau e quantificações (Teye, Huang, Lei, & Dai, 2014).

É possível identificar algumas bandas de absorção (Figura 2), características desta matéria prima, como das ligações de O-H onde as moléculas de água estão presentes nos intervalos ($9.000\text{-}8.000\text{ cm}^{-1}$; $7.000\text{-}6.000\text{ cm}^{-1}$; $6.000\text{-}5.000\text{ cm}^{-1}$), além de bandas de estiramento de ligações C-H em 6.000 cm^{-1} , a qual geralmente atribui-se a lipídios, óleos e

grupos aromáticos (Miller, 2001) e em $5.000-4.000\text{ cm}^{-1}$, associados comumente a ligações C-H provenientes de natureza fenólica (Li & Qu, 2010).

Contudo, em razão da diversidade de amostras e da grande quantidade de dados espectrais gerados pela espectroscopia NIR, em ambas as amostras (amêndoas inteiras e nibs de amêndoas de cacau em pó), o uso de métodos quimiométricos foi necessário para ajudar na elucidação dos resultados.

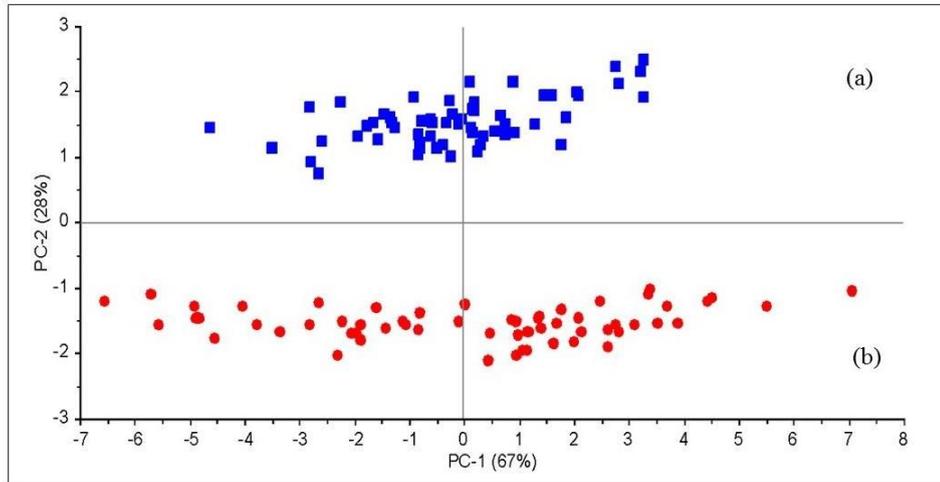
3.4.2 Quimiometria

3.4.2.1 Análise de Componentes Principais (PCA) - NIR

A Análise de Componentes Principais (PCA, *Principal Component Analysis*) foi aplicada aos espectros de NIR e análises físico-químicas, para reduzir a dimensionalidade dos dados sem perder informações importantes, com o propósito de identificar a tendência de *clusters* para cada região, quais as faixas espectrais que impactam nestes agrupamentos e a presença de *outliers*.

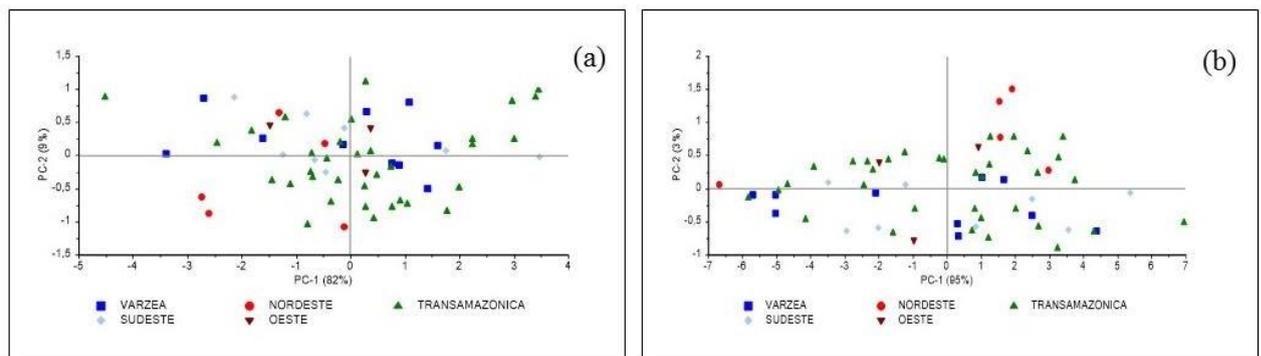
A PCA foi aplicada inicialmente para discriminar amêndoas de cacau e nibs de amêndoas de cacau em pó. A Figura 3 mostra o gráfico de escores (PC1xPC2), utilizando os espectros brutos como dados de entrada e pôde-se visualizar a separação entre as classes, compreendendo a faixa espectral de $10.000 - 4.000\text{ cm}^{-1}$.

Figura 3. Gráfico dos escores PC1 *versus* PC2 das amêndoas de cacau (a) e nibs de amêndoas de cacau em pó, (b) respectivamente.



Na Figura 4, os gráficos de escores plotados no plano das componentes principais (PCs) são representados por diferentes cores, sendo cada cor representada por uma região e cada ponto no gráfico representa a amostra de um produtor de amêndoas de cacau.

Figura 4 - Gráfico de escores (a) PC1 versus PC2 em amêndoas de cacau e nibs de amêndoas de cacau em pó (b).



A Figura 4, revela a contribuição relativa de cada variável em cada PC. Na Figura 4 (a) e (b), ambas analisadas na mesma faixa espectral, nota-se que na Figura 4 (a), o PC1 e PC2 explicaram 91% da variância dos dados, enquanto na Figura 4 (b), o PC1 e PC2 explicaram 98% da variância dos dados. Na faixa espectral apresentada na Figura 4, em ambas as

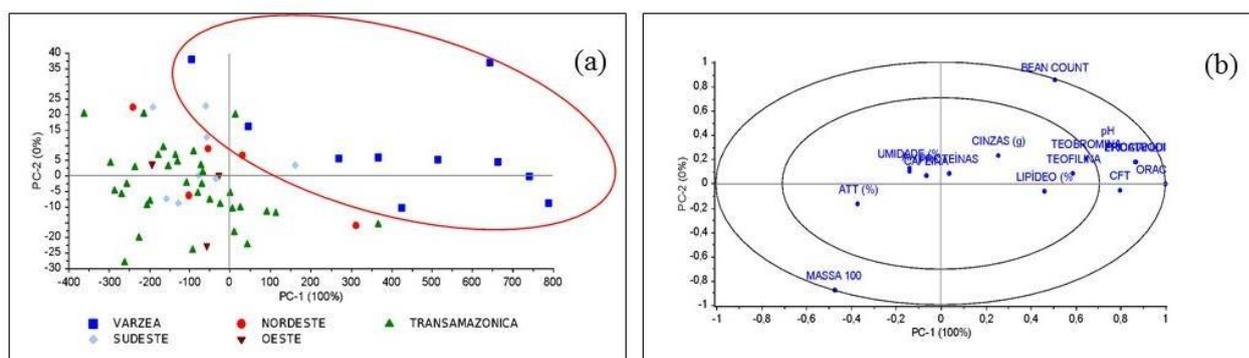
categorias, não foi formado nenhum *cluster*, portanto não sendo possível distinguir as proveniências das amostras.

Devido a quantidade de amostras e dados complexos gerados pela espectroscopia NIR, foram feitos cortes nos espectros ($8.000 - 7.000 \text{ cm}^{-1}$; $7.000 - 6.000 \text{ cm}^{-1}$; $6.000 - 5.000 \text{ cm}^{-1}$ e $4.000 - 4.000 \text{ cm}^{-1}$) afim de investigar a formação de *clusters*, porém, não foi possível visualizar a separação de amêndoas inteiras e nibs de amêndoas de cacau em pó nas faixas investigadas. Uma hipótese para a não formação de *cluster*, seja devido, no estado do Pará, serem distribuídos sementes de cacau híbridos e não haver padronização no beneficiamento das amêndoas por parte dos produtores, é comum cada produtor seguir práticas próprias, além da variedade do *terroir* paraense.

3.4.2.2 Análise de Componentes Principais (PCA) – Análises físico-químicas

Nas análises físico-químicas, a PCA foi aplicada onde a Figura 5(a) representa o gráfico de escores e a Figura 5(b) mostra o gráfico de *loadings*, o qual revela a contribuição relativa de cada variável em cada PC, a partir de espectros NIR pra a região do Baixo Tocantins, a qual demonstrou a formação de grupo a partir de análises físico-químicas. Foi possível observar eu o PC1 explicou 100% da variância dos dados, enquanto o PC2 não forneceu informações adicionais interessantes para a interpretação dos resultados.

Figura 5. Gráfico de escores (a) PC1 versus PC2 em amêndoas de cacau e Gráfico de *loadings* (b) de amêndoas de cacau.



No gráfico de escores, observa-se a formação de grupo para a região do Baixo Tocantins que tende a se distanciar para o lado positivo de PC1, pois esta região apresentou médias em relação as análises físico-químicas como os compostos fenólicos, capacidade antioxidante, epicatequina, procianidina B2 e teobromina, consideradas superiores as demais regiões do estudo. Os parâmetros de umidade, proteínas e cafeína não tiveram expressiva contribuição para a diferenciação entre as amostras devido a sua proximidade com o eixo zero.

CONCLUSÃO

A avaliação física das amêndoas de cacau pela prova de corte permitiu concluir que, as amostras das cinco regiões estudadas apresentam padrão comercial satisfatório. Porém, evidenciou-se a falta de padronização na etapa de beneficiamento das amêndoas onde foi gerado um percentual significativo de amêndoas parcialmente marrons. Pode-se dizer que os resultados refletem principalmente a vulnerabilidade da qualidade das amêndoas de cacau produzidas em relação às variações de demanda, ocasionando redução nos tempos de fermentação e secagem.

A caracterização físico-química das amêndoas de cacau, permitiu observar diferenças importantes em relação a lipídeos, cinzas, acidez, capacidade antioxidante, epicatequina, procianidina B2, teofilina e teobromina entre as amostras provenientes de diferentes regiões do estado. As diferenças podem contribuir diretamente com a qualidade e desempenho tecnológico dos produtos derivados.

As PCA permitiram a formação de *clusters* para diferenciar amêndoas de cacau e pó de nibs de amêndoas de cacau, bem como a região do Baixo Tocantins nas amêndoas de cacau, a partir dos resultados de análises físico-químicas.

De forma geral, a avaliação da qualidade das amêndoas do estado do Pará, que se apresenta como o maior produtor nacional, forneceu informações importantes que, atualmente não estão disponíveis na literatura, o qual, servirá de insumo para trabalhar a valorização das amêndoas do estado, a fim de estabelecer autoridade no mercado nacional e internacional.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Afoakwa, E.O., Paterson, A., Fowler, M., & Ryan, A. (2008). Flavor formation and character in cocoa and chocolate: A critical review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 48,1-18.
- Andujar, I., Recio, M. C., Giner, R. M., & Ríos, J. L. (2012). Cocoa polyphenols and their potential benefits for human health. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, 23.
- AOAC - Association of Official Analytical Chemists. (2008). **Official Methods of analysis of AOAC International**, 18.
- Barrientos, L. D. P., Oquendo, J. D. T., Garzón, M. A. G., & Álvarez, O. L. M. (2019). Effect of the solar drying process on the sensory and chemical quality of cocoa (*Theobroma cacao* L.) cultivated in Antioquia, Colombia. **Food Research International**, 115, 259-267.
- Beckett, S. T. (1994). Industrial chocolate manufacture and use. **Chapman and Hall**, 408.
- Biehl, B., & Ziegleder, G. (2003). COCOA Chemistry of processing. **Encyclopaedia of Food Sciences and Nutrition**, 2 (3), 1436–1448.
- Brachène, Y. C. (2015). **Assessment of qualitative parameters including polyphenol oxidase activity for different drying methods in Amazonian cocoa processing, targeting optimization and standardization**. Dissertação de Mestrado. Université Catholique de Louvain. Ottignies-Louvain-la-Neuve, Bélgica.
- Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. (2020). Cartilha de boas práticas na lavoura cacaueteira no estado do Pará / Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Secretaria de Inovação, Desenvolvimento Rural e Irrigação, Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira. – Belém: Mapa/CEPLAC.
- Brunetto, M. R., Galignani, M., Orozco, W., Clavijo, S., Delgado, Y., Ayala, C., Zambrano, A. (2020). The effect of fermentation and roasting on free amino acids profile in Criollo cocoa (*Theobroma cacao* L.) grown in Venezuela. **Brazilian Journal of Food Technology**, 23.
- Chagas Junior, G. C. A., Ferreira, N. R., Gloria, M. B. A., Martins, L. H. Da S., & Lopes, A. S. (2020). Chemical implications and time reduction of on-farm cocoa fermentation by *Saccharomyces cerevisiae* and *Pichia kudriavzevii*. **Food Chemistry**, 338, 127834.
- Cohen, K. O., & Jackix, M. N. H. (2005). Estudo do liquor de cupuaçu. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 25(1), 182-190.
- Counet, C., & Collin, S. (2003). Effect of the number of flavanol units on the antioxidant activity of procyanidin fractions isolated from chocolate. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, 51, 6816–6822.

Cruz-Tirado, J. P., Pierna, J. A. F., Rogez, H., Barbin, D. F., & Baeten, V. (2020). Authentication of cocoa (*Theobroma cacao*) bean hybrids by NIR-Hyperspectral imaging and chemometrics. **Food Control**, 118.

Cubero, E. M., Enriquez, G. A., Hernandez, A., & RODRIGUEZ, T. (1993). Efecto del genótipo sobre el proceso de fermentación de cacao. **Proceedings of 11th International Cocoa Research Conference**, 729-740.

D'Souza, R. N., Grimbs, S., Behrends, B., Bernaert, H., Ullrich, M. S., & Kuhnert, N. (2017). Origin-based polyphenolic fingerprinting of *Theobroma cacao* in unfermented and fermented beans. **Food Research International**, 99, 550–559.

Do Carmo Brito, B. De N., Campos Chisté, R., Da Silva Pena, R., Abreu Gloria, M. B., & Santos Lopes, A. (2017). Bioactive amines and phenolic compounds in cocoa beans are affected by fermentation. **Food Chemistry**, 228, 484–490.

Efraim, P., Pezoa-García, N. H., Jardim, D. C. P., Nishikawa, A., Haddad, R., & Eberlin, M. N. (2010). Influência da fermentação e secagem de amêndoas de cacau no teor de compostos fenólicos e na aceitação sensorial. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 30, 142-150.

Efraim, P., Alves, A. B., & Jardim, D. C. P. (2011). Polyphenols in cocoa and derivatives: factors of variation and health effects. **Brazilian Journal of Food Technology**, 14, 181-201.

FCC - Federation of Cocoa Commerce Ltd. Quality Rules. 2012. 30p. Recuperado em 12 fevereiro, 2020, de, <https://www.icco.org/faq/59-fermentation-a-drying/108-how-is-the-quality-of-cocoa-checked-by-hand-by-machine.html>

Hashimoto, J. C. **Caracterização de amêndoas de cacau produzidas em diferentes estados brasileiros e aplicação de espectroscopia no infravermelho próximo e quimiometria como alternativa para o controle de qualidade**. Tese de Doutorado, Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, 2015.

Hashimoto, J. C., Lima, J. C., Celeghini, R. M. S., Nogueira, A. B., Efraim, P., Poppi, R. J., & Pallone, J. A. L. (2018). Quality control of commercial cocoa beans (*Theobroma cacao* L.) by near-infrared spectroscopy. **Food analytical methods**, 11 (5), 1510-1517.

Hu, S. J., Kim, B. Y., & Baik, M. Y. (2016). Physicochemical properties and antioxidant capacity of raw, roasted and puffed cacao beans. **Journal of Food Chemistry**, 194, 1089- 1094.

Huang, D., Ou, B., Hampsch-Woodill, M. F., Judith, A., & Prior, R. L. (2002). High-throughput assay of oxygen radical absorbance capacity (ORAC) using a multichannel liquid handling system coupled with a microplate fluorescence reader in 96-well format. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 50, 4437-4444.

IAL (Instituto Adolfo Lutz). Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz: Métodos químicos e físicos para análise de alimentos. 3. ed., v.1. IMESP, São Paulo, 2008.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. (2021). Recuperado em 13 de abril de 2021, de: <https://www.ibge.gov.br/busca.html?searchword=CACAU&searchphrase=all&I>.

ISO. Cocoa beans - Specification (ISO 2451). Geneva: International Organization for Standardization, 2014.

Kyi, T. M., Daud, W. R. W., Mohammad, A. B., Wahid Samsudin, M., Kadhum, A. A. H., Talib, M. Z. M. (2005). The kinetics of polyphenol degradation during the drying of Malaysian cocoa beans. **International Journal of Food Science & Technology**, 40 (3), 323-331.

Lee, K. W., Kim, Y. J., Lee, H. J., & Lee, C. Y. (2003). Cocoa has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 51(25), 7292–7295.

Li, W., & Qu, H. (2010). Rapid quantification of phenolic acids in Radix Salvia Miltorrhiza extract solutions by FT-NIR spectroscopy in transreflective mode. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, 52(4), 425e431.

Lima, L. J. R., Almeida, M. H., Nout, M. J. R., & Zwietering, M. H. (2011). Theobroma cacao L., “The food of the Gods”: Quality determinants of commercial cocoa beans, with particular reference to the impact of fermentation. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 51(8), 731–761.

MAPA, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (2008). Regulamento Técnico da Amêndoa de Cacau. Instrução Normativa nº 38.

Miller, C. E. (2001). **Chemical principles of near infrared technology**. In P. C. Williams, & K. H. Norris (Eds.), *Near infrared technology in the agricultural and food industries* (2nd ed.). (pp. 19e39). St. Paul, MN: American Association of Cereal Chemist.

Mororó, R. C. (2012). **Aproveitamento de derivados, subprodutos e resíduos de cacau**. Ciência, tecnologia e manejo do cacau, 2 ed., Ceplac, Ilhéus, 597-653.

Oracz, J., Zyzelewicz, D., & Nebesny, E. (2015). The content of polyphenolic compounds in cocoa beans (*Theobroma cacao* L.), depending on variety, growing region, and processing operations: A review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 55(9), 1176-1192.

Pimentel, A. A. **Avaliação Da Capacidade Antioxidante E Quantificação De Constituintes Fenólicos De Nibs E Chocolate De Variedades Clonais De Cacau**. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual Do Sudoeste Da Bahia. Bahia, 2016.

Quiroz-Reyes, C. N., & Fogliano, V. (2018). Design cocoa processing towards healthy cocoa products: The role of phenolics and melanoidins. **Journal of Functional Foods**, 45, 480–490.

Rusconi, M., & Conti, A. (2010). A Review Theobroma cacao L., the Food of the Gods: A scientific approach beyond myths and claims. **Pharmacological Research**, 5–13.

Schwan, R. F., & Wheals, A. E. (2004). The microbiology of cocoa fermentation and its role in chocolate quality. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 44(4).

Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**.

Teye, E., Anyidoho, E., Agbemafle, R., Sam-Amoah, L. K., & Elliott, C. (2020). Cocoa bean and cocoa bean products quality evaluation by NIR spectroscopy and chemometrics: A review. **Infrared Physics & Technology**, 104, 103-127.

Teye, E., Huang, X., Dai, H., & Chen, Q. (2013). Rapid differentiation of Ghana cocoa beans by FT-NIR spectroscopy coupled with multivariate classification. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, 114, 183-189.

Teye, E., Huang, X., Lei, W., & Dai, H. (2014). Feasibility study on the use of Fourier transform near-infrared spectroscopy together with chemometrics to discriminate and quantify adulteration in cocoa beans. **Food Research International**, 55, 288-293.

Tomas-Barberán, F. A., Cienfuegos-Jovellanos, E., Marín, A., Muguerza, B., Gil-Izquierdo, A., Cerdá, B., Zafrilla, P., Morillas, J., Mulero, J., Ibarra, A., Pasamar, M. A., Ramón, D., & Espín, J. C. (2007). A new process to develop a cocoa powder with higher flavonoid monomer content and enhanced bioavailability in healthy humans. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 55, 3926- 3935.

Thompson, S. S., Miller, K. B., & Lopez, A. S. (2001). Cocoa and coffee. **Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers**.

Apêndice 1. Questionário das amostras de amêndoas de cacau – 2019.

IDENTIFICAÇÃO DA AMOSTRA:

Código:

GERAL

- Nome completo do produtor:
- Localidade/Cidade:
- Contatos:
- Pertence a uma cooperativa ou associação? Qual?

PRÁTICAS AGRÍCOLAS

- Usa fertilizante? () Sim () Não
- Usa pesticida? () Sim () Não

COLHEITA

- Data: ____/____/____
- Idade dos cacauzeiros:
- Variedade predominante: () Comum () Híbrido () Clonal () Misto
- Quem forneceu as sementes de cacau? () CEPLAC () Mudanças próprias () Empresa

INFORMAÇÕES SOBRE QUANDO E COMO FORAM PREPARADAS AS AMOSTRAS DE CACAU

- Fermentadas? () Sim () Não
- Quantos dias de fermentação?
- Tempo entre a colheita e quebra dos frutos (em dias):
- Fermentação realizada em: () caixas de madeira/ “cochos” () Pilhas () Em sacos () Outros. Se outro, especifique.
- Duração da fermentação (dias):
- Em quanto tempo houve o primeiro revolvimento?
- Número de revolvimentos durante a fermentação?

INFORMAÇÕES SOBRE A SECAGEM

- Secagem: () Barcaça () Lona plástica () Secador () Outros
- Duração do processo de secagem (dias):

Apêndice 2. Ficha de avaliação da Prova de Corte

TABELA DE AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DO CACAU - (TESTE DE CORTE)/ SAFRA 2019.				
Nome do Produtor:			Propriedade:	
Município:			Lote:	
Data do Recebimento:			Código:	
Data da Análise:				
Aroma (Lote): <input type="checkbox"/> Natural <input type="checkbox"/> Fumaça <input type="checkbox"/> Sobre-fermentadas <input type="checkbox"/> Outros odores				
Massa de Nibs de 300 amêndoas:				
Quantas amêndoas em 100g:			/ Massa de 100 amêndoas:	
Umidade:				
Coloração	Corte 1	Corte 2	Corte 3	Média %
Marrom				
Parcialmente marrom				
Violeta				
Branca				
Ardósia				
Defeitos				
Mofo				
Infestado				
Germinando				
Achatada				
Quebradiça				
Compartimentação				
Com				
Sem				
Resultado: Marrom = 65% (Mín) Violeta = 15% (Máx); Defeitos = 1% (Máx)				
Lote Nº:			<input type="checkbox"/> Aceito <input type="checkbox"/> Não Aceito	
Responsável:				

Fonte: adaptado de Ferreira (2017).