

PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM ALIMENTOS E NUTRIÇÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO

PATRICIA SILVA FERNANDES

***NIBS DE CACAU: CARACTERÍSTICAS NUTRICIONAIS E SENSORIAIS,
COMPOSTOS BIOATIVOS E DESENVOLVIMENTO DE PRODUTO.***

RIO DE JANEIRO

2019

PATRICIA SILVA FERNANDES

***NIBS DE CACAU: CARACTERÍSTICAS NUTRICIONAIS E SENSORIAIS,
COMPOSTOS BIOATIVOS E DESENVOLVIMENTO DE PRODUTO***

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Alimentos e Nutrição, da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Alimentos e Nutrição.

Orientadora: Profa. Dra. Ellen Mayra Menezes Ayres

RIO DE JANEIRO

2019

S363 Silva Fernandes, Patricia
NIBS DE CACAU: CARACTERÍSTICAS NUTRICIONAIS E
SENSORIAIS, COMPOSTOS BIOATIVOS E DESENVOLVIMENTO
DE PRODUTO. / Patricia Silva Fernandes. -- Rio de
Janeiro, 2019.
82f

Orientador: Ellen Mayra Menezes Ayres .
Tese (Doutorado) - Universidade Federal do
Estado do Rio de Janeiro, Programa de Pós-Graduação
em Alimentos e Nutrição, 2019.

1. Determinação os teores de compostos fenólicos e
as atividades antioxidantes de nibs de diferentes
variedades clonais de cacauero e Desenvolvimento
do nibs de cacau caramelizado com diferentes
concentrações de açúcar e aroma de baunilha.. 2.
Palavras chaves: cacau, funcionais, atividade
antioxidante, nibs caramelizados, baunilha. I.
Mayra Menezes Ayres , Ellen , orient. II. Título.

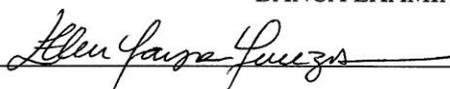
PATRICIA SILVA FERNANDES

NIBS DE CACAU: CARACTERISTICAS NUTRICIONAIS E SENSORIAIS,
COMPOSTOS BIOATIVOS E DESENVOLVIMENTO DE PRODUTO.

Dissertação de Mestrado
aplicado apresentada ao Programa
de Pós Graduação de Alimentação e
Nutrição da Universidade Federal
do Estado do Rio de Janeiro.

Aprovada em 14/08/2019

BANCA EXAMINADORA



Dr^a Ellen Mayra Menezes Ayres

Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro



Dr^a Andrea Gomes da Silva

DTRA/ Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia



Dr. Rafael Silva Cadena

PPGAN/ Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro

À DEUS POR SEU INFINITO AMOR,

As minhas filhas, Bia e Duda, com todo amor da mamãe,

Ao meu amado Marcos Fernandes.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo seu amor e misericórdia, por me dado o sustento necessário para eu continuar estudando e não desistir de meus sonhos.

Minha mãe Sandra Regina, pelo amor, apoio e cuidados de mãe e avó. Meu pai Joacy, com quem aprendi a importância dos estudo e conhecimento. À meus irmãos (Leandro, Igor e Victor) pelas palavras de incentivo e energia positiva. À minha vizinha amada pelas orações.

Ao meu esposo Marcos, por ser a pessoa mais incrível da minha vida, meu incentivador, financiador, amigo, companheiro e pai sensacional. Meu amor e gratidão eterna por compartilhar os momentos mais importantes comigo, sendo meu apoio incondicional. Pelos diversos momentos em que eu estive ausente e que ele precisou ser pai e mãe de nossas meninas, e fez com amor e dedicação do pai maravilhoso que é.

As minhas menininhas Maria Eduarda e Ana Beatriz, pelos muitos momentos que precisei me ausentar, pelas brincadeiras perdidas, pela falta de tempo em colocar elas para dormir, pelas festinhas que deixei de ir com elas e tantas outros momentos que são importantes para quem é mãe vivenciar com o filho. Os sorrisos delas me iluminavam nos momentos difíceis, os coraçõeszinhos feitos por elas em meu material de estudo me motivavam, os abraços e beijos me davam forças. Meu amor por elas me move. Que eu possa ser um exemplo de resiliência e superação pra elas.

Ao professor Armando Ubirajara Oliveira Sabaa Srur (*in memoriam*), que há muitos anos atrás me aceitou prontamente para ser sua aluna de iniciação científica. Nunca esquecerei da bondade de sua mão estendida a mim e a quem precisasse dele, e sua paixão pela ciência até nos últimos dias de vida. Assim disse a Elaine, a quem não posso me esquecer de mencionar, por ser pessoa maravilhosa que sempre ajudou quem precisasse (ela aprendeu com o mestre).

A minha orientadora Ellen, a quem sou imensamente grata, por ter me aceito como orientanda, pelos seus ensinamentos, apoio, palavras de sabedoria e paciência. Uma mulher, mãe, esposa e profissional que me inspira e me dá forças para não desistir nessas duplas e

triplas jornadas de sermos profissionais e mãe. E mesmo diante de inúmeras dificuldades que vivi ao longo desta jornada, ela sempre me incentivou e me ajudou a chegar aqui.

Aos meus amigos de laboratório, das disciplinas, dos corredores, dos cafezinhos, pessoas incríveis e batalhadoras que eu conheci e que me ajudaram a crescer não só com conhecimentos teóricos e científicos, mas como ser humano. Juntos compartilhamos a solidariedade, humildade, amizade, apoios mútuos com histórias de superação e palavras de apoio. Obrigada pela energia positiva e palavras de incentivo. Em especial Tamara e Talita, meninas preciosas que levarei amizade para sempre.

Ao meu amigo Joel Pimentel, pelas horas de bancada e pelo conhecimento repassado, me auxiliou na execução das análises dos antioxidantes, trabalhou comigo na análise sensorial, e eu não tenho palavras para expressar minha gratidão por esta pessoa totalmente altruísta, amigo para todas os momentos e profissional supercompetente.

A minha amiga Benna, por todas as vezes que precisei ficar até muito tarde no laboratório, eu pude contar com nossa querida Benna, a quem amamos e sou muita grata pela amizade, por seu zelo e amor com minhas meninas.

A CEPLAC pela parceria no trabalho, em especial Cilene e Carlyle. A toda equipe da CEPLAC que me receberam carinhosamente em Ilhéus.

A professora Dr^a Mariana Monteiro e ao professor Dr^o Anderson Teodoro Junger, pelas parcerias neste trabalho.

“Uma criança, um professor, um livro e um lápis podem mudar o mundo.”

Malala Yousafsa

“Porque eu, o senhor teu Deus, te tomo pela tua mão direita; e te digo: não temas, eu te ajudo.” - Isaías 41:13

RESUMO

O cacau é originário de regiões de floresta pluviais da Amazônia, denominado de *Theobroma cacao*. Até 1989, o Brasil era o segundo maior produtor de cacau do mundo, no entanto com a chegada da vassoura-de-bruxa (*Moniliophthora perniciosa*), desde de então estamos na quinta posição. A CEPLAC (Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira), órgão do Ministério da Agricultura, vem realizando o controle integrado da vassoura-de-bruxa, com a seleção e a utilização de variedades clonais resistentes à doença. O *nibs* de cacau é a amêndoa do cacau fragmentada, diversos fatores como origem geográfica, safra e condições de pré-processamento influenciam sua composição química e fitoquímica. O objetivo deste trabalho foi determinar os teores de compostos fenólicos e as atividades antioxidantes de *nibs* de quatro diferentes variedades clonais de cacau (PS1319, BN34, Catongo e Para-Parazinho (PP), bem como propor a formulação de *nibs* caramelizados se utilizando da análise sensorial. Os *nibs* das quatro variedades de cacau não mostraram diferenças significativas quanto ao valor nutricional. Porém, diferenças foram observadas nos teores de compostos fenólicos totais entre as variedades, sendo creditado o maior teor a variedade PP. Do perfil de fenólicos e quantificação, os *nibs* possuem características de polifenóis iguais, mas com concentrações distintas entre os *nibs*, sendo o PP o que apresentou as maiores concentrações de epicatequina, cafeína e quercetina. As atividades antioxidantes dos *nibs* analisadas por diferentes métodos revelaram que a variedade PP teve maior potencial antioxidante nos métodos DPPH e ABT, e segundo maior no FRAP e ensaio ORAC. Para o desenvolvimento do *nibs* de cacau caramelizado, foi feito em uma primeira etapa a partir da aceitação diferentes concentrações de açúcar utilizando escala hedônica de 9 pontos. Resultados mostraram que não houve diferença significativa entre a aceitação dos *nibs* com teores de açúcar acima de 40%. Na segunda etapa foram avaliadas as aceitações de *nibs* caramelizados com concentrações de 20% e 40% de açúcar e com aroma de baunilha (sem baunilha, 2,5% e 5% de baunilha. A adição de baunilha e açúcar ao *nib* mostrou que há diferenças na aceitação de certos atributos e apresentaram características sensoriais distintas entre as variações de formulação. O *nib* caramelizado a 20%, com baunilha a 2,5% é uma das amostras que se apresentou atraente e com potencial para comercialização. Por fim, os *nibs* e *nibs* caramelizados se mostraram com possibilidade de alimento com elevada qualidade nutricional, sensorialmente agradável e, desta forma, contribuir com a valoração do *nibs* e consequentemente estimular o consumo desta amêndoa rica em compostos bioativos.

Palavras chaves: cacau, funcionais, atividade antioxidante, *nibs* caramelizados, baunilha

ABSTRACT

The cacao tree originates from regions of the Amazon rainforest, called *Theobroma cocoa*. Until 1989, Brazil was the second largest cocoa producer in the world, however, with the arrival of the witch's broom (*Moniliophthora perniciosa*), since then we are in fifth position. CEPLAC (Executive Committee for Cacao Plantation), an organ of the Ministry of Agriculture, has been carrying out integrated control of witches' broom, with a selection and use of varieties resistant to the disease. Cocoa Bean is a fragmented cocoa blend, several factors such as geographical origin, crop and preprocessing conditions that influence its chemical and phytochemical composition. The objective of this work was to determine the phenolic compounds contents and the antioxidant activities of tips of four different cocoa varieties (PS1319, BN34, Catongo and Para-Parazinho (PP)), as well as proportions of caramelized tips that are used sensory analysis. . The nibs of the four cocoa varieties showed no significant differences in nutritional value. However, differences were observed in the levels of total phenolic compounds between varieties, being credited or higher in a variety of PP. Phenolic profile and quantification, the tips have equal polyphenol features, but with distinct blades between the tips, being PP or what shows as higher levels of epicatechin, caffeine and quercetin. As the antioxidant activities of the tips analyzed by different revealed methods, a variety of PP had higher antioxidant potential in DPPH and ABT methods, and second largest in FRAP and ORAC. For the development of caramelized cocoa nibs, a first step was taken from the acceptance of different filters using a 9-point hedonic scale. Results showed no significant difference between the acceptance of tips with sugar content above 40%. In the second stage, the following caramelized tips with 20% and 40% sugar and vanilla aroma (without vanilla, 2.5% and 5% vanilla) were evaluated. There are differences in acceptance of certain features and distinct sensory characteristics between changes. The nipple is caramelized at 20% with 2.5% vanilla and is one of the colors that shows the characteristics and potential for. Finally, the caramelized nibs present the possibility of food with high nutritional quality, sensorially pleasing and, thus, contribute to the valorization of nibs and consequently optimize the consumption of this almond rich in bioactive compounds.

Keywords: cocoa, functions, antioxidant activity, caramelized tips, vanilla

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

REVISÃO DE LITERATURA-----	13
Figura 1: Mapa da produção mundial de cacau-----	14
Figura 2: Variedades de cacau-----	16
Figura 3: Esquema do processamento do cacau-----	17
Figura 4: Etapas de colheita do cacau (A) e de remoção da polpa (B)-----	18
Figura 5: Etapas de fermentação: local para o procedimento (A), semente de cacau cru fresco (B) e semente após fermentação de 5 dias (C)-----	19
Figura 6: Etapas de secagem e torrefação: barcaça para secagem (A) e torrador circular para torrefação (B)-----	20
Figura 7: Cotilédones (esquerda) e nibs de cacau (direita)-----	22
Figura 8: Estrutura básica do flavonóides-----	23
Capítulo 1-----	28
Figura 1: Teores de compostos fenólicos totais em mg de EAG/g dos <i>nibs</i> de cacau de diferentes variedades (médias \pm desvio padrão)-----	38
Figura 2: Atividade antioxidante dos <i>nibs</i> de cacau de diferentes variedades avaliadas pelos métodos: DPPH (A); ABTS (B); FRAP (C) e ORAC (D)-----	41
Capítulo 2-----	52
Figura 1: Médias da aceitação global, da aparência, do aroma, do sabor e da textura dos <i>nibs</i> de cacau caramelizados com baunilha-----	60
Figura 2: Mapa de preferência interno da aceitação da impressão global segundo consumidores-----	62
Figura 3: Dendrograma da análise de segmentação para os avaliadores (n = 101) a partir das médias da aceitação global-----	63
Figura 4: Mapa da análise de correspondência a partir dos dados da metodologia CATA para os nibs de cacau caramelizados com e sem baunilha segundo os avaliadores-----	64

LISTA DE TABELAS

REVISÃO DE LITERATURA-----	13
Tabela 1: Classificação de compostos fenólicos-----	23
Capítulo 1-----	28
Tabela 1. Valor nutricional dos <i>nibs</i> de cacau das diferentes variedades clonais estudadas (média ± desvio padrão)-----	36
Tabela 2: Identificação e quantificação de compostos fenólicos em <i>nibs</i> de cacau de diferentes variedades (média ± desvio padrão) (mg/100g de nib de cacau)-----	39
Capítulo 2-----	52
Tabela 1: Formulações de <i>nibs</i> de cacau caramelizado com diferentes percentuais de açúcar demerara (%)-----	54
Tabela 2: Formulações de <i>nibs</i> de cacau caramelizado com diferentes percentuais de açúcar demerara (%) e de aroma baunilha (%)-----	55
Tabela 3: Médias da aceitação da aparência, do aroma, do sabor, da textura e global dos <i>nibs</i> de cacau caramelizados-----	58
Tabela 4: Características de gênero e idade de todos os participantes do teste sensorial e das classes de consumidores identificadas na análise de segmentação – Etapa 2.-----	59
Tabela 5: Valores de p da correlação de Person dos atributos de aceitação investigados.-----	61
Tabela 6: Médias de aceitação do grupo 1 (n=46) para os atributos aparência, aroma, sabor, textura e global dos <i>nibs</i> caramelizados com e sem baunilha.-----	63
Tabela 7: Médias de aceitação do grupo 2 (n=25) para os atributos aparência, aroma, sabor, textura e global dos <i>nibs</i> caramelizados com e sem baunilha.-----	64
Tabela 8: Médias de aceitação do grupo 3 (n=30) para os atributos aparência, aroma, sabor, textura e global dos <i>nibs</i> caramelizados com e sem baunilha.-----	64
Tabela 9: Atributos dos <i>nibs</i> de cacau caramelizados levantados pelos 102 consumidores e selecionados para compor a ficha CATA-----	66
Tabela 10: Tabela de frequência de termos assinalados pelos consumidores no teste CATA.-----	67

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	12
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	13
2.1. A produção de cacau.....	13
2.2. O cacau	15
2.3. O processamento do cacau	17
2.4. Compostos bioativos do cacau e seus produtos e atividade antioxidante.....	22
2.5. Desenvolvimento de produtos funcionais	26
CAPÍTULO 1 - CARACTERÍSTICAS NUTRICIONAIS, COMPOSTOS BIOATIVOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTES DE <i>NIBS</i> DE DIFERENTES CLONES DE CACAU.28	
1 INTRODUÇÃO.....	28
2. METODOLOGIA.....	30
2.1. <i>Nibs</i> de cacau	30
2.2. Valor nutricional dos diferentes <i>nibs</i> de cacau.....	30
2.3. Obtenção dos extratos hidroetanólico dos diferentes <i>nibs</i> de cacau.....	30
2.4. Teor de compostos fenólicos totais	31
2.5. Identificação e quantificação dos compostos fenólicos e das metilxantinas	31
2.6. Atividade antioxidante pelo método do sequestro do DPPH.	32
2.7. Atividade antioxidante pelo método do ensaio FRAP (<i>Ferric Reducing Antioxidant Power</i>).	33
2.8. Atividade antioxidante pelo método de captura do radical ABTS.	34
2.9. Atividade antioxidante pelo método de Ensaio ORAC (capacidade de absorção de radical de oxigênio).	35
2.9 Análise estatística	35
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
3.1 Valor nutricional dos <i>nibs</i> de diferentes variedades de cacau.....	36
3.2. Compostos fenólicos dos <i>nibs</i> de diferentes variedades de cacau.....	37
3.3 Identificação e quantificação dos compostos fenólicos por CLAE-DAD.....	38
3.4. Atividades antioxidantes dos <i>nibs</i> de cacau de diferentes métodos de análise.	40
4 CONCLUSÃO.....	44
5. REFERÊNCIAS	45
CAPÍTULO 2 - DESENVOLVIMENTO DE “ <i>NIBS</i> DE CACAU CAMELIZADO COM AROMA DE BAUNILHA”. 51	

1 INTRODUÇÃO.....	51
2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	53
2.1. Plano de elaboração do novo produto com <i>nibs</i> de cacau	53
2.2. Etapa 1 – Determinação da concentração de açúcar para o novo produto	54
2.3. Etapa 2 – Desenvolvimento do <i>nibs</i> de cacau caramelizado com baunilha	55
2.4. Análise estatística	56
33. RESULTADOS E DISCUSSÃO	57
3.1. Determinação do teor de açúcar adicionado ao <i>nib</i> de cacau	57
3.2. Desenvolvimento do <i>nib</i> de cacau caramelizado com baunilha	58
3.4. Caracterização sensorial do <i>nibs</i> de cacau caramelizado com e sem baunilha	65
4. CONCLUSÃO.....	69
REFERENCIAS	69
REFERENCIAS REVISÃO DE LITERATURA.....	73
ANEXOS	79

1. INTRODUÇÃO

O cacau (*Theobroma cacao*) é originário de regiões de florestas pluviais da Amazônia e o mesmo ganhou importância econômica com a expansão do consumo de chocolate, surgindo várias tentativas visionárias de se implantar a lavoura cacauífera em outras regiões com condições de clima e solo semelhantes ao do seu habitat natural. Em consequência disso, suas sementes foram se disseminando gradualmente pelo mundo.

O Brasil está hoje entre os seis maiores produtores de cacau mundialmente. Segundo o Centro de Pesquisa do Ministério da Agricultura, a Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacauífera (CEPLAC) sediada em Ilhéus, na Bahia, o cacau se adaptou bem ao clima e solo do sul do estado, o maior produtor nacional do cacau brasileiro, seguido do Espírito Santo e Amazônia. Quanto ao processamento/moagem de cacau para a obtenção dos principais produtos derivados, nosso país ainda se encontra na quinta posição, principalmente para as indústrias de chocolate, liquor/massa de cacau e manteiga de cacau. Dentre estes produtos, o chocolate é certamente o de maior destaque, não somente pelo sabor particular e larga apreciação pelos consumidores, mas também pelo seu potencial de trazer benefícios à saúde. A literatura aponta o chocolate como um alimento rico em flavonóides, compostos fenólicos e com propriedades antioxidantes capazes de combater o estresse oxidativo que acomete células e tecidos. Este dano oxidativo tem sido relacionado com a etiologia de várias doenças, como a aterosclerose, as cardiopatias, o diabetes melito, as neuropatias degenerativas e até o câncer.

Por outro lado, durante o processo de obtenção do chocolate, pode-se obter outros produtos do cacau, como o *nibs*. Nos últimos anos o *nibs* e a casca da amêndoa torrada e moída, vem sendo vendidos em casas de produtos naturais, embora em pequena escala, como um alimento rico em antioxidantes que pode trazer benefícios à saúde. Os *nibs* comercializados trazem a proposta do seu consumo *in natura* ou como ingrediente a ser incorporado a alguma preparação quando já não adicionados a barras de cereal, granola, pães, biscoitos ou o próprio chocolate disponíveis à venda. O grande número de pesquisas sobre a composição nutricional, a constituição de compostos bioativos e seu poder antioxidante e as características sensoriais do chocolate é evidente. No entanto, o interesse de estudar os *nibs* é algo recente. Logo, há ainda uma escassa literatura acerca do assunto. Nesta ocasião, variedades clonais especiais de cacau podem gerar produtos com propriedades diferenciadas, que merecem ser investigadas.

O atributo sensorial característico dos chocolates, dependendo do tipo de produto, pode ser o amargo, o que indiretamente, também é uma descrição sensorial marcante nos *nibs* de cacau. Devido a isto, certos consumidores julgam os *nibs* como de gosto desagradável, levando a sua baixa aceitação. Portanto, cabe propor um produto que tenha o *nibs* como matéria prima majoritária, mas que seja apreciado pelos consumidores viabilizando o seu consumo.

Contudo, este estudo tem como objetivo determinar a composição nutricional, o teor de compostos bioativos e a atividade antioxidante de *nibs* de diferentes variedades clonais de cacau, bem como propor o desenvolvimento de um novo produto se utilizando da análise sensorial para a obtenção do "nibs de cacau caramelizado com baunilha", como alimento com possíveis propriedades benéficas à saúde.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. A produção de cacau

O cacau (*Theobroma cacao* L., *Theobroma* significa "alimento de Deus"), pertencente à família Malvaceae, é nativo do Vale do Amazonas do Sul, mas atualmente o cultivo do cacau está espalhado por muitos países (ARUNKUMAR; JEGADEESWARI, 2019), sendo uma das principais culturas de rendimento em vários países tropicais.

O cacau tem enorme importância econômica sendo comercializado como *commodity* nas bolsas de valores com participação relevante nas importações e exportações de produtos agrícolas do mundo, além de ser importante fonte de rendimento e emprego para a populações rurais de países em desenvolvimento. No mundo todo, mais 14 milhões de trabalhadores rurais no mundo dependem diretamente do cacau para seus meios de subsistência; e envolvidos na produção direta ou indiretamente são cerca de 50 a 60 milhões de pessoas no mundo (SÁNCHEZ-MORA et al., 2015).

Da produção mundial 18% está concentrada no centro e sul do continente, onde o Brasil e o Equador são os maiores produtores na América, que em média, produzem milhões de toneladas de grãos de cacau por ano. O Brasil em 2018 produziu cerca de 255 mil toneladas de amêndoas de cacau, o que equivale a 5% da produção mundial. No mundo, os maiores produtores são Costa do Marfim, Gana e Nigéria, que juntos somam 72% por cento da produção, produzindo cerca de 3 milhões de toneladas da amêndoa ao ano (OKIYAMA et al., 2017; MAPA, 2019).

No Brasil, as três principais regiões produtoras de cacau são Espírito Santo, Pará e Bahia. No entanto, sabe-se que a economia regional por força da monocultura foi atingida por crises cíclicas, decorrentes de variações climáticas, incidências de pragas e doenças. Logo, a partir da década de 90, devido aos déficits hídricos nas regiões produtoras da Bahia e do Espírito Santo, bem como à disseminação da doença vassoura-de-bruxa nos cacauzeiros da região sul da Bahia, a produção de cacau no Brasil sofreu uma enorme queda.

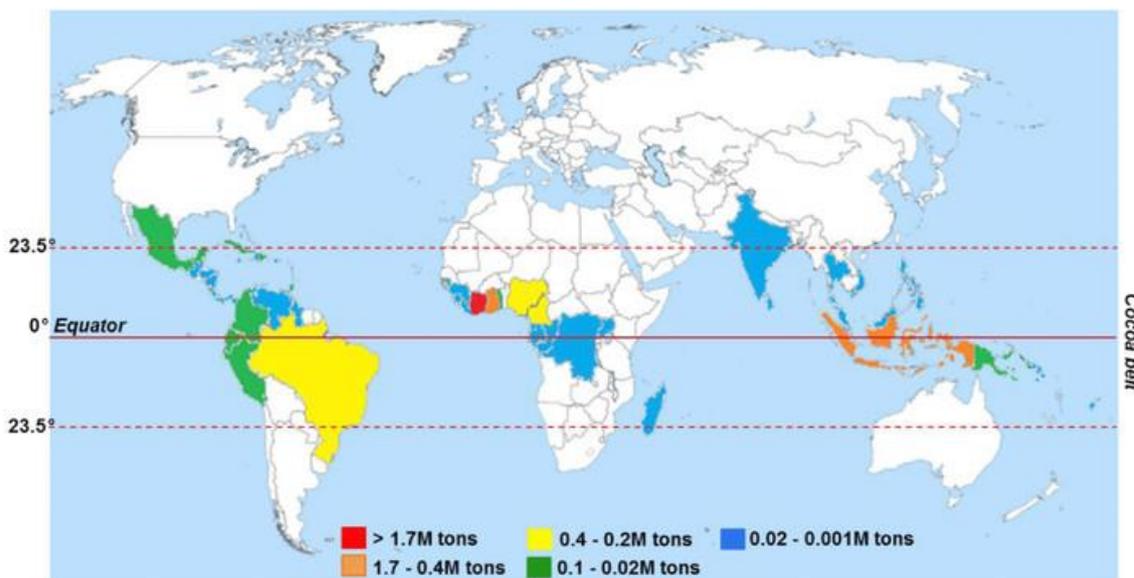


Figura 1: Mapa da produção mundial de cacau (Ozturk, 2017).

A doença vassoura-da-bruxa, causada pelo fungo *Moniliophthora perniciosa*, foi descoberta pela primeira vez no Suriname, em 1895 (GRAMACHO et al., 2016), e embora ocorresse de forma endêmica na região Amazônica, desde o século XIX, além de estar presente em diversos países da América do Sul e Central como: Bolívia, Colômbia, Equador, Guiana, Granada, Peru, Suriname, Venezuela, só foi constatada na principal região produtora de cacau do Brasil, no sul da Bahia, em 1989, registrada inicialmente no município de Uruçuca (PEREIRA et al., 1989) e logo em seguida, em Camacã, se disseminando em toda a região cacauzeira da Bahia atingindo até o estado do Espírito Santo. As perdas foram de até 90% na produção (EVANS et al., 2016) ou 100% em algumas fazendas (KREIBICH, 2016), causando na época, sérios problemas econômicos, sociais e ecológicos, principalmente na Bahia. Diante disto, à época, nosso país caiu de segundo maior produtor mundial de cacau para quarto. Na ocasião, responsável por 4% do total produzido no mundo (MARTINI, 2004).

Frente a este grave impacto, a Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira (CEPLAC, 2017) vem indicando o controle integrado da vassoura-de-bruxa como plano de recuperação da lavoura cacauzeira, onde a seleção e a utilização de variedades resistentes à

doença pelos agricultores constituem uma das possíveis soluções para o melhoramento da cultura cacauera, como avanço nas práticas agrícolas, na utilização de agrotóxicos e no controle biológico. Esta transferência de informações aos agricultores para que os métodos de controle sejam adequadamente aplicados constituem ações do Centro de Pesquisa para a manutenção e melhoria da qualidade do fruto.

A variedade de cacau Criollo, foi uma das primeiras a serem cultivadas e são desejáveis por causa do seu sabor de nozes e frutado, oferecendo um chocolate saboroso. No entanto, devido ao seu baixo desempenho agrônômico e susceptibilidade à doença, híbridos mais vigorosos desenvolvidos pela CEPLAC vem sendo estudados e já são amplamente cultivados no país (ARGOUT *et al.*, 2011; SALTINI *et al.*, 2013). Além da doença, há outros fatores que afetam a produção de cacau no Brasil. Segundo a Associação Nacional das Indústrias Processadoras de Cacau, há registros de queda na produção de cacau. Esta redução já era esperada pelos produtores, pois a estiagem tem afetado a lavoura. Diante desta situação, a quantidade disponível da matéria-prima no mercado interno não foi o suficiente para abastecer a indústria chocolateira. A saída encontrada foi recorrer às importações de cacau para não haver demissões de trabalhadores e fechamentos de empresas. Este cenário, exige inúmeros esforços do Governo, da Indústria e dos produtores, para ajudar a colocar o Brasil de volta no mapa mundial do cacau (AIPIC, 2018).

Neste contexto, com o desenvolvimento de diferentes variedades clonais do cacauero resistentes ao ataque do fungo *Moniliophthora perniciosa*, pode fazer surgir a abertura de mercados contemporâneos aplicando-se novos conceitos na produção de grãos de cacau com qualidade diferenciada para se obter os nibs, e posteriormente, a massa de cacau que vai originar o chocolate.

2.2. O cacau

As árvores do cacau são uma espécie nativa da floresta tropical, que se desenvolvem em clima quente e úmido e seus frutos são em formas ovais e medem entre 12 e 30 cm de comprimento, e contem de 30 a 40 grãos embebidos em polpa mucilaginosa, que compreende aproximadamente a 40% do peso grão fresco (KONGOR *et al.*, 2016; LEITE, 2012).

Existem três grupos principais de cultivares de grãos de cacau usados para se obter o nibs de cacau e posteriormente o chocolate, a saber: Criollo, Forastero e Trinitario (Figura 2). O Criollo é altamente valorizada e rara, menos amarga e mais aromática do que outras variedades. Apenas 5 a 10% do chocolate do mundo são feitos da origem Criollo. São valorizados por originar um produto de superior qualidade conhecido comercialmente como

"cacau-fino". A variedade Forastero inclui várias sub-variedades dentre elas a Catongo (ou "bulk"), uma mutação que é significativamente mais resistente que as árvores Criollo e que produz grãos de cacau mais baratos, assim como o Trinitário, um híbrido de Criollo e Forastero. O Forastero e seus cruzamentos varietais são os grãos mais comumente cultivados e usados. Esses grãos representam cerca de 95% da produção mundial do fruto e são cultivados principalmente na África Ocidental (CONTI et al., 2010; CEPLAC, 2019).



Figura 2. Variedades de cacau (CEPLAC, 2019).

Cada espécie de cacau tem um característica nutricional e funcional particular. Essas diferenças podem ser atribuídas à composição genética inerente da variedade, origem botânica, localização e condições de crescimento, como clima, quantidade e tempo de sol e precipitação, condições do solo, amadurecimento, tempo de colheita e o tempo entre a colheita e a fermentação do grão. Esses fatores contribuirão para variações nos aspectos físico-químicos e também do sabor na constituição final dos produtos derivados do cacau (AFOAKWA et al., 2008).

A CEPLAC vem ampliando a variabilidade genética com o programa de melhoramento genético, com clones de *Theobroma cacao*, resistentes à doença vassoura-de-bruxa, estabelecendo estudos das características individuais dos genótipos objetivando a formação de novas lavouras mais produtivas e com maior uniformidade. Nesse sentido, a CEPLAC, através de parcerias entre os agricultores, trabalhadores rurais, extensionistas e pesquisadores faz as seleções de clones resistentes com boas características gerais para a inclusão em ensaios de larga escala e a identificação de genótipos promissores para a constituição de populações para os ciclos seguintes de seleção (CEPLAC, 2010; LEITE, 2012).

O cacau e suas propriedades únicas de sabor e benefícios para a saúde despertam enorme interesse pelos cientistas, indústria e consumidores. Porém, para se obter o nibs, o

chocolate e seus derivados a partir de grãos de cacau, estas amêndoas precisam passar por etapas importantes nos seus vários processos tecnológicos com o objetivo principal de converter os grãos de cacau crus em fermentados, posteriormente secos, torrados e matéria prima microbiologicamente limpa e com um aroma e gosto característicos.

2.3. O processamento do cacau

O complexo processo agroindustrial do cacau pode ser dividido em duas fases: o pré-processamento e o processamento. A primeira corresponde às etapas realizadas no campo, pelo produtor de cacau, como a colheita, abertura dos frutos, retirada das sementes com a polpa, fermentação, secagem e armazenamento das amêndoas, dita fase de pré-processamento. A segunda etapa é a de processamento feita pela indústria para obter os produtos finais do cacau (REIS e SILVA, 2013) (Figura 3).

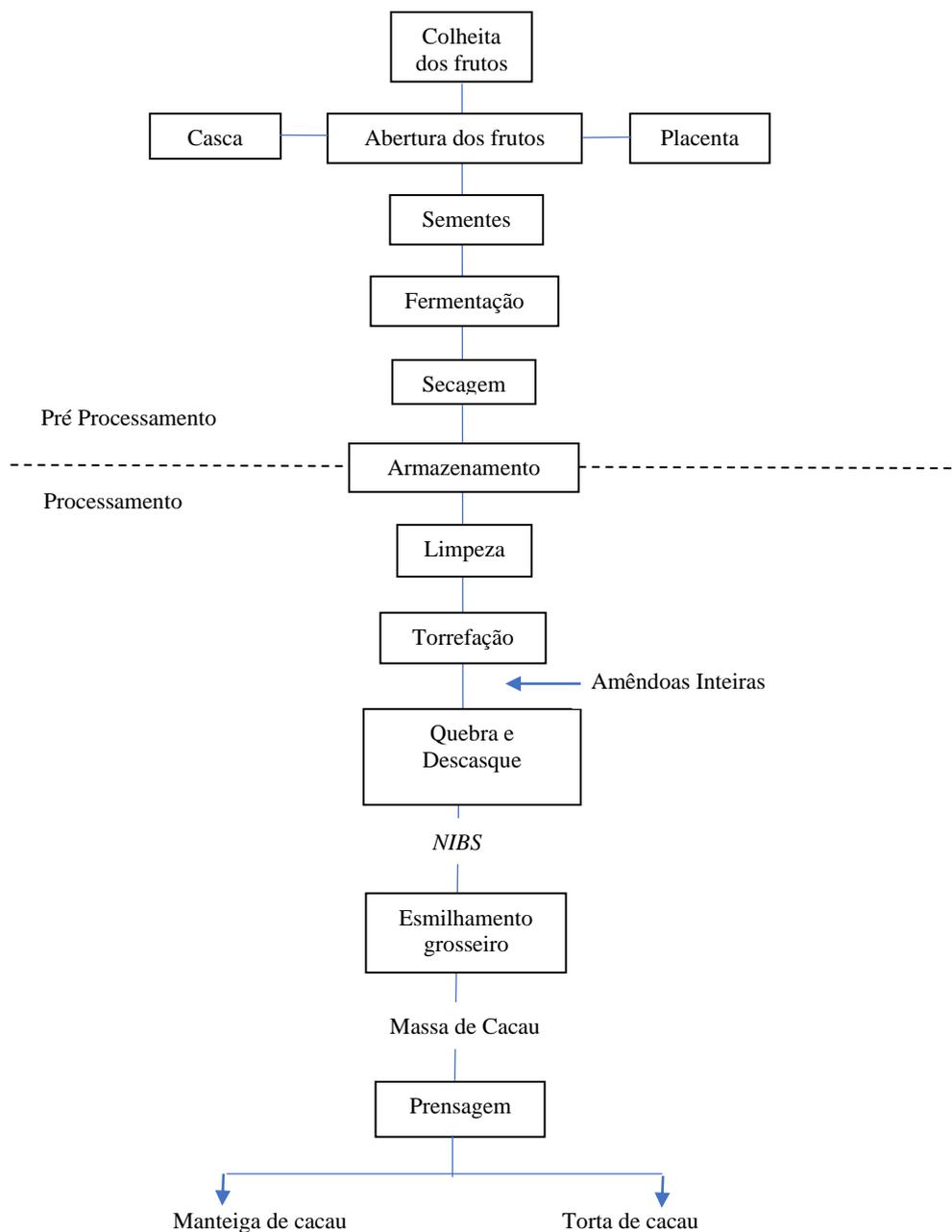


Figura 3. Esquema do processamento do cacau (adaptado de OKIYAMA *et al.*, 2017).

O pré-processamento acontece em parte no campo e envolve diversas etapas. Os frutos maduros são identificados por sua coloração externa, que pode ser amarela, vermelha ou violeta, que quando imaturos são verdes. Os frutos não devem ser colhidos muito maduros, pois aumenta os riscos de podridão do fruto e das sementes e as mesmas podem germinar. No caso da fruta ser colhida após o ponto certo de maturação, a porcentagem dos grãos violeta, cinza e mofado aumenta, reduzindo significativamente o rendimento do cacau seco (PEREIRA-CARO, 2012).

Para a colheita dos frutos das árvores, eles são retirados com uso de uma faca ou tesoura de poda (Figura 4A), ou no caso das frutas altas podem ser derrubadas usando uma desgarradeira (uma faca curvada e cabo longo). Uma vez colhidas, os frutos são empilhados para posterior seleção e descasca. Na fase de seleção, os frutos são examinados e todas as espécies magras ou verdes são descartadas. Os frutos selecionados são então cortados e a polpa removida (Figura 4B). A remoção da polpa deve ser rápida, caso contrário, este processo levará à fermentação acelerada, Figura 4.



Figura 4: Etapas de colheita do cacau (A) e de remoção da polpa (B).

O descasque rápido, feito ainda no campo pelos trabalhadores, reduz a produção de ácido lático, ácidos voláteis, ácidos livres e antinutrientes (taninos) no fruto. Após o descascamento, a polpa e os grãos devem ser fermentados para produzir precursores de aromas que conferem características sensoriais particulares nos produtos do cacau (DI MATTIA *et al.*, 2017).

Durante a colheita e descasque do fruto, as amêndoas são expostas a um grande número de fungos e bactérias presentes nas superfícies de ferramentas usadas na colheita, nas mãos dos trabalhadores, nos recipientes onde serão armazenadas para fermentação, e em todo este meio ambiente que envolve o pré processamento, contribuindo para um complexo processo conduzido pelos microrganismos residuais que participará da fermentação do grão de cacau (OZTURK et al., 2017). Após a colheita, os grãos são colocados em caixas de madeiras chamadas de cochos onde são armazenados para o processo de fermentação (Figura 5A, 5B, 5C).

Esta etapa de fermentação da polpa mucilaginosa, que envolve o cacau cru fresco, é necessária para o desenvolvimento do aroma e sabor únicos que contribuem para características desejadas das amêndoas de cacau utilizados na produção de chocolate. (KONGOR, 2016).



Figura 5: Etapas de fermentação: local para o procedimento (A), semente de cacau cru fresco (B) e semente após fermentação de 5 dias (C).

O tempo de duração da fermentação das sementes depende do tipo de cacau e a região onde é cultivada. Por exemplo, o Forastero, com um sabor de chocolate mais forte, requer de 5 a 8 dias para alcançar o desenvolvimento pleno do sabor, e o Trinitario também exige de 5 a 8 dias de fermentação (OZTURK et al., 2017).

A fermentação das amêndoas de cacau ocorre em dois níveis, o primeiro envolve reações que ocorrem na polpa, na parte externa das amêndoas, e o segundo envolve várias reações hidrolíticas que ocorrem dentro dos cotilédones das amêndoas (PEREIRA-CARO, 2012). Durante a hidrólise, a fase inicial da fermentação, a baixa acidez (3,4 a 4,0), o alto teor de açúcar (8 a 24%) e a baixa tensão de oxigênio favorecem o crescimento de leveduras (*Saccharomyces* spp. e *Bitabacterium* spp.) que dominam a fermentação durante as primeiras 36 horas. Esta fermentação alcoólica é feita por leveduras que convertem os açúcares em

álcool e dióxido de carbono. As bactérias aeróbicas (*Acetobacter* spp.) produzem fermentação acética, consumindo os álcoois (ESTEBAN-TORRES , 2015).

Esta etapa de fermentação que pode durar de 5 a 10 dias, aliada à combinação de atividades enzimáticas endógenas e a atividade microbiana em condições aeróbias e anaeróbias, aumenta naturalmente a temperatura para cerca de 50°C. Ainda neste estágio, reações de oxidação dos polifenóis catalisadas pela polifenoloxidase dão origem a novos componentes pela perda de integridade da membrana, induzindo a formação de cor marrom e ajudando a reduzir o amargor e a adstringência, favorecendo às características próprias das amêndoas (DI MATTIA *et al*, 2017; GUTIERREZ, 2017).

Após a fermentação, é necessário mais a etapa da secagem no processamento das amêndoas para que o teor de umidade seja reduzido a um ponto que iniba a atividade enzimática, garantindo a estabilidade microbiológica. A secagem também é etapa precursora para a promoção do sabor e aroma da amêndoa. A secagem natural, realizada ao sol, é uma operação simples e bastante utilizada em fazendas cacaeueiras. No Brasil, é normalmente realizada em plataformas de madeira, denominadas barcaças (Figura 6A, 6B) onde as sementes são espalhadas e frequentemente revolvidas para propiciar uniformização e redução da umidade (LAJUS, 1982; GARCIA, 1985 *apud* EFRAIM 2010).



Figura 6: Etapas de secagem e torrefação: barcaça para secagem (A) e torrador circular para torrefação (B).

Outra importante etapa do processamento é a torrefação quando ocorre a perda de água, ácidos voláteis e compostos taninos, além da promoção da garantia de sua estabilidade microbiológica. É ainda durante a torrefação que podem ocorrer influências sobre as

características sensoriais como o aroma, flavor e cor do *nibs* de cacau e do chocolate (AFOAKWA *et al.*, 2008; KRYSIAK, 2011).

Os precursores de aroma do cacau são produzidos pelos aminoácidos livres, os peptídeos de cadeia curta, a redução de açúcares e pela reação Maillard e degradação Strecker durante a torrefação, que irão gerar os compostos de sabor desejáveis, tais como pirazinas, álcoois, ésteres, aldeídos, cetonas, furanos, tiazóis, pironas, ácidos, aminas, entre outros (AFOAKWA *et al.*, 2008; ŻYŻELEWICZ *et al.*, 2016).

O grau de torrefação é uma relação dependente do tempo versus temperatura, onde o tempo pode variar de 5 a 120 min e a temperatura de 120 a 150°C. De acordo com Afoakwa (2016), o tempo e a temperatura do processo de torrefação dependem de vários fatores, tais como material de cacau, produto de final do cacau para qual a amêndoa irá ser usada (chocolate escuro ou ao leite) e tipo de cacau (Criollo, Forastero, ou outros), ou seja, a escolha dos parâmetros de torrefação determina o caráter dos processos químicos e físicos que ocorrem dentro do grão de cacau, e assim a qualidade dos produtos finais (COUNET, 2014; D'SOUZA *et al.*, 2017). Temperaturas altas contribuem em mudanças significativas nas propriedades físicas e químicas das amêndoas (MOUNJOUENPOU *et al.*, 2018).

Outro fator a ser considerado no tempo e temperatura da torrefação é a degradação dos compostos bioativos do cacau. De acordo com Pimentel (2016) e Pedan *et al.* (2017), a aplicação de alta temperatura em curto período de tempo na torrefação consegue preservar melhor o teor de polifenóis do que a aplicação de uma baixa temperatura por um tempo longo. O aumento da temperatura de 127°C para 181°C resultou na diminuição do teor de polifenóis em 52% e, para o teor de procianidina, a perda foi equivalente a 22%.

Ao término da torrefação, as amêndoas de cacau ficam basicamente compostas pelos cotilédones, os quais são protegidos por uma casca (ou testa). As amêndoas inteiras são descascadas, promovendo a remoção das cascas por peneiragem, ventilação ou sucção. Em seguida, são trituradas, e nesta fase são denominados *nibs* (Figura 7). Os *nibs* portanto são amêndoas de cacau sem casca fragmentadas. Os grãos de cacau secos, descascados e triturados ou *nibs* são novamente torrados para desenvolver ainda mais o aroma. Posteriormente, os *nibs* são submetidos à moagem em moinho de facas, obtendo a massa de cacau ou liquor, que segue para a operação de prensagem, gerando a manteiga e a torta de cacau. A partir da torta de cacau, origina-se o cacau em pó, que poderá ainda ser alcalinizado. O liquor, a manteiga e o cacau em pó são os principais produtos utilizados na fabricação de chocolates e alimentos derivados de cacau (EFRAIM, 2011; DI MATTIA, 2013).



Figura 7: Cotilédones (esquerda) e nibs de cacau (direita).

2.4. Compostos bioativos do cacau e seus produtos e atividade antioxidante.

Os polifenóis constituem um dos os grupos mais numerosos e amplamente distribuídos de substâncias no reino vegetal e são gerados a partir dos produtos do metabolismo secundário de plantas encontrados em vegetais e plantas comestíveis, cereais, frutas, sementes, óleos e produtos fabricados a partir de alimentos como bebidas não-alcoólicas e bebidas alcoólicas; como chá e vinho tinto e, principalmente, produtos de cacau (PÉREZ-JIMÉNEZ, 2010).

Nas plantas, os polifenóis estão envolvidos na resposta protetora a diferentes estresses como a radiação ultravioleta. Estes compostos podem prevenir o estresse oxidativo e danos no DNA, em lesões no corpo vegetal onde polifenóis estimulam o processo de lignificação, contribuindo para a cura, ou na defesa contra agressão por patógenos, como fungos e bactérias. Nos alimentos, estes compostos podem contribuir para a amargura, adstringência, cor, sabor, odor e estabilidade oxidativa (BAIÃO *et al.*, 2017).

O termo fenólicos abrange um grupo muito grande e diversificado de compostos. Estes compostos podem ser classificados em grupos com base no número de carbonos na molécula (Tabela 1) e nomeados quando pelo menos um grupo hidroxila ($-OH$) é ligado a um ou mais anéis aromáticos de benzeno (C_6H_5 ou C_6), formando a estrutura fenol (C_6H_5OH) (VERMERRIS *et al.*, 2008). Se eles exibem um único anel aromático, são denominados monofenólicos ou fenólicos simples, dando origem a um grupo heterogêneo de compostos. Com base no número de grupos hidroxilos fenólicos, a presença de grupos funcionais ligados ao anel de benzeno e o tipo de conexão entre anéis, fenólicos compostos podem ser divididos

em várias classes sendo as principais, inclui ácidos fenólicos, flavonóides, estilbenos e lignanas (ALVEZ, 2015).

Dentre os polifenóis, há a classe dos flavonóides com mais de 9000 compostos identificados até agora e relatos de que sua ingestão diária varia entre 20 mg e 500 mg oriundos principalmente de suplementos dietéticos, mas incluindo também chá, vinho tinto, maçãs, cebolas e tomates. Estes micronutrientes são abundantes em nossa dieta e possuem um papel importante na prevenção de doenças degenerativas (WANG, et al., 2018).

Os flavonóides são freqüentemente encontrados como formas glicosiladas ou esterificadas, anéis C6-C3-C6, ou seja, anéis A e B ligados por três carbonetos anel C (Figura 8)

Tabela 1: Classificação de compostos fenólicos (adaptada VERMERRIS et al., 2008)

Estrutura	Classes
C6	Fenólicos simples
C6 – C1	Ácidos fenólicos e compostos relacionados
C6 – C2	Ácetofenonas e ácidos fenilacéticos
C6 – C3	Ácidos cinâmicos, aldeídos e álcoois de cinamilo,
C6 – C3	cumarinas, isocumarinas e cromonas
C15	Flavanóis
C15	Flavonas
C15	Flavanonas
C15	Isoflavonas
C15	Flavonóis
C15	Antocianidinas
C15	Antocianinas
C30	Biflavonóides
C6-C1-C6, C6-C2-C6	Benzofenonas, xantonas, estilbenos
C18	Betacianinas
Lignanas, neolignanos	Dímeros ou oligômeros
lignina	Polímeros
Taninos	Oligômeros ou polímeros
Phlobafeno	Polímeros

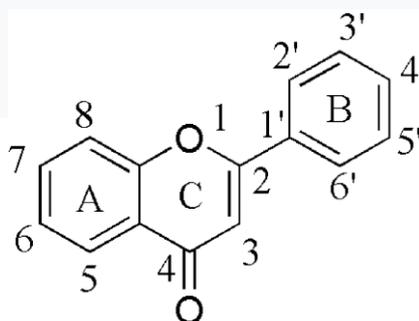


Figura 8: Estrutura básica do flavonóides (WANG, et. *al* 2018).

Segundo Kim Lee (2003), o cacau possui mais flavonóides por porção de consumo e exibe uma maior capacidade antioxidante do que o chá verde (3,7 vezes mais) e o vinho tinto (1,8 vezes mais) que já são alimentos conhecidos por serem ricos em compostos fenólicos. A presença dos polifenóis em grãos de cacau têm atraído muita atenção devido a essa atividade antioxidante e possíveis implicações benéficas à saúde humana, particularmente em relação a alguns tipos de câncer, doenças cardiovasculares e outras patologias, o que vem apontando uma crescente no número de estudos que comprovem certos benefícios (EFRAIM, 2011; LEITE, 2012).

Os flavonóides constituem o maior e mais diverso grupo de compostos fenólicos encontrados em grãos de cacau (WOLLGAST e ANKLAM, 2000). Altas propriedades antioxidantes do grão e produtos de cacau se dão pela quantidade destes compostos. Nos grãos, se encontram nas células pigmentares dos cotilédones e dependendo da quantidade de antocianinas, essas pigmentos células, também podem ser chamadas de células de armazenamento de polifenol (WOLLGAST e ANKLAM, 2000). Três grupos de polifenóis podem ser distinguidos em grãos de cacau e estes são: catequinas ou flavan-3-ols (cerca de 37%), antocianinas (cerca de 4%) e proantocianidinas (cerca de 58%) (GÜLTEKIN et *al*, 2016). Outros compostos fenólicos, que também podem ser encontrados (cianidina-3-O-arabinosídeo e cianidina-3-O-galactosídeo), bem como flavonóis (quercetina aglicona e seus glicosídeos), flavonas, fenóis (clovamida e desoxiclovamida), ácidos fenólicos e derivados de estilbeno hidroxilado (trans-resveratrol e trans-piceid) (ZIEGLEDER, 2009).

Sabe-se que muitos flavonóides, particularmente procianidinas, exibem alta atividade antioxidante, devido à eliminação de radicais livres, metal quelante íons, proteínas de ligação e enzimas inibidoras que geram radicais superóxido. As propriedades antioxidantes destes compostos dependem fortemente do grau de polimerização e natureza da substituição de grupos hidroxila (DE SOUZA et al., 2014). Apesar do alto teor de polifenóis nos grãos e seus derivados, isso pode variar muito entre diferentes variedades e origens de grãos de cacau e também em função dos procedimentos de fabricação (ANKLAM et al., 2000).

A atividade antioxidante do cacau e a investigação para o potencial desses compostos em *nibs* de cacau já foi mensurada em alguns estudos (EFRAIM et *al*, 2011; GÜLTEKIN et *al*, 2016; PIMENTEL, 2016).

Os flavonóides são uma classe de polifenóis, absorvidos pela dieta que trabalham em conjunto com o antioxidante endógeno como: enzimas, pequenas moléculas antioxidantes e vitaminas (REIN, 2000). Eles agem ao proteger moléculas (lipídios, proteínas e ácidos nucléicos) do dano oxidativo causado pelas espécies reativas de oxigênio (EROs) e pela supressão da resposta inflamatória e modulação da homeostase vascular (DEMROW, 1995).

Produtos à base de cacau, como o chocolate, são amplamente consumidos em muitos países e culturas. Por exemplo, em a população holandesa, o chocolate contribui com até 20% do total ingestão de flavonóides em adultos. Em crianças, a porcentagem é ainda maior. O chocolate é considerado o terceiro maior contribuinte de antioxidantes à dieta americana com um consumo diário de 100 a 107 mg atrás das frutas (255 mg/dia) e legumes (233 mg/dia) (VINSON et al., 2006).

Produtos ricos nestes compostos têm sido amplamente explorados no campo dos nutracêuticos e suplementos dietéticos, enquanto extratos de cacau estão se tornando extremamente populares para a produção de alimentos funcionais.

Os consumidores já veem esse tipo de alimento como uma forma de melhorar sua saúde e bem-estar e a indústria vem atendendo a essa demanda ao oferecer novos produtos que atendem a essas exigências de mercado (KÜSTER-BOLUDAA, 2017).

Entre outros motivos, a aceitação de um ingrediente funcional específico pode estar ligado ao conhecimento do consumidor do seu efeito na saúde. Assim, os ingredientes funcionais, que já são bem conhecidos (ex. vitaminas, fibras, minerais), atingem consideravelmente maiores taxas de aceitação dos consumidores do que ingredientes menos conhecidos (ex. flavonóides, caroteóides, etc.) (BECH-LARSEN et. al., 2003). Nesse último caso, os consumidores pouco sabem sobre os benefícios a saúde desses grupos específicos de ingredientes e assim não são capazes de avaliar os efeitos na saúde.

Por isso, estudos envolvendo ingredientes como os compostos bioativos e a percepção do consumidor merecem ainda avanços. Além disso, a imagem de saudável que o alimento funcional ou o ingrediente específico representa se torna um pré-requisito necessário, mas não podendo ser visto como sendo suficiente para um possível sucesso no mercado. Considerando que o mercado global de alimentos funcionais expandiu dramaticamente na última década com crescimento de forma constante, estima-se que chegue a US\$ 255,10 bilhões até 2024, isso leva a uma grande competição entre produtores para ganhar um consumidor, que se mostra ainda mais exigente (BARAUSKAITE, 2018).

Uma das formas de veicular os benefícios do cacau é através de alimentos funcionais e nesse sentido, se traz a proposta do *nib* caramelizado, onde o *nib* é o ingrediente com

potencial funcional. Logo, estudos com consumidores e a análise sensorial são de fundamentais para investigar a aceitação do produto funcional a ser proposto. Portanto, se torna relevante a pesquisa sobre *nibs* de diferentes variedades clonais, avaliando sua constituição em termos nutricionais, funcionais e sensoriais.

2.5. Desenvolvimento de produtos funcionais

Atualmente, os consumidores veem a comida como uma maneira de melhorar sua saúde e bem-estar, e os fabricantes de bebidas e alimentos estão respondendo pró-ativamente oferecendo novos produtos que atendam a essas necessidades (KÜSTER-BOLUDA, 2017). Há um crescente entendimento da relação entre dieta, certos ingredientes dos alimentos e saúde, o que tem levado a novos desafios quanto ao efeito dos componentes alimentares na função fisiológica e na saúde do homem. Esta preocupação move os consumidores a se tornarem mais conscientes sobre saúde, os dirigindo para uma tendência a alimentos saudáveis e nutritivos adicionados de uma função promotora da saúde, como os alimentos funcionais (OLMEDILLA et al., 2013).

Um alimento comercializado como funcional, normalmente contém ingredientes tecnologicamente desenvolvidos com um benefício específico para a saúde (NIVA, 2007). Na União Européia propuseram um conceito comumente usado o qual consideram um alimento funcional quando ele afeta benéficamente um ou mais funções alvo no corpo além da nutrição adequada de maneira relevante para uma condição melhorada da saúde e do bem-estar e/ou redução do risco de doenças (ALZAMORA et al., 2005).

O desenvolvimento de alimentos funcionais envolvem dois aspectos: (1) a seleção e caracterização de compostos bioativos do alimento, o desenho/planejamento tecnológico e a elaboração do alimentos, bem como a avaliação dos fatores que modificam seu conteúdo/biodisponibilidade. Katz et al. (2011) fez a avaliação do efeito funcional usando modelos *in vitro* e *in vivo* que promoveram a informação sobre os mecanismos de ação, o impacto na função-resposta *in vivo*, na relação dose-resposta e efeitos agudos e crônicos. Este trabalho terá uma abordagem em parte direcionada para o primeiro aspecto.

A conscientização do consumidor combinada aos avanços em vários domínios científicos, fornecem às empresas oportunidades para desenvolver um infinito conjunto de novos conceitos funcionais de alimentos (SIRÓ et. al, 2008). Este desenvolvimento, publicidade e propaganda exigem esforços de pesquisas. Isto envolve a identificação de compostos funcionais e avaliar seus efeitos fisiológicos; desenvolver uma adequada matriz

alimentar, tendo em conta a biodisponibilidade e potenciais alterações durante o processamento e preparação de alimentos, educação e ensaios clínicos sobre a eficácia do produto, a fim de obter aprovação de alegações de marketing que efetivamente melhoram a saúde (KOTILAINEN *et al.*, 2006; SZAKÁLY *et al.*, 2012).

Entretanto, os sabores indesejáveis na maioria dos alimentos funcionais, incluindo sabores amargos, acre, adstringentes ou salgados, que são naturalmente gerados durante o aumento da funcionalidade dos alimentos com ingredientes bioativos, diminuem a aceitação sensorial desses alimentos e podem desencorajar o consumo continuado (SIRÓ *et al.*, 2008), como por exemplo, os flavanóis que determinam a adstringência e amargor de diversos produtos, como em vinho e em certos chocolate (GUTIÉRREZ, 2017).

Há um crescente reconhecimento da importância das características sensoriais de alimentos em muitos aspectos. Além das hedônicas, as características sensoriais podem ajudar a explicar parcialmente a conexão entre as escolhas alimentares e a nutrição da população (COX, *et al.*, 2018).

A análise sensorial é uma ferramenta útil em todas as etapas da tecnologia de alimentos; desde a concepção de um novo produto até a padronização e avaliação do nível de qualidade do mesmo. Os testes disponíveis para uso são discriminativos, afetivos e descritivos, com os objetivos de estabelecer diferenças qualitativas e ou quantitativas entre as amostras, e possibilitar a avaliação das diferenças provenientes de alterações químicas ou físicas, de variação de matérias primas podem ser usadas para fins de pesquisa e desenvolvimento de novos produtos quanto para fins de controle de qualidade (BIEDRZYCKI, 2008).

Os atributos sensoriais são altamente interdependentes, o que significa que melhorar o gosto doce de um produto pode ter efeitos diferentes no gosto amargo e/ou sobre outros atributos (VARELA, 2014). Por isso é preciso considerar esses aspectos importantes da análise sensorial para o planejamento, delineamento, desenvolvimento e avaliação de um produto funcional ou na elaboração de um novo produto (OLMEDILLA *et al.*, 2013).

CAPÍTULO 1 - CARACTERÍSTICAS NUTRICIONAIS, COMPOSTOS BIOATIVOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTES DE NIBS DE DIFERENTES CLONES DE CACAU.

**Patricia Silva Fernandes¹; Joel Pimentel de Abreu¹; Anderson Junger Teodoro²;
Mariana Costa Monteiro³; Carlyle Brito Matos⁴, Cilene Nascimento Souza⁴; Ellen
Mayra Menezes Ayres²,**

1-Discente do Programa de Pós Graduação Alimentação e Nutrição (PPGAN)- Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro (UNIRIO), Rio de Janeiro, Brasil.

2- Docente do Programa de Pós Graduação Alimentação e Nutrição (PPGAN)- Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro (UNIRIO), Rio de Janeiro, Brasil

3 –Pesquisadora do Instituto de Nutrição – Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Rio de Janeiro, Brasil.

4- Pesquisador da Comissão Executiva do Plano Cultivo do Cacau (CEPLAC), Ilhéus, Bahia, Brasil.

Artigo formatado para submissão no periódico “International Journal of Food Sciences and Nutrition” Print ISSN: 0963-7486, Online ISSN: 1465-3478.

1 INTRODUÇÃO

O cacau (*Theobroma cacao* L., *Theobroma* significa “alimento de Deus”), pertencente à família Malvaceae, é nativo do Vale do Amazonas do Sul mas atualmente o cultivo do cacau está espalhado por muitos países (ARUNKUMAR; JEGADEESWARI, 2019), sendo uma das principais culturas em vários países tropicais. Ele tem enorme importância econômica sendo comercializado como *commodity* nas bolsa de valores com participação relevante nas importações e exportações de produtos agrícolas do mundo. Mais de 14 milhões de trabalhadores rurais no mundo dependem diretamente do cacau para seus meios de subsistência; e cerca de 50 a 60 milhões de pessoas no mundo estão envolvidos na produção direta ou indiretamente do cacau(SÁNCHEZ-MORA et al., 2015).

Em 1985, foi descoberta pela primeira vez no Suriname a doença da vassoura-da-bruxa, causada pelo fungo *Moniliophthora perniciosa*, que embora ocorresse de forma endêmica na região Amazônica desde o século XIX, só foi constatada na principal região produtora de cacau do Brasil, no sul da Bahia, em 1989, registrada inicialmente no município

de Uruçuca (PEREIRA et al., 1990) se disseminando em toda a região cacauera da Bahia chegando a causar perdas de até 90% na produção ou 100% em algumas fazendas atingindo até o estado do Espírito Santo (FALEIRO et al., 2004; RUFINO et al., 2007). Diante deste grave impacto, a Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira (CEPLAC, 2019) vem indicando o controle integrado da vassoura-de-bruxa como plano de recuperação da lavoura cacauera, com o desenvolvimento a seleção variedades clonais resistentes ao ataque do fungo *Moniliophthora perniciosa*.

Os nibs são obtidos a partir de amêndoas de cacau fermentadas, secas, torradas e trituradas. Tais etapas deste processo tecnológico, além de outras subseqüentes exigidas para a fabricação de chocolate, objetivam principalmente a obtenção de matéria prima microbiologicamente segura e com aroma e gosto característicos. Esses fatores contribuem para variações nos aspectos físico-químicos e também do sabor na constituição final dos produtos derivados do cacau (AFOAKWA et al., 2008).

As amêndoas de cacau possuem quantidades importantes de fenólicos presentes nas células pigmentares dos seus cotilédones (WOLLGAST e ANKLAM, 2000; ORACZ e EWA, 2016), o que conseqüentemente se evidencia em nibs de cacau. Três grupos de polifenóis podem ser distinguidos nas amêndoas de cacau e estes são: catequinas ou flavan-3-ols (cerca de 37%), antocianinas (cerca de 4%) e proantocianidinas (cerca de 58%) (BORDIGA et al., 2015). Devido a esta constituição rica em compostos bioativos, os nibs contem destacada capacidade antioxidante que sugerem papel importante na prevenção de doenças. Tanto que certos estudos epidemiológicos já associaram a ingestão de cacau rico em flavonóides a uma gama de efeitos biológicos, tais como anti-inflamatórios, anti-ateroscleróticos e antiplaquetários, melhora da sensibilidade à insulina, controle da pressão arterial e modulação da função imune (SCHINELLA et al., 2010; VISIOLI et al., 2009; RUSCONI et al., 2010).

Sabe-se que as propriedades antioxidantes do cacau podem ser afetadas por diversos fatores como regiões de cultivo do fruto, condições climáticas do local do plantio, práticas pós-colheita, condições de armazenamento, etc e dentre eles a variedade do fruto (ORACZ e EWA, 2016). Portanto, este trabalho tem como objetivo avaliar o valor nutricional, o teor e o perfil dos compostos fenólicos e a atividade antioxidante de nibs de diferentes variedades clonais de cacau. E ainda, usando mecanismos de análise distintos para refletir a verdadeira capacidade antioxidante (KARADAG et al., 2009).

2. METODOLOGIA

2.1. *Nibs* de cacau

Os *nibs* de cacau, amostras deste estudo, partiram de 4 variedades de clones de cacau produzidas na CEPLAC, localizado no Km 22 da Rodovia Ilhéus/Itabuna, Estado da Bahia, Brasil. Das variedades, a PS1319 e a BN34 foram desenvolvidas pelo Centro de Pesquisas do Cacau (CEPEC), tolerantes a doença vassoura-de-bruxa e outras 2 variedades, a Catongo e o Pará-Parazinho (PP) cultivares não resistentes fornecida pela CEPLAC.

Para a obtenção do *nibs*, as amêndoas de cacau foram submetidas à fermentação natural por 7 dias, com temperaturas variando de 25 a 42°C. Para cada uma das variedades foram realizadas fermentações em caixas de madeira (cochos). Ao término da fermentação, foi realizada a secagem das amêndoas em secadores tipo barça, com uso do calor natural (solar), por um período de 15 dias ou até que o percentual máximo de umidade atingisse 10%. Posteriormente, as amêndoas foram submetidas ao processo de torrefação, utilizando-se a temperatura de 80°C por 20 min, com subsequente esfriamento até atingir 40°C em dessecadores. Por fim, as amêndoas torradas foram trituradas com o objetivo de realizar a quebra e a eliminação das cascas, obtendo-se o *nibs*.

2.2. Valor nutricional dos diferentes *nibs* de cacau

As amostras PS1319, BN34, Catongo e PP foram masseradas no almofariz de porcelado antes das análises. A composição centesimal das variedades clones de *nibs* foi realizada em triplicata, composta das análises de umidade (em estufa a 105°C por 12 horas), lipídeos totais (por extração em aparelho Soxhlet, utilizando-se éter de petróleo como solvente), proteína bruta (pelo método Kjeldahl) e cinzas (em mufla 500°C) de acordo com os procedimentos da *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC, 1995). Os carboidratos, incluindo fibras, foram calculados por diferença entre 100 e o somatório das concentrações encontradas em umidade, cinzas, lipídios totais e proteína bruta.

2.3. Obtenção dos extratos hidroetanólico dos diferentes *nibs* de cacau

Para as análises de compostos fenólicos totais, identificação e quantificação dos compostos fenólicos e das metilxantinas, e das atividades antioxidantes foi necessária a obtenção dos extratos hidroetanólicos *nibs* de cacau liofilizados.

Os extratos foram obtidos pelo método proposto por Wollgast (2004), com modificações. Foram pesadas 100 g de cada uma das amostras (PS1319, BN34, Catongo e PP) em becker de 200 mL, e posteriormente, adicionado 100 mL de solução extratora hidroetanólica (70% de álcool etílico P.A. e 30% de água deionizada), em triplicata. Os beckeres foram submersos em banho ultrassônico (Marca Eco-Sonics, 40 kHz) por 10 min, à temperatura de 30°C. Após a retirada do banho, as amostras foram centrifugadas por 5 minutos em rotação 13.000 rpm a 10°C. Ao término da centrifugação, o sobrenadante foi coletado, filtrado e transferido para um frasco âmbar. Este procedimento foi realizado 4 vezes. Os extratos obtidos foram concentrados até a eliminação do solvente, em concentrador rotacional (RVC 2-18 CDplus, Marca Christ), sob vácuo (7,0 mbar, 1300 rpm), à temperatura de 40°C. Os extratos concentrados foram congelados em ultrafreezer, durante 72 h, à -80°C. Posteriormente, os extratos foram liofilizados em equipamento liofilizador (Freeze-dryer ALPHA 1-2 LDplus, Marca Christ) a -38°C, e pressão de vácuo a 0,12 mbar. Os extratos liofilizados foram transferidos para tubo falcon até o momento das análises.

2.4. Teor de compostos fenólicos totais

A quantificação de compostos fenólicos totais foi realizada por Folin-Ciocalteu conforme descrito por Gutfinger (1981). O método envolve a redução do reagente pelos compostos fenólicos dos extratos com concomitante formação de um complexo azul cuja intensidade aumenta linearmente a 760 nm. Três aliquotas de extratos em diferentes diluições (10 µL, 20 µL, 30 µL) em triplicata, foram adicionados a 2,5mL de solução de Folin-Ciocalteu 10%. Após 5 minutos foi adicionado 2mL de carbonato de sódio 4%, a mistura permaneceu reagindo por 2 horas em temperatura ambiente e ao abrigo da luz. As leituras foram lidas em espectrofotômetro da Marca Shimadzu, Modelo UV-1800 em comprimento de onda de 760nm. Uma curva padrão foi calculada utilizando uma curva padrão de ácido gálico com variação entre 5 µg a 30 µg de ácido gálico. Os resultados foram expressos em miligramas de ácido gálico por grama de amostra de *nibs*.

2.5. Identificação e quantificação dos compostos fenólicos e das metilxantinas

Para a identificação e quantificação dos compostos fenólicos e das metilxantinas as análises foram realizadas por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência e detector de arranjo de diodos (CLAE-DAD). Os extratos foram diluídos em água e filtradas em filtro de seringa

com membrana de teflon (PTFE), com tamanho de poro de 0,45 μm (Analítica®, Brasil). O sistema de cromatografia líquida (Shimadzu®, Japão) inclui uma bomba quaternária LC-20AT, injetor automático SIL-20AHT, detector de arranjo de diodos SPD-M20A, sistema CBM-20A como controlador e degaseificador DGU-20A5.

A separação cromatográfica dos compostos fenólicos foi realizada se utilizando uma coluna de fase reversa C18 (5 μm , 250 mm \times 4,6 mm, Kromasil®). A fase móvel consistiu em gradiente das soluções com 0,3% de ácido fórmico e 1% de acetonitrila em água (eluente A) e 1% de acetonitrila em metanol (eluente B) com um fluxo de 1,0 mL/min. Antes da injeção, a coluna foi equilibrada com 18% do eluente B. Após a injeção da amostra, essa proporção aumentou para 20,2% de B em 1 minuto, 43,4% de B em 18 minutos e 85,9% de B em 23 minutos, sendo mantida constante até 30 minutos. Entre as injeções, intervalos de 10 minutos foram utilizados para re-equilibrar a coluna com 18,2% do eluente B.

A separação cromatográfica das metilxantinas foi obtida se utilizando uma coluna de CLAE de fase reversa C18 (5 μm , 250 mm \times 4,6 mm, Kromasil®). A fase móvel consistiu em eluição isocrática com 0,3% de ácido fórmico e 1% de acetonitrila em água:1% de acetonitrila em metanol (60:40, v/v), utilizando-se fluxo de 1,0 mL/minuto. Os compostos fenólicos e metilxantinas foram monitorados por detector DAD de 190 a 370 nm. A identificação dos compostos foi realizada por comparação com o tempo de retenção e espectro de absorção do respectivo padrão e a quantificação foi realizada por calibração externa. Os dados de integração foram adquiridos pelo software LabSolutions (Shimadzu Corporation®, versão 5.82, 2015).

2.6. Atividade antioxidante pelo método do sequestro do DPPH.

A capacidade antioxidante dos extratos hidroetanólicos liofilizados foi avaliada de acordo com o método proposto por Brand-Williams, Cuvelier e Bersert (1995). Este método se fundamenta na redução do radical livre DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidazil) na presença de antioxidantes do extrato, promovendo a redução da absorbância medida a 515 nm, bem como da coloração do meio reacional. Previamente, foi preparada uma curva padrão com trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico) curva entre 0 e 2000 micromolar de DPPH, a partir da preparação de soluções metanólicas em diferentes concentrações (0 a 2000 μM de trolox). O meio reacional foi constituído por 500 μL de três diferentes concentrações (5 μL , 25 μL , 50 μL) dos extratos hidroetanólicos liofilizados em triplicata e 2,5mL de uma solução do radical DPPH 0,06 mM. Com o objetivo de reduzir alterações na

absorbância inicial da solução de DPPH 0,06 mM. O tempo de reação foi determinado a partir da realização de testes preliminares, com o mesmo meio reacional, sendo observado o tempo de 30 minutos. As leituras foram realizadas no comprimento de onda de máxima absorção a 515 nm, em espectrofotômetro da Marca Shimadzu, Modelo UV-1800, utilizando o metanol como o branco. Os resultados foram expressos em EC50 (concentração mínima da amostra necessária para reduzir em 50% a concentração inicial do radical DPPH), calculados a partir da regressão linear ($y = -ax + b$) gerada na elaboração da curva padrão do DPPH• (2), onde o eixo das abscissas (x) representa a concentração dos extratos e o eixo das ordenadas (y) a atividade antioxidante total.

$$Y/2 = -A \cdot EC50 + B \quad (2)$$

Onde: Y/2 = absorbância da amostra, dividido por 2; A = coeficiente angular da reta; B = coeficiente linear da reta; EC50 = concentração do extrato, necessária para reduzir 50% da concentração inicial do radical DPPH.

Além disso, os resultados também foram expressos na forma de índice de atividade antioxidante (IAA), segundo os métodos descritos por Scherer e Godoy (2009). Para isso, foi utilizada a Equação 3 que considera a massa do DPPH• ($\mu\text{g.mL}^{-1}$) e a massa do composto testado. Considera-se uma capacidade antioxidante baixa quando $IAA < 0,5$, moderada quando IAA está entre 0,5 – 1,0, forte capacidade antioxidante quando IAA está entre 1,0 – 2,0 e capacidade antioxidante muito forte quando $IAA > 2,0$. Os resultados foram expressos em micromol de trolox/g de amostra.

$$IAA = [DPPH\bullet] EC50 \quad (3)$$

Onde: IAA = índice de atividade antioxidante; $[DPPH\bullet]$ = concentração da solução de DPPH• em $\mu\text{g.mL}^{-1}$; EC50 = concentração $\mu\text{g.mL}^{-1}$ de substrato necessária para reduzir 50% do radical DPPH.

2.7. Atividade antioxidante pelo método do ensaio FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*).

O poder redutor dos extratos hidroetanólicos foram avaliados de acordo com o método proposto por Rufino (2006), com modificações. Este método se fundamenta na redução de um sal férrico denominado $[Fe(III)(2,4,6\text{-tri}(-2\text{-piridil})\text{-}1,3,5\text{-triazina})_2]^{3+}$, constituindo-se

como o oxidante do meio reacional, formando um complexo colorido [Fe(II)(2,4,6-tri(-2-piridil)-1,3,5-triazina)₂]²⁺, e absorvência máxima situando no comprimento de onda de 595 nm, em pH 3,6. Previamente, foi preparada uma curva analítica de sulfato ferroso em diferentes concentrações (10 µL, 20 µL, 30 µL). O meio reacional foi constituído por 90 µL das diferentes concentrações dos extratos hidroetanólicos liofilizados (0,07 a 1,25 mg/ml), 270 µL de água deionizada, e 2,7 mL do reagente FRAP. Posteriormente, foi realizado um cálculo de conversão, possibilitando expressar os resultados em µmol de sulfato ferroso Fe²⁺ por grama de amostra (mg FE.g⁻¹). Os resultados foram expressos em mg de equivalentes de Fe²⁺ por g de amostra, 67 calculados a partir da equação de regressão linear (4) da reta gerada na elaboração da curva analítica de sulfato ferroso, onde o eixo das abscissas (x) representa a concentração dos extratos e o eixo das ordenadas (y) a absorvência das amostras. Posteriormente, foi realizado um cálculo de conversão, possibilitando expressar os resultados em miligramas de equivalentes de Fe²⁺ por grama de amostra (mg FE.g⁻¹).

$$Y = A \cdot [FeSO_4] + B \quad (4)$$

Onde: Y, corresponde à absorvência da amostra; A, ao coeficiente angular da reta; B, ao coeficiente linear da reta e [FeSO₄], a concentração de sulfato ferroso encontrada.

2.8. Atividade antioxidante pelo método de captura do radical ABTS.

O método ABTS (ácido 2,2'-azino-bis 3-etilbenzotiazolin 6-ácido sulfônico) foi utilizado como descrito por Rufino et al. (2007). O radical ABTS^{•+} foi formado por uma reação química com persulfato de potássio em uma relação estequiométrica de 1:0,5. Uma vez formado, o radical ABTS^{•+} foi diluído em etanol até obter uma medida de absorvência de 0,70 (± 0,02) a um comprimento de onda de 734 nm. Alíquotas com três diferentes volumes (10 µL, 25 µL, 100 µL) das amostras dos extratos liofilizados do *nibs* de cacau, foram utilizadas de modo a restar um volume final de 3ml em cada leitura. As leituras foram realizadas em triplicata. Uma curva padrão com soluções de Trolox. Os resultados foram expressos em TEAC, atividade antioxidante equivalente ao Trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico) em µmol de trolox grama da amostra.

2.9. Atividade antioxidante pelo método de Ensaio ORAC (capacidade de absorção de radical de oxigênio).

O método foi realizado segundo Prior (2003) com modificações. Este ensaio avalia a atividade antioxidante através da inibição da oxidação, induzida pelo radical peroxil, por transferência de átomos de hidrogênio. Foi pesado 0,01g dos extratos liofilizados das amostras de *nibs* de cacau, avolumadas em um balão volumétrico de 100 ml com tampão fosfato. Para a análise, 20 µL das amostras em diferentes concentrações, (concentrações de 1; 0,9; 0,8; 0,7; 0,6; 0,5; 0,4; 0,3; 0,2 e 0,1 mg/ml) foram adicionadas nos poços com 80 µL do tampão fosfato que foram adicionados a microplaca, todos em triplicata. Em todos os poços, foi adicionado, em seguida, 120 µL da solução de fluoresceína e 60 µL de AAPH (2,2'-azinobis (2amidinopropano) dihidroclorato). A microplaca contendo as amostras, e o tampão fosfato, foram incubados por 3 horas a 37 °C. A leitura da fluoresceína foi realizada sob excitação a 485 nm e emissão a 535 nm, com um espaço de 30s entre uma leitura e outra. A partir dos dados de absorbância em relação aos tempos obtidos, foi calculada a área abaixo da curva (AUC). A atividade antioxidante do composto foi determinada através da diferença entre a área da amostra subtraída pela área do branco, medida pelo decaimento da fluorescência com a adição da substância antioxidante no decorrer do tempo. Usando-se Trolox de concentrações conhecidas, uma curva padrão foi gerada e a atividade antioxidante do composto calculada. Todas as análises foram feitas em duplicata e os valores foram expressos em µmols e trolox equivalentes por g de amostra de *nibs*.

2.9 Análise estatística

Os dados de todas as análises citadas acima foram apresentados em médias \pm desvio padrão a partir dos resultados de triplicatas. Os dados experimentais obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas através do teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade, utilizando-se o programa GraphPad Prism 5.0 e Statistical 6.0.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Valor nutricional dos *nibs* de diferentes variedades de cacau

Na Tabela 1 estão apresentados os resultados da composição dos *nibs* de cacau das diferentes variedades clonais estudadas. Ao analisar os resultados da composição centesimal, observou-se que não houve diferenças estatísticas entre os *nibs* das variedades clonais, exceto para o RMF (cinzas). Os RMF dos *nibs* PS1319 ($3,76 \pm 0,32\%$) e PP ($3,32 \pm 0,19\%$) não apresentaram diferenças significativas nas médias, porém diferentes das cinzas dos *nibs* BN34 ($2,46 \pm 0,21\%$) e Catongo ($2,08 \pm 0,28\%$).

Tabela 1. Valor nutricional dos *nibs* de cacau das diferentes variedades clonais estudadas (média \pm desvio padrão).

	<i>Nibs</i> de cacau				média
	PS1319	BN34	Catongo	PP	
	% (g/100 de <i>nibs</i>)				
Umidade	$5,93 \pm 1,23^a$	$4,09 \pm 0,31^a$	$5,64 \pm 2,24^a$	$5,99 \pm 1,76^a$	5,41
Proteína	$2,75 \pm 0,20^a$	$2,92 \pm 0,32^a$	$2,81 \pm 0,26^a$	$2,60 \pm 0,18^a$	2,77
Lípídeo	$9,16 \pm 0,36^a$	$13,4 \pm 4,06^a$	$8,06 \pm 0,31^a$	$10,80 \pm 1,06^a$	10,35
Carboidrato	$78,32 \pm 1,05^a$	$77,09 \pm 3,45^a$	$80,65 \pm 1,99^a$	$77,27 \pm 1,60^a$	78,33
RMF	$3,76 \pm 0,32^a$	$2,46 \pm 0,21^b$	$2,08 \pm 0,28^b$	$3,32 \pm 0,19^a$	2,90

RMF = resíduo mineral fixo; PP- Para- Parazinho. Valores expressos em base seca *letras diferentes na mesma linha representam resultados estatisticamente diferentes de acordo com teste de Tukey ($p \leq 0,05$)

Os valores de umidade encontrados neste presente trabalho são semelhantes aos encontrados por Hu et al. (2016), que obtiveram o teor de umidade de 5% em amostras de *nibs* de cacau. Outros autores como Brito et al. (2000) e Efraim (2009) também encontraram valores semelhantes para umidade com valor de $4,8 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$. Para a proteína, Silva (2013) e Efraim (2009) encontraram valores de 3,3 e $2,8 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$, respectivamente em *nibs* de cacau.

Quanto aos teores de lipídios, ele é o nutriente majoritário do *nib* de cacau e apesar de não ter diferença significativa entre os *nibs* do estudo, os valores encontrados são aproximados aos achados por Bacelar (2012) que observou uma média de $14,61 \pm 0,13 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ de lipídeos em base seca das amêndoas torradas.

Efraim (2009) e Afoakwa et al., (2008) atribuíram possíveis alterações destes nutrientes ou compostos às complexas reações bioquímicas que ocorrem durante as etapas de beneficiamento da amêndoa, assim como o genótipo da amêndoa de cacau, influenciando o tipo e a quantidade de armazenamento de seus compostos nutricionais como lipídios, proteínas e carboidratos.

Embora parâmetros físicos e físico-químicos do cacau (como teores de lipídeos totais, proteínas, carboidratos, cor e pH) sejam critérios frequentemente utilizados para avaliação da qualidade das amêndoas secas, o critério final de qualidade é o sabor após o processamento. O teor de umidade pode influenciar na reação de Maillard que necessariamente ocorre em altas temperaturas e em baixo teor de umidade, essas condições podem ser encontradas no processo de torrefação (KONGOR et al., 2016; DAMODARAN, 2018). Assim como os teores de proteína e carboidratos totais sofrerão alterações durante a fermentação, secagem e torra, para produzir os compostos de sabor desejáveis como os precursores de aroma (COUNET et al., 2002; ARLORIO et al., 2008).

3.2. Compostos fenólicos dos *nibs* de diferentes variedades de cacau

Os teores médios de compostos fenólicos totais encontrados nos *nibs* estudados são expressos em miligrama de equivalente de ácido gálico (EAG) por grama, foram: PS1319 com $10,33 \pm 1,40$ mg de EAG/g; BN34 com $5,96 \pm 0,43$ mg de EAG/g, catongo com $3,78 \pm 0,50$ mg de EAG /g e PP com $12,53 \pm 1,34$ mg de EAG/g (Figura 1).

As variedades de cacau apresentaram diferenças significativas quanto ao teor de fenólicos totais nos *nibs* ($p > 0,05$). A maior média foi da variedade PP, seguido da PS1319. Um outro autor na literatura encontrou valores semelhantes mesmo utilizando diferentes extratores, como exemplo, Salvador (2011) analisou *nibs* de cacau e encontrou $12,73 \pm 0,90$ mg de EAG/g utilizando o metanol 80% como extrator e na extração somente com água encontrou valor de superior de $21,64 \pm 1,64$ mg EAG/g.

Hu et al. (2016) encontraram valor médio de fenólicos totais de $18,97 \pm 4,90$ mg de EAG/g com extração por metanol aquoso 70% e Arlorio et al. (2008), em amêndoas secas, obtiveram o teor de fenólicos totais de 14,23 mg de EAG/g quando a extração de compostos foi realizada em metanol usando Soxhlet automático. Sob o ponto de vista analítico, é importante notar que eficiência de extração dos fenólicos depende de muitos fatores, dentre eles, do solvente usado na extração; do tempo de extração e do método de extração (AZIZAH, RUSLAWATI NIK, & SWEE TEE, 1999).

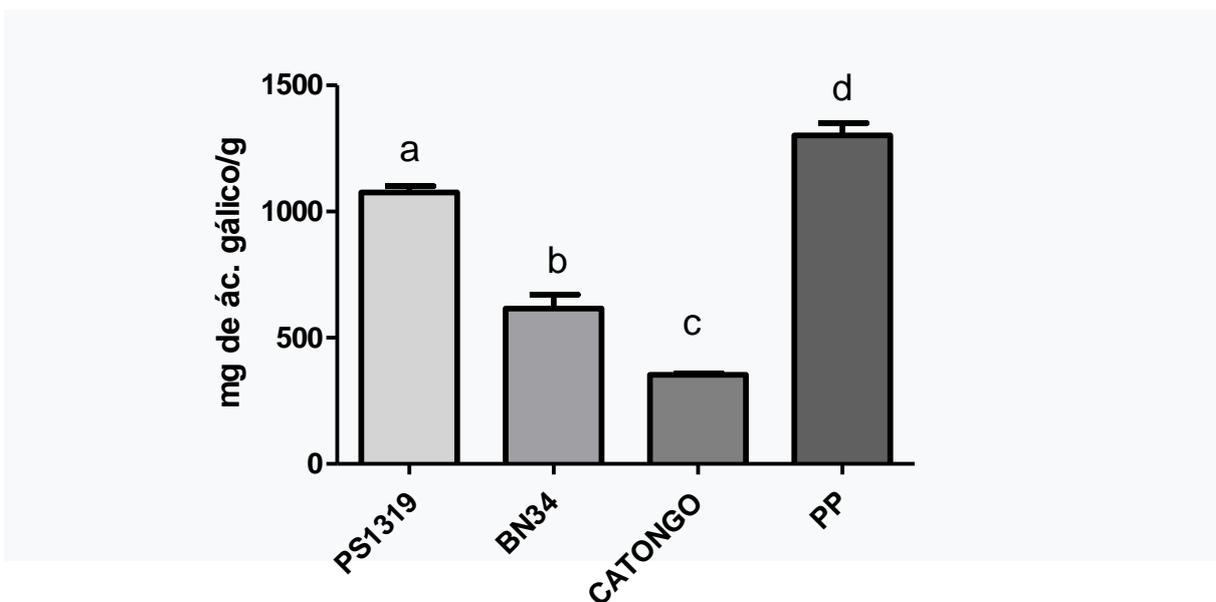


Figura 1: Teores de compostos fenólicos totais em mg de EAG/g dos *nibs* de cacau de diferentes variedades (médias \pm desvio padrão). Letras iguais não apresentam diferença significativa segundo One-way ANOVA com pós-teste de Tukey ($p < 0,05$). PP= Para-parazinho. EAG = equivalente de ácido gálico

Segundo Wollgast e Anklam (2000) além das diferenças metodologias já citadas, os valores encontrados na literatura divergem dos teores de fenólicos deste estudo, pois estas diferenças podem ser atribuídas às influências das variações genéticas, climáticas e de processamento.

Os fenólicos totais do cacau se correlacionam com a oxidação das quinonas permitindo a polimerização e formação de pigmento insolúvel de alto peso molecular que pode ser ligado à proteínas ou polissacarídeos de parede que impedem sua liberação. Com isso, a capacidade de extração da matriz de cacau pode ser ineficiente ou dificultada de acordo com o método de extração adotado. O ensaio Folin-Ciocalteu é baseado na reação de oxidação e redução. Logo, o conteúdo fenólico medido por este método pode ser influenciado pela presença de outros compostos não fenólicos redutores, como hidratos de carbono, pigmentos e/ou produtos de reação de Maillard. (STEPHANE et al., 2005).

3.3 Identificação e quantificação dos compostos fenólicos por CLAE-DAD

Quanto a identificação e a quantificação dos compostos fenólicos por CLAE-DAD, foram identificados majoritariamente 7 compostos, com predomínio da teobromina, seguido da epicatequina, cafeína, catequina, ácido 3,4 dihidroxibenzoico, quercetina e ácido gálico

(Tabela 2). As médias dos teores de cada composto nas diferentes variedades do *nibs* de cacau apresentaram teobromina com maior concentração em especial na variedade Catongo 7321,1±2,3 mg/g. A variedade PP obteve os maiores teores de epicatequina 3263,9±3,0 mg/g e cafeína 2525,4±28,7 mg/g. Para a catequina, a maior média encontrada foi de 244,3±2,2 mg/g creditada a amostra BN34. Para o ácido 3,4 dihidroxibenzóico, 123,1±0,5mg/g foi a maior média para a variedade catongo. O ácido gálico foi detectado em menor quantidade e na variedade PS1319 não foi detectado este composto.

Tabela 2: Identificação e quantificação de compostos fenólicos em *nibs* de cacau de diferentes variedades (média ± desvio padrão) (mg/100g de nib de cacau).

Composto	PS1319	BN34	Catongo	PP
Ácido gálico	ND	5,0±0,1	10,1±0,6	1,9±0,1
Ácido 3,4 dihidroxibenzóico	78,9±0,7	61,0±1,3	123,1±0,5	94,5±1,0
Catequina	192,9±0,2	244,3±2,2	182,7±0,5	223,5±3,0
Epicatequina	1158,3±0,6	1849,5±3,1	1611,0±29,3	3263,9±3,0
Quercetina	9,2±0,1	11,0±0,0	9,8±0,0	21,2±0,1
Teobromina	5657,3±58,6	6371,7±169,5	7327,1±2,3	6290,0±317,7
Cafeína	1614,7±8,0	1593,5±73,3	1048,1±34,9	2525,4±28,7

PP = Para-Parazinho; ND = não detectado

A identificação por CLAE-DAD mostrou que os compostos com maior predominância entre as amostras foi a teobromina e a cafeína, que pertencem à família das purinas e representam mais de 99% dos alcalóides presentes nos grãos de cacau (DE SENA, 2011). Batista et al. (2016) avaliaram a quantidade de teobromina e cafeína em variedades de cacau e identificaram variações nos valores médios para cafeína entre as amostras de 0,55 a 2,13mg/g valor semelhante ao encontrado neste trabalho. Já Bordiga et al. (2015) encontraram a média de 17,7±0,66 mg/g para teobromina.

De acordo com Pereira-Caro et al (2012), o acúmulo de teobromina e cafeína em cacau ocorre no período tardio de desenvolvimento da semente, sendo os genótipos de cacau revelaram consideráveis variações no teor de alcalóides purínicos da semente de acordo com o tempo de maturação do fruto. Estes compostos também são de importante destaque pois estão relacionados à produção de notas amargas no cacau, e durante o processo de fermentação, há

uma diminuição média de cerca de 20-30% do conteúdo de teobromina e cafeína, reduzindo assim o sabor naturalmente amargo das amêndoas de cacau.

Outros compostos identificados pelo CLAE-DAD foram catequina, epicatequina e quercetina, ácido 3,4 dihidroxibenzóico e ácido gálico, que são um dos principais grupos encontrados nos grãos de cacau, cuja presença é diretamente relacionada à atividade antioxidante (WAN *et al.*, 2001). Os resultados encontrados por Hu *et al.* (2009) para (-) - epicatequina (8,08 mg/ g) e (+) - catequina (0,18 mg /g) em amêndoas de cacau liofilizados são semelhantes aos encontrados neste estudo. Esses compostos pertencem à classe Flavan-3-ols, que contém propriedades antioxidantes conferidas pelos grupos hidroxila fenólicos ligados às estruturas do anel. Eles podem atuar como agentes redutores, doadores de hidrogênio, depuradores de radicais superóxidos e até mesmo quelantes de metal, e ativam enzimas antioxidantes que reduzem radicais livres (PROCHAZKOVA, *et al.*, 2011; CAROCHO *et al.*, 2013).

Os ácidos fenólicos como o ácido 3,4 dihidroxibenzóico e ácido gálico contêm atividades antioxidante quelantes com ação em especial sobre radicais hidroxila, peroxila e ânions superóxido. Também são precursores de muitos taninos presente no cacau (KRIMMEL *et al.*, 2010; CAROCHO *et al.*, 2013). Porém, o teor desses compostos do cacau depende de fatores genéticos e condições de processamento, tais como manuseio pós-colheita, fermentação, secagem, torrefação, moagem e tratamento de alcalinização (TOMAS-BARBER *et al.*, 2007).

A amêndoa do cacau possui mais flavonóides totais por porção de consumo e exibe uma maior capacidade antioxidante do que o chá verde (3,7 vezes mais) e o vinho tinto (1,8 vezes mais) (EFRAIM, 2011), que já são alimentos conhecidos por serem ricos em compostos fenólicos. A presença dos polifenóis em grãos de cacau têm atraído muita atenção devido a essa atividade antioxidante e possíveis implicações benéficas à saúde humana, particularmente em relação a alguns tipos de câncer, doenças cardiovasculares e outras patologias, o que vem apontando uma crescente no número de estudos que comprovem certos benefícios (GENOVESE, LANNES, 2009; MISNAWI *et al.*, 2004).

3.4. Atividades antioxidantes dos *nibs* de cacau de diferentes métodos de análise.

Método padronizado para a determinação das propriedades antioxidantes de certos alimentos e bebidas ainda não foi estabelecido; assim sendo, é altamente recomendável usar

mais de um método para avaliar e fornecer informações abrangentes sobre a capacidade antioxidante total de um alimento. Os resultados das análises da atividade antioxidante estão expostos nas Figuras 2A, 2B, 2C e 2D.

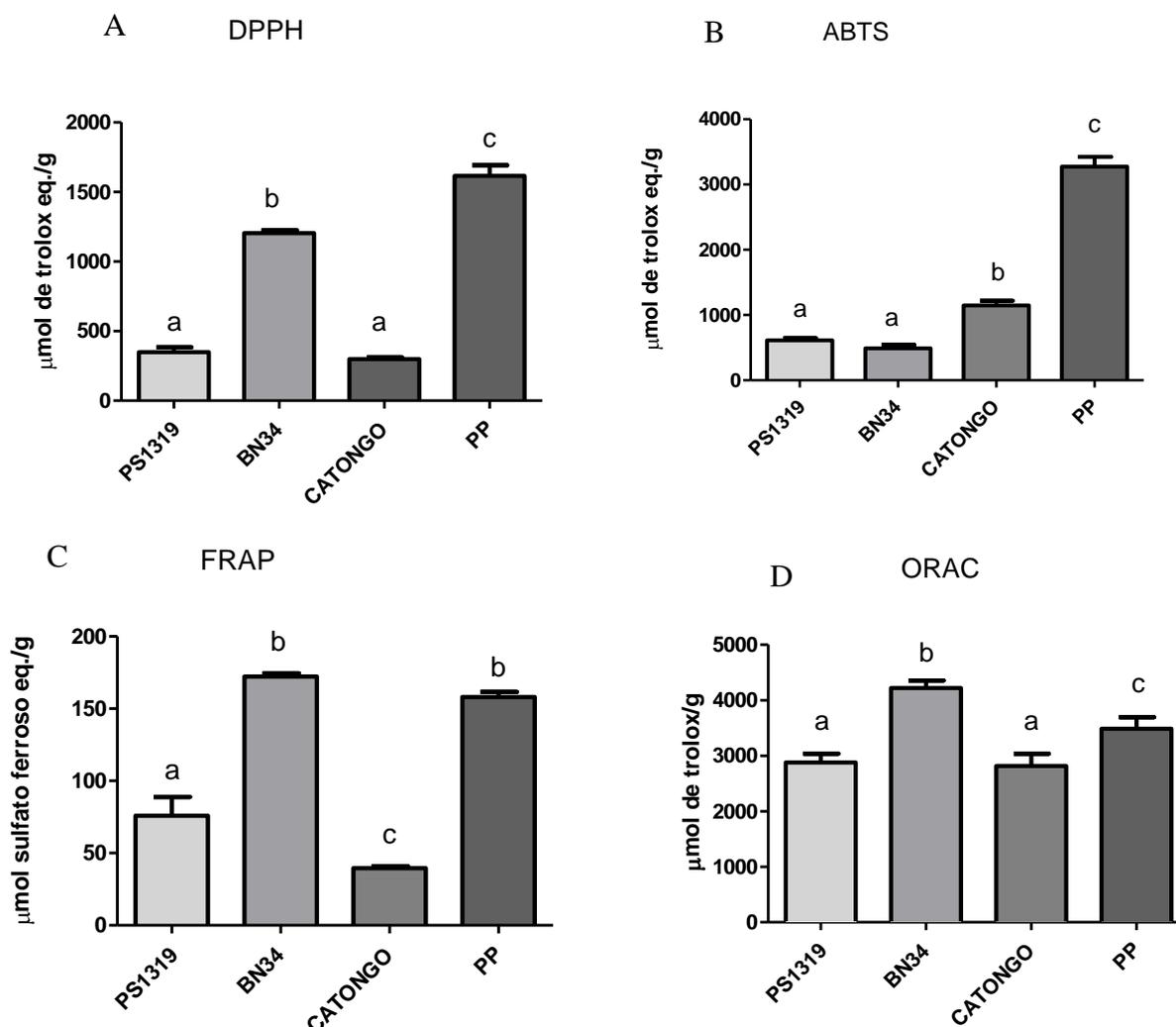


Figura 2. Atividade antioxidante dos *nibs* de cacau de diferentes variedades avaliadas pelos métodos: DPPH (A); ABTS (B); FRAP (C) e ORAC (D).

Letras iguais não apresentam diferença significativa segundo One-way ANOVA com pós-teste de Tukey ($p < 0,05$). PP= Para-parazinho

No método DPPH (Figura 2A) os *nibs* com maiores atividades foram PP $1615,85 \pm 76,33$ $\mu\text{mole TE/g}$ e BN34 $1203,89 \pm 19,72$ $\mu\text{mole TE/g}$ embora com diferenças significativas segundo ANOVA e teste de Tukey ($p < 0,05$). Catongo e PS1319 mostraram atividades antioxidantes mais baixas com $299,77 \pm 13,04$ e $348,53 \pm 36,21$ $\mu\text{mole TE/g}$ respectivamente, e sem diferença significativa entre as variedades. No método ABTS (Figura 2B), o *nibs* com maior atividade antioxidante foi o PP ($3275,22 \pm 148,40$ $\mu\text{mole TE/g}$) com

diferença significativa ($p < 0,05$) entre os demais *nibs*. Não houve diferença significativa entre os *nibs* PS1319 com média de $611,01 \pm 33,78$ $\mu\text{mole TE/g}$ e BN34 com $611,01 \pm 52,82$ $\mu\text{mole TE/g}$. Além disso, são os menores registros de atividade neste método. Ao comparar os métodos de DPPH (Figura 2A) e ABTS (Figura 2B), as médias das atividades antioxidantes para os *nibs* de cacau variaram de 299,77 a 1615,85 $\mu\text{mole TE/g}$ e de 323,80 a 1370,07 $\mu\text{mole TE/g}$, respectivamente, em uma margem de atividades bastante próximas.

Oracz et al. (2016) avaliaram a capacidade antioxidante de diferentes variedades de *nibs* e de diferentes países produtores, incluem a variedade trinitario do Brasil. Os resultados encontrados foram de 1370,07 $\mu\text{mole TEg}$ para DPPH e 1406,72 $\mu\text{mole TEg}$ para ABTS. Os autores mostraram que as variedades de cacau analisadas têm alta capacidade antioxidante e foi observado que seus resultados são semelhantes aos encontrados neste trabalho, a exemplo da média para a variedade PP. Summa et al (2006) avaliaram atividade antioxidante do cacau em amostras de amêndoas cruas, amêndoas secas e amêndoas torradas por 10 minutos, utilizou-se do radical DPPH e ABTS para avaliar a redução desse radicais e a capacidade antioxidante das amostras. Ambos os métodos mostraram redução progressiva nos três estágios das amostras, sendo a amostra com menor capacidade em sequestrar o radicais DPPH e ABTS foram da amostra crua, seguida do grãos secos e a maior capacidade antioxidante foi para as amostras dos grãos torrados. Os autores sugerem que esta variação ocorra pela liberação dos compostos fenólicos ligados nas matriz celular dos grãos após o processamento da amostras (liberando compostos de peso molecular menor como polifenóis) e o acúmulo de produtos de reação Maillard após a torrefação.

No método FRAP (Figura 2C), a amostra BN34 com valores de $172,28 \pm 2,10$ $\mu\text{mole TE/g}$ e PP com $158,04 \pm 3,6$ $\mu\text{mole TE/g}$ foram os *nibs* que se destacaram com as maiores atividades antioxidantes, com diferença significativa entre eles. O catongo foi o que demonstrou a menor atividade antioxidante neste caso com $39,53 \pm 1,4$ $\mu\text{mole TE/g}$. Jonfia-Essien et al. (2008) encontraram $12,4 \pm 7$, $\mu\text{mole TE/g}$ para as variedades não resistentes ao fungo, enquanto os valores para os híbridos, eles observaram valores de 21,6 a $45,5 \pm 2,86$ $\mu\text{mole TE/g}$, sendo considerados neste caso os clones com melhor capacidade antioxidante.

Os resultados indicaram que o *nibs* de cacau PP e BN34 tem alta capacidade de quelar íon ferroso (Fe^{2+}), que é o mais poderoso pró-oxidante entre os íons metálicos e pode catalisar a geração de espécies reativas de oxigênio potencialmente tóxicas (ROS) por reações de Fenton, como radical hidroxila ($\bullet\text{OH}$) que inicia a peroxidação lipídica. Isso é particularmente importante porque as disfunções das células causadas pelos radicais livres e

ROS é um dos fatores que contribuem para o envelhecimento do processo e desenvolvimento do câncer (ABBES et al, 2013; ORACZ et al, 2016).

Entre os compostos fenólicos do cacau estão a quercetina (identificadas neste estudo pelo método cromatografia) que exibe alta atividade quelante para íons. O processamento em altas temperaturas pode alterar a estrutura de alguns compostos fenólicos o que poderia aumentar suas atividades quelantes de íons ferrosos. Um estudo recente revelou que o tratamento térmico de grãos de cacau aumenta o conteúdo de catequina e quercetina, o que pode ser atribuído à epimerização da epicatequina e ou decomposição de procianidinas devido à alta temperatura da torrefação (OLIVEIRA et al., 2011; CHOI et al., 2016). Observações semelhantes foram feitas por Kothe, Zimmermann e Galensa (2013), ao investigarem o efeito da torrefação sobre a epimerização de polifenóis em amêndoas de cacau. Eles afirmaram que a temperatura de torrefação deve ser mantida abaixo de 140°C a fim de preservar o perfil de compostos fenólicos (KOTHE, ZIMMERMANN e GALENSA, 2013). Kealey et al. (2001), mencionaram que o aumento da temperatura de 127°C para 181°C resultou na diminuição do teor de polifenóis em 52% e, para o teor de procianidina, a perda foi equivalente a 22%.

No ensaio ORAC (Figura 2D), os nibs BN34 (6373,41 µmole TE/g) e PP (5302,41 µmole TE/g) foram as variedades com maior atividade antioxidante, apesar da diferença significativas entre eles ($p < 0,05$). PS1319 (4369,28 µmole TE/g) e catongo (4299,86 µmole TE/g) não mostraram diferenças significativas entre si. Mazor Jolic et al. (2011) usando uma extração metanólica da amostra para o ensaio ORAC, relatou valores de $253,85 \pm 32,9$ µmole TE/g para o nibs de cacau, a diferença nos valores está provavelmente relacionados ao uso de diferentes temperaturas e soluções extratoras, otimizando a extração de compostos antioxidantes (PRIOR et al, 2003).

O ensaio ORAC é considerado o mais relevante dos métodos porque utiliza radicais peroxil que são uma fonte de radical biologicamente relevante. Sua capacidade antioxidante atribuída principalmente ao ORAC hidrofílico (H-ORAC) que representou quase que 90% da capacidade antioxidante total dos produtos de cacau avaliados por Prior (2005). Eles também encontraram correlação entre a capacidade antioxidante do ORAC e compostos fenólicos totais.

Diante dos diferentes métodos de análise para a capacidade antioxidante do extrato liofilizado do *nibs* de cacau, as principais atividades antioxidantes foram dos *nibs* PP e BN34, este último podendo ser promissor se considerando a resistência ao fungo. A relação entre a concentração de fenóis totais e a capacidade de eliminação radicais livres do extrato de cacau apontam para uma tendência de correlação. A variedade com as concentrações mais elevadas

de fenóis totais é a amostra com maiores atividades antioxidantes. Embora, conhecido que a atividade antioxidante dos compostos fenólicos depende em grande parte do peso molecular, estrutura e concentração destes compostos. Além disso, a configuração e o número total de grupos hidroxila nas moléculas de flavonoides influenciam sua eficiência de eliminação de radicais (LU et al., 2010; KONGOR et al., 2016). A atividade antioxidante também depende do seu grau de polimerização e da natureza (hidrofílica ou lipofílica) de compostos presentes nas amostras de cacau (KONGOR et al., 2016), que podem afetar os resultados dos ensaios de atividade antioxidante, como foi relatado anteriormente.

Contudo, estudos (CHOI et al., 2016; HU et al., 2016; ORACZ et al., 2016) tem demonstrado que a torrefação em média de 25 minutos mostrou uma tendência para aumentar a capacidade antioxidante e o conteúdo dos compostos fenólicos individuais como (+) – catequina aumentou provavelmente devido ao processo de epimerização durante as várias etapas de beneficiamento do cacau.

4 CONCLUSÃO

Os *nibs* dos quatro clones de cacau, em geral, não mostraram diferenças significativas quanto ao valor nutricional. Porém, diferenças foram observadas nos teores de compostos fenólicos totais entre as variedades, sendo creditado o maior teor ao Pará-Parazinho. Do perfil de fenólicos, os *nibs* possuem características de polifenóis iguais, mas com concentrações distintas entre os *nibs*, sendo o Pará-Parazinho o que apresentou as maiores concentrações de epicatequina, cafeína e quercetina. As atividades antioxidantes dos *nibs* avaliadas por diferentes métodos de análise revelaram que o Pará-Parazinho teve o maior potencial antioxidante nos métodos DPPH e ABTS e segundo maior no FRAP e ensaio ORAC.

Diante das variedades investigadas, parece haver pouca diferença entre os genótipos BN34 e o Pará-Parazinho em termos de capacidade antioxidante de acordo com os métodos realizados neste estudo.

Por fim, o segmento de desenvolvimento de novos produtos de natureza promotora da saúde possui grandes desafios na seleção de matérias-primas ou/e de ingredientes para compor estes alimentos inovadores. Neste caso, o cacau Pará-Parazinho seria uma boa opção de variedade para a produção do fruto e uso na elaboração de produtos derivados do cacau. Assim, o *nib* de cacau proveniente deste genótipo é indicado para aplicação na indústria de derivados do cacau.

5. REFERÊNCIAS

AFOAKWA, E. O., & Paterson, A. (2010). Cocoa fermentation: Chocolate flavour quality. *Encyclopedia of biotechnology in agriculture and food*. U.K: Taylor & Francis Publishing Inc, 457–468

ABBÈS, Fatma et al. Effect of processing conditions on phenolic compounds and antioxidant properties of date syrup. *Industrial crops and products*, v. 44, p. 634-642, 2013.

ARLORIO, Marco et al. Roasting impact on the contents of clovamide (N-caffeoyl-L-DOPA) and the antioxidant activity of cocoa beans (*Theobroma cacao* L.). *Food Chemistry*, v. 106, n. 3, p. 967-975, 2008.

AZIZAH, A. H., Nik Ruslawati, N. M., & Swee Tee, T. (1999). Extraction and characterisation of antioxidant from cocoa by-products. *Food Chemistry*, 64, 199±202

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, 840–857.

AOAC. AOAC Official Method 991.43 Total, Soluble, and Insoluble Dietary Fibre in Foods. In: *Cereal Foods*. s.l: 1995. p. 7–9. WOLLGAST, J.; ANKLAN, E. Polyphenols in chocolate: is there a contribution to human health? *Food Research International*, Essex, v. 33, n. 6, p. 449-459, 2000a.

ARUNKUMAR, K.; JEGADEESWARI, V. Evaluating the processed beans of different cocoa (*Theobroma cacao* L.) accessions for quality parameters. v. 11, p. 1–4, 2019.

FAIRTRADE FOUNDATION. Fairtrade and cocoa. *Commodity briefing: Cocoa*, n. April, p. 28, 2016.

BORDIGA, M. et al. Evaluation of the effect of processing on cocoa polyphenols: Antiradical activity, anthocyanins and procyanidins profiling from raw beans to chocolate. *International Journal of Food Science and Technology*, v. 50, n. 3, p. 840–848, 2015.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, v. 28, n. 1, p. 25–30, 1995.

BACELAR, LEITE P., *Caracterização de chocolates provenientes de cultivares de cacau Theobroma cacao L resistentes a vassoura de bruxa*, Salvador bahia, 2011.

CAMU, Nicholas et al. Fermentation of cocoa beans: influence of microbial activities and polyphenol concentrations on the flavour of chocolate. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 88, n. 13, p. 2288-2297, 2008.

CLEPLAC. Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira. Disponível em: <<http://www.ceplac.gov.br/paginas/ceplac/ceplac.asp>> Acesso em: 15 de abril 2019.

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, 840–857.

COUNET, Christine et al. Relationship between procyanidin and flavor contents of cocoa liquors from different origins. *Journal of agricultural and food chemistry*, v. 52, n. 20, p. 6243-6249, 2004.

CHOI, Soo-Young et al. Functional Activities of Cacao *Nibs* and Couvertures according to Process Conditions. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, v. 45, n. 1, p. 68-75, 2016.

CAROCHO, M; FERREIRA, I. C. (2013) - A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food and Chemical Toxicology*. 51, 15–25.

PROCHAZKOVA, D., BOUŠOVA, I., WILHELMOVA, N., 2011. Antioxidant and prooxidant properties of flavonoids. *Fitoterapia* 82, 513–523.

DAMODARAN, Srinivasan; PARKIN, Kirk L. *Química de alimentos de Fennema*. Artmed Editora, 2018.

EFRAIM, P. Contribuição à melhoria de qualidade de produtos de cacau no Brasil, através da caracterização de derivados de cultivares resistentes à vassoura-debruxa e de sementes danificadas pelo fungo. 2009. 2009. Tese de Doutorado. Tese (Doutorado)-Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.

FALEIRO, F. G.; NIELLA G. R.; CERQUEIRA, A. R. R.N.; DAMACENO V. O.; GOMES L. M.C.; FALEIRO A. S.G. Produção de Micélio de *Crinipellis pernicios*a em Quatro Meios de Cultura, Visando Extração de DNA. *Revista Fitopatologia Brasileira*, n. 29, 2004.

GUTFINGER, TG, 1981, Polyphenols in olive oils, *Journal of the American Oil Chemists Society* 58, 966-968.

HU, SuJung; KIM, Byung-Yong; BAIK, Moo-Yeol. Physicochemical properties and antioxidant capacity of raw, roasted and puffed cacao beans. *Food chemistry*, v. 194, p. 1089-1094, 2016.

KONGOR, John Edem et al. Factors influencing quality variation in cocoa (*Theobroma cacao*) bean flavour profile—a review. *Food Research International*, v. 82, p. 44-52, 2016.

KARADAG, Ayse; OZCELIK, Beraat; SANER, Samim. Review of methods to determine antioxidant capacities. *Food analytical methods*, v. 2, n. 1, p. 41-60, 2009.

KRIMMEL, Birgit et al. OH-radical induced degradation of hydroxybenzoic-and hydroxycinnamic acids and formation of aromatic products—a gamma radiolysis study. *Radiation Physics and Chemistry*, v. 79, n. 12, p. 1247-1254, 2010.

KEALEY, Kirk S. et al. Cocoa components, edible products having enriched polyphenol content, methods of making same and medical uses. U.S. Patent n. 6,312,753, 6 nov. 2001.

KOTHE, Lisa; ZIMMERMANN, Benno F.; GALENSA, Rudolf. Temperature influences epimerization and composition of flavanol monomers, dimers and trimers during cocoa bean roasting. *Food chemistry*, v. 141, n. 4, p. 3656-3663, 2013.

LÜ, Jian-Ming et al. Chemical and molecular mechanisms of antioxidants: experimental approaches and model systems. *Journal of cellular and molecular medicine*, v. 14, n. 4, p. 840-860, 2010.

MAZOR JOLIĆ, Slavica et al. Changes of phenolic compounds and antioxidant capacity in cocoa beans processing. *International journal of food science & technology*, v. 46, n. 9, p. 1793-1800, 2011.

OLIVEIRA, SILVA da C et al. Phenolic compounds, flavonoids and antioxidant activity in different cocoa samples from organic and conventional cultivation. *British Food Journal*, v. 113, n. 9, p. 1094-1102, 2011.

ORACZ, J.; NEBESNY, E.: Antioxidant Properties of Cocoa Beans (*Theobroma cacao* L .): Influence of Cultivar and Roasting Conditions Antioxidant Properties of Cocoa Beans. *International Journal of Food Properties*, v. 19, n. 00, p. 1242–1258, 2016.

PERIERA, J. L. et al. First occurrence of witches' broom disease in the principal cocoa-growing region of Brazil. *Tropical agriculture*, v. 67, n. 2, p. 188-189, 1990.

PIMENTEL, Alexandre Araújo. Avaliação da capacidade antioxidante e quantificação dos constituintes fenólicos de *NIBS* e chocolates de variedades clonais de cacauero. Itapetinga: Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, 2016.

PEREIRA-CARO, Gema et al. Profiles of phenolic compounds and purine alkaloids during the development of seeds of *Theobroma cacao* cv. Trinitario. *Journal of agricultural and food chemistry*, v. 61, n. 2, p. 427-434, 2012.

PRIOR, R. L. et al. Assays for hydrophilic and lipophilic antioxidant capacity (oxygen radical absorbance capacity (ORAC(FL) of plasma and other biological and food samples. *Journal of agricultural and food chemistry*, v. 51, n. 11, p. 3273–9, 21 maio 2003.

PRIOR, Ronald L.; WU, Xianli; SCHAICH, Karen. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of agricultural and food chemistry*, v. 53, n. 10, p. 4290-4302, 2005.

RUFINO, MSM, Alves RE, Brito ES, Morais SM, Sampaio CG, Jimenez JP, Calixto FDS. Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH. *Comunicado Técnico Embrapa*, 127: 1-4, 2007.

RUSCONI, M.; CONTI, A. *Theobroma cacao L., the Food of the Gods: a scientific approach beyond myths and claims. Pharmacological research*, v. 61, n. 1, p. 5-13, 2010.

RUFINO, M. DO S. M. et al. *Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pelo Método de Redução do Ferro (FRAP)*. p. 2–4, 2006.

RUFINO, M. DOS S. M. et al. *Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre ABTS +*. p.1-4, 2007.

SÁNCHEZ-MORA, F. D. et al. Potencial sanitario y productivo de 12 clones de cacao en ecuador sanitary and productive potential of 12 clones of cocoa in ecuador. v. 38, n. 3, p. 265–274, 2015.

SCHINELLA, Guillermo et al. Antioxidant properties of polyphenol-rich cocoa products industrially processed. *Food Research International*, v. 43, n. 6, p. 1614-1623, 2010.

VISIOLI, Francesco et al. Chocolate, lifestyle, and health. *Critical reviews in food science and nutrition*, v. 49, n. 4, p. 299-312, 2009.

DE SENA, Amanda Reges; DE ASSIS, Sandra Aparecida; BRANCO, Alexsandro. Analysis of Theobromine and Related Compounds by Reversed Phase High-Performance Liquid

Chromatography with Ultraviolet Detection: An Update (1992-2011). *Food Technology and Biotechnology*, v. 49, n. 4, p. 413, 2011.

SILVA, A. R. S. Caracterização de amêndoas e chocolate de diferentes variedades de cacau visando a melhoria da qualidade tecnológica. Campinas, SP: [s.n.], 2013.

SUMMA, Carmelina et al. Effect of roasting on the radical scavenging activity of cocoa beans. *European Food Research and Technology*, v. 222, n. 3-4, p. 368-375, 2006.

JONFIA-ESSIEN, W. A. et al. Phenolic content and antioxidant capacity of hybrid variety cocoa beans. *Food chemistry*, v. 108, n. 3, p. 1155-1159, 2008.

STEPHANE, G., Peierre, B., Pascaline, A. and Marie, J.A. (2005), "Rapid determination of polyphenols and vitamin C in plant-derived products", *Journal Agricultural Food Chemistry*, Vol. 53 No. 5, pp. 1370-3.

TOMAS-BARBERÁN, Francisco A. et al. 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*, v. 55, n. 10, p. 3926-3935, 2007.

WOLLGAST, Jan; ANKLAM, Elke. Review on polyphenols in *Theobroma cacao*: changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. *Food Research International*, v. 33, n. 6, p. 423-447, 2000.

WOLLGAST, J.; ANKLAM, E. Review on polyphenols in *Theobroma cacao*: changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. v. 33, 2000.

WAN, Ying et al. Effects of cocoa powder and dark chocolate on LDL oxidative susceptibility and prostaglandin concentrations in humans. *The American journal of clinical nutrition*, v. 74, n. 5, p. 596-602, 2001.

CAPÍTULO 2 - DESENVOLVIMENTO DE “NIBS DE CACAU CARMELIZADO COM AROMA DE BAUNILHA”.

Patricia Silva. Fernandes¹;; Joel Pimentel de Abreu¹ Ellen Mayra Menezes Ayres²

1-Discente do Programa de Pós Graduação Alimentação e Nutrição (PPGAN)- Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro (UNIRIO), Rio de Janeiro, Brasil.

2- Docente do Programa de Pós Graduação Alimentação e Nutrição (PPGAN)- Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro (UNIRIO), Rio de Janeiro, Brasil

*Artigo formatado para submissão no periódico ‘Revista Food Science and Technology’
Print version ISSN 0101-2061, On-line ISSN 1678-457X.*

1 INTRODUÇÃO

As características sensoriais dos produtos são há muito tempo reconhecidas como um dos mais importantes determinantes da escolha do consumidor e do sucesso dos produtos no mercado (KESKITALO *et al.*, 2007). O grande desafio no desenvolvimento de novos produtos e o possível sucesso deste produto podem decorrer de vários fatores. No desenvolvimento de produtos alimentícios, os atributos sensoriais são altamente interdependentes, o que significa que melhorar o gosto doce de um produto como por exemplo, em um suco de frutas terá efeitos no gosto amargo, no sabor da fruta e/ou outros atributos (VALERA e ARES, 2014).

A aceitação do consumidor é influenciada por diversas variáveis, que podem ser quantificadas usando métodos instrumentais. Assim, em estudos com consumidores que envolvem as avaliações da aceitação do produto desenvolvido se usam de análises estatísticas multivariadas dos dados; métodos específicos para o que se deseja investigar e elevado número de consumidores. Uma pergunta chave no desenvolvimento de produtos alimentícios é definir seus atributos-chaves, que afetam o gosto geral do produto (GERE *et al.*, 2017).

Produtos ricos em certos compostos têm sido amplamente explorados no campo dos nutracêuticos e suplementos dietéticos. Da mesma forma, extratos de cacau, que são ricas fontes de flavonóides, estão se tornando extremamente populares para a produção de alimentos ditos funcionais. O chocolate é considerado o terceiro maior contribuinte de antioxidantes da dieta americana com consumo estimado de 100 a 107 mg / dia atrás das frutas (255 mg / dia) e legumes (233 mg / dia) (VINSON *et al.*, 2006).

Porém, os compostos fenólicos quando em grandes concentrações podem exercer influência negativa no sabor de derivados de cacau, conferindo amargor e adstringência a estes produtos (KWIK-URIBE, 2005).

O *nibs* é apontado em diversos estudos pelo seus benefícios à saúde (HU et al., 2016; BISPO et al., 2017; ORACZ et al., 2016). O consumo de produtos de cacau tem um efeito positivo na saúde, seus benefícios são atribuídos principalmente à alta atividade antioxidante presente no cacau. Atualmente, o potencial protetor da saúde dos polifenóis do cacau está ligado a proteção contra a oxidação causada pela lipoproteína de baixa densidade (LDL), uma consequência de estresse oxidativo (ORTEGA et al., 2008).

Dada a sua funcionalidade, os consumidores já veem esse tipo de alimento como uma forma de melhorar sua saúde e bem-estar e a indústria vem atendendo a esta demanda de mercado ao oferecer novos produtos (GRAY, et al., 2003; KÜSTER-BOLUDAA, et al., 2017). A crescente conscientização do consumidor, aliada aos avanços em vários domínios científicos, faz com que as empresas tenham oportunidades para desenvolver um infinito conjunto de novos conceitos de alimentos funcionais (SIRO et al, 2008).

Este desenvolvimento mais a publicidade e propaganda exigem esforços de pesquisa. Portanto, é necessária a identificação de compostos funcionais e avaliar seus efeitos fisiológicos; desenvolver uma matriz alimentar adequada, levando em conta a biodisponibilidade e a possibilidade de alterações durante o processamento e/ou preparação destes alimentos. Além disso, ensaios clínicos acerca da eficácia do produto e educação são requeridos para se obter aprovação de alegações de *marketing* que melhoram a saúde (ROININEN et al., 1999).

As diretrizes da Organização Mundial da Saúde (OMS) afirmam que o açúcar não deve representar 10% ou mais da ingestão calórica diária de um indivíduo e que até 2020, a EFSA (Autoridade Europeia para a Segurança Alimentar) estabelecerá um valor de corte baseado na ciência para a exposição dos açúcares adicionados de todas as fontes nos alimentos. Ao substituir os açúcares, há reduções tanto a curto como a longo prazo da ingestão energética, determinando perda ou ganho reduzido de peso corpóreo (HOGENKAMP et al., 2017).

A indústria de alimentos normalmente visa mascarar ou minimizar o amargor para aumentar a aceitação de produtos. Porém, removendo ou quebrando fitonutrientes amargos saudáveis pode reduzir os efeitos benéficos atribuídos a alguns desses alimentos (NISSIM, 2017). Por outro lado, a adição de açúcar é adotada para mascarar/inibir o amargor. Entretanto, para reduzir os teores de açúcar substituição da sacarose por adoçantes alternativos pode resultar em mudanças na percepção do gosto doce e amargo (CARDELLO

et al., 1999). Uma outra alternativa seria usar um flavorizante para reduzir parcialmente a quantidade de açúcar dos alimentos. Por exemplo a baunilha, tem sido utilizada pelos pesquisadores como uma das estratégias para avaliar as interações intermodais relacionadas ao aroma para redução de açúcar e a influência na percepção do consumidor.

A percepção do paladar é afetada por compostos aromáticos através de interações modais cruzadas de aroma-sabor, o que indica que a intensidade percebida de um sabor/gosto pode ser modulada pelo aroma (POINOT et al., 2013). Em particular, a reformulação de produtos doces foi relatada na literatura pela percepção da doçura necessitando ser revista pela adição de aromas relacionados com produtos doces, tais como notas de baunilha, caramelo ou fruta, mesmo em pequenas concentrações, devido às associações formadas durante exposições aos complexos estímulos (ALCAIRE et al., 2017).

O *nibs*, tal como se obtém após torrefação e moagem, e devido as suas características de composição química, é geralmente avaliado como um alimento desagradável, conseqüentemente de baixa aceitação pelo seu forte gosto amargo. A pretensão foi propor um produto com o *nibs* como ingrediente principal, ao invés de agregá-lo a bolos, biscoitos, pães, entre outras alternativas de veículo.

Com o desenvolvimento do *nibs* de cacau caramelizado, o gosto doce é percebido e a aceitação pelo consumidor aumenta. No entanto, um produto açucarado não seria desejável por trazer possíveis malefícios à saúde. Logo, a intenção de promover a redução do percentual de açúcar foi considerar a adição de outros ingredientes, na ocasião aroma de baunilha ao *nibs* caramelizado.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Plano de elaboração do novo produto com *nibs* de cacau

Dentre as quatro amostras de *nibs* de cacau (PS1319, BN34, catongo e Pará-Parazinho) oriundas das diferentes variedades clonais, a amostra PP foi escolhida para o desenvolvimento do novo produto. A escolha do *nibs* se deu como base nos resultados de destaque das análises de compostos bioativos e das atividades antioxidantes apresentadas no capítulo 1. O produto proposto consistiu em desenvolver um *nibs* de cacau caramelizado com baunilha.

O testes sensoriais foram realizados em duas etapas descritas a seguir, no Laboratório de Análise Sensorial (LASEN) da Escola de Nutrição da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro (UNIRIO). Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da

própria UNIRIO, com o número de registro CAAE: 82339818.4.0000.5285 – “Desenvolvimento de um alimento inovador funcional a partir do *nibs* de cacau (*Teobroma cacao*, L.)”.

2.2. Etapa 1 – Determinação da concentração de açúcar para o novo produto

A primeira etapa consistiu da determinação da concentração de açúcar para o *nib* caramelizado e do levantamento de atributos dos *nibs in natura* e caramelizados. As amostras utilizadas na análise foram: *nibs* puro (nib0) e *nibs* com diferentes concentrações de açúcar, a 20, 40, 60 e 80% de açúcar demerara adicionado. Sendo estas últimas representadas pelos códigos nib20, nib40, nib60 e nib 80, respectivamente (Tabela 1).

As formulações de *nibs* caramelizados foram preparadas no Laboratório Dietético I da UNIRIO. A quantidade pré-determinada de açúcar demerara foi pesada em balança digital semi-analítica e colocada em uma frigideira antiaderente com revestimento de *teflon*. A panela foi levada ao fogo em fogão industrial por aproximadamente 5 minutos e o açúcar homogeneizado com auxílio de uma espátula de silicone até que ocorresse sua fusão (160°C). Em seguida, os *nibs* de cacau puros da variedade PP foram adicionados ao açúcar fundido na frigideira e homogeneizados com a espátula novamente até o revestimento uniforme do açúcar no *nib*. Com a continuidade do aquecimento, o açúcar aderido aos *nibs* desidrataram e apresentaram uma aparência de ponto de “farofa”. Neste momento, o fogo foi desligado e os *nibs* caramelizados transferidos para uma superfície lisa e reta revestida com papel manteiga para a amostra esfriar a temperatura ambiente por 10 minutos. O mesmo procedimento foi repetido para o preparo das quatro diferentes amostras (nib20, nib40, nib60 e nib80). As amostras foram acondicionadas em recipientes plásticos e no mesmo dia realizado a análise sensorial.

Tabela 1: Formulações de *nibs* de cacau caramelizado com diferentes percentuais de açúcar demerara (%).

Código das amostras	<i>Nibs</i> de cacau (%)	Açúcar demerara (%)
nib0	100	0
nib20	80	20
nib40	60	40
nib60	40	60
nib80	20	80

A codificação das amostras indica o percentual de açúcar (0, 20, 40, 60 e 80%) no *nibs* caramelizado.

Participaram do teste sensorial 101 consumidores voluntários interessados em fazer a pesquisa. Os avaliadores receberam 5g das amostras acondicionadas em copos plásticos transparentes de 50ml identificados com números de três dígitos aleatórios, servidas monadicamente seguindo uma ordem de apresentação balanceada de quadrados latinos (MACFIE, 1989). Junto a cada amostra, receberam uma ficha de avaliação (ANEXO 1) da aceitação global, aparência, aroma, sabor e textura dos *nibs* caramelizados onde foram solicitados a assinalar o quanto gostaram ou desgostaram da amostra utilizando uma escala hedônica estruturada de nove pontos (1=desgostei extremamente a 9=gostei extremamente) (PERYAM e PILGRIM, 1957). Depois, na mesma ficha, também foram solicitados a escrever todas as características sensoriais percebidas nas amostras. Estes últimos dados serviram para levantar atributos para a elaboração da ficha do teste descritivo *check-all-that-apply* (CATA) da segunda etapa.

Após a avaliação das 5 amostras, o consumidor respondeu a um questionário constando das seguintes perguntas: Qual seu gênero? (feminino/masculino); Qual sua idade? (pergunta aberta); Já ouviu falar de *nibs*? (sim/não); Já provou *nibs* antes? (sim/não) Se sim, em que ocasião? (pergunta aberta); Incluiria o *nibs* na sua dieta se acessível? (sim/não); Você teria alguma sugestão de embalagem para este produto? (pergunta aberta).

2.3. Etapa 2 – Desenvolvimento do *nibs* de cacau caramelizado com baunilha

Na segunda etapa foi realizado um teste de aceitação e a caracterização sensorial do *nibs* de cacau caramelizado com baunilha. As formulações de *nibs* caramelizados foram preparadas no Laboratório de Técnica Dietética da UNIRIO seguindo as mesmas fichas técnicas (protocolo) de preparo das amostras da Etapa 1 (*nibs* caramelizados), porém considerando apenas os percentuais de açúcar de 20 ou 40% de açúcar demerara e adição de 0 ou 2,5% ou 5% de aroma de baunilha (Taste Essentials -TM) (Tabela 2).

Tabela 2: Formulações de *nibs* de cacau caramelizado com diferentes percentuais de açúcar demerara (%) e de aroma baunilha (%)

	<i>Nibs</i> de cacau (%)	Açúcar demerara (%)	Aroma de baunilha(%)
nib20b0	80	20	0
nib20b2,5	80	20	2,5
nib20b5	80	20	5
nib40b0	60	40	0
nib40b2,5	60	40	2,5
nib40b5	60	40	5

A codificação das amostras indica percentual de adição de açúcar (20 e 40%) e de adição de aroma de baunilha (0, 2,5 e 5%)

Os avaliadores do teste foram 101 consumidores voluntários interessados e disponíveis para participar do estudo. Os participantes receberam 5g das amostras acondicionadas em copos plásticos transparentes de 50ml identificados com números de três dígitos aleatórios, servidas monadicamente seguindo uma ordem balanceada de apresentação (MAC FIE, 1989). Junto a cada amostra, receberam uma ficha de avaliação (ANEXO 2) da aceitação global, aparência, aroma, sabor e textura dos *nibs* caramelizados com/sem baunilha onde foram solicitados a assinalar o quanto gostaram ou desgostaram da amostra utilizando uma escala hedônica estruturada de nove pontos (1=desgostei extremamente a 9=gostei extremamente) (PERYAM e PILGRIM, 1957). Na mesma ficha continha uma lista *check-all-that-apply* (CATA) com 24 termos descritivos levantados e selecionados no teste da Etapa 1, dos quais 7 para aparência, 4 para aroma, 9 sabor e 5 textura. Os termos foram concentrados nestas modalidades sensoriais e os descritores aleatorizados dentro da modalidade para os consumidores. O avaliador foi solicitado a marcar aquele(s) termo(s) que identificou como característica sensorial na amostra apresentada.

Por fim, um questionário (ANEXO 3) contendo perguntas psico e sócio-demográficas foi aplicado, contendo as seguintes perguntas: Quantos anos você tem? (pergunta aberta); Qual seu gênero? (feminino/masculino); Já consumiu *nibs* antes? (sim/não); Se sim, em que ocasião? (pergunta aberta); Incluiria o *nibs* na sua dieta se acessível? (sim/não) e O quão saudável você acha que o *nibs* é? (escala de 5 pontos de “pouco saudável” a “muito saudável”). A escala de Interesse Geral em Saúde (IGS) (ROININEN *et al.*, 1999) também foi investigada usando uma escala de 7 pontos (1 = totalmente discordo; 4 = não discordam; nem concorda; 7 = concordo totalmente) de acordo com a opinião de cada consumidor.

2.4. Análise estatística

Na etapa 1, os dados dos testes de aceitação foram tabulados e analisados estatisticamente por análise de variância (ANOVA), teste de *Tukey* para comparação de médias considerando o nível de 5% de significância, mapa de preferência interno (GREENHOFF e MACFIE, 1994) e análise de segmentação (*cluster*). Análise Fatorial Múltipla (AFM) foi utilizada para analisar os termos levantados e informações sobre as embalagens sugeridas para os *nibs*. Os dados do questionário psico e sócio-demográfico foram analisados por frequência simples, expressos em percentuais.

Na etapa 2, os dados dos testes de aceitação seguiram os mesmos procedimentos de análise da Etapa 1. A análise de correlação de Pearson foi utilizada para avaliar correlação

entre as variáveis de aceitação estudadas. Os resultados do teste CATA foram tabulados e analisados utilizando análise de correspondência e teste Q de *Cochran* ($p < 0,05$). Os dados dos questionários psico e sócio-demográficos foram analisados por frequência simples, expressos em percentuais. As notas das escala de IGS foram revertidas, quando aplicável, calculado o somatório das notas das sentenças por consumidor e este valor classificado em um consumidor com baixo IGS, médio IGS e alto IGS segundo ROININEN & TUORILA (1999).

As análises estatísticas foram realizadas em um programa de estatística XLSTAT versão (2016).

33. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Determinação do teor de açúcar adicionado ao *nib* de cacau

Na primeira etapa, 102 consumidores avaliaram os *nibs* de cacau caramelizados formulados com diferentes concentrações de açúcar (20%, 40%, 60% e 80%). Os consumidores apresentaram média de idade de 23,7 anos e em maioria pertencente ao sexo feminino (80,4%). Foi aplicado um questionário que mostrou que 91,1% dos respondentes já ouviram falar de *nib*, 81,2% nunca consumiram e 76,5% o incluiriam em sua dieta.

Na Tabela 3 estão apresentadas as médias da aceitação dos atributos avaliados nos *nibs* caramelizados e puro. A aparência foi melhor aceita para as amostras Nib0, Nib20 e Nib40, com destaque para o *nib* puro. Para o aroma, não houve diferença significativa entre os *nibs*. As médias de sabor foram superiores para Nib40, Nib60 e Nib80, e estes mesmos *nibs* foram os mais aceitos para textura e impressão global. Rosenstein (1988) reportou que alimentos que são combinações de açúcar e de gordura são universalmente preferidos, enquanto há desagrado generalizado de alimentos que são amargos. Assim como evidenciado neste estudo para o Nib0 e os *nibs* caramelizados.

A aceitação da aparência foi inversamente proporcional ao do sabor, ou seja, o *nib* mais aceito na aparência, é o menos aceito no sabor. O *nib* puro que foi rejeitado para sabor (média de aceitação abaixo de 5,0 considerando a escala de 9,0 pontos), confirmando o que se esperava da aceitação do *nib* puro, devido ao gosto amargo. Observou-se também que a aceitação da impressão global reflete a aceitação do sabor e da textura.

Tabela 3: Médias da aceitação da aparência, do aroma, do sabor, da textura e global dos *nibs* de cacau caramelizados.

Amostras	Aparência	Aroma	Sabor	Textura	Global
Nib0	6,941 ^a	6,267 ^a	4,158 ^c	6,198 ^b	5,198 ^b
Nib20	6,277 ^{ab}	6,208 ^a	5,386 ^b	6,109 ^b	5,802 ^b
Nib40	6,297 ^{ab}	6,455 ^a	6,881 ^a	6,703 ^{ab}	6,772 ^a
Nib60	6,119 ^b	6,327 ^a	7,020 ^a	6,960 ^a	6,931 ^a
Nib80	5,832 ^b	6,446 ^a	7,109 ^a	7,010 ^a	6,812 ^a
Pr > F	0,000	0,790	< 0,0001	0,000	< 0,0001
Significativo	Sim	Não	Sim	Sim	Sim

*letras diferentes na mesma coluna apresentam diferença significativa ($p < 0,05$) entre as amostras.

Neste caso, como o sabor e impressão global foram igualmente aceitos nos *nibs* com adição de açúcar de 40%, 60% e 80%, e destes, somente o Nib40 está entre os de maior aceitação para aparência, esta amostra foi selecionada para o teste seguinte da adição de aroma de baunilha. Além disso, seria a amostra de menor concentração de açúcar entre as mais aceitas.

3.2. Desenvolvimento do nib de cacau caramelizado com baunilha

Nesta etapa do estudo para o desenvolvimento do *nibs* de cacau caramelizado com diferentes concentrações de açúcar (20% e 40%) e diferentes concentrações de aroma de baunilha (0%, 2,5% e 5%) participaram 101 consumidores. Na tabela 4 estão as características demográficas dos participantes, onde a maioria são mulheres (76,24%) e jovens adultos (88,11%). Dentre os respondentes, 51,5% já haviam consumido *nibs* de cacau em outra ocasião e 69% afirmaram a possibilidade de incluir o *nibs* em sua dieta.

Tabela 4: Características de gênero e idade de todos os participantes do teste sensorial e das classes de consumidores identificadas na análise de segmentação – Etapa 2.

	Todos (101)		Classe 1 (46)		Classe 2 (25)		Classe 3 (30)	
	N	%	n	%	n	%	n	%
Gênero								
Feminino	76	76,24	36	78,26	17	68	23	76,66
Masculino	25	24,75	10	21,73	8	32	7	23,34
Idade								
<19 anos	13	12,87	8	17,39	3	12	2	6,66
20-29 anos	76	75,24	33	71,73	19	76	24	80
30-39 anos	9	8,9	3	6,52	2	8	4	13,33
40-49 anos	2	1,9	2	4,34	0	0	0	0
50-59 anos	1	0,99	0	0	1	4	0	0
60 > anos	0	0	0	0	0	0	0	0

O Interesse Geral de Saúde (IGS) (ROININEN *et al.*, 1999) dos consumidores foi avaliado e os resultados mostraram que a maioria dos participantes apresentaram baixo IGS (61%), 38% tiveram nível médio e 1% alto interesse. Foi fundamental conhecer a visão e importância dada pelo consumidor sobre saúde, por que muitas vezes é possível o consumidor fazer uma compensação entre o sabor e saúde, ou seja, um alimento de sabor inferior (pouco apreciado) pode apresentar uma boa aceitação pelo fato de proporcionar algum tipo de benefício à saúde (TUORILA *et al.*, 2002). As informações sobre os benefícios de saúde de um alimento vai depender da natureza específica do benefício esperado para a saúde (TUORILA *et al.*, 1999). Neste caso, nenhuma informação foi transmitida ao consumidor sobre o possível benefício à saúde ao consumir o nib de cacau advindo dos compostos fenólicos. Apesar disso, os avaliadores quando questionados quanto o quão saudável achavam que o *nibs* de cacau era, usando uma escala de 1 a 5, a maioria avaliou em notas 3 (34,6% dos consumidores) e 4 (39,6% dos consumidores). Logo, estando claro que grande parte dos participantes julgavam que o nib de cacau é um alimento saudável.

Os resultados do teste de aceitação mostram médias entre 4,9 a 6,9 indicando um gostar entre o "gostei nem desgostei" e "gostei ligeiramente" (Figura 1).

Não houve diferença significativa entre os nibs para a impressão global e textura em nível de significância de 5%, o que indica que as modificações feitas nos *nibs* com adição de açúcar e baunilha não foram percebidas pelo consumidor para estes atributos. Diante destes achados somente, sugere-se que os nibs caramelizados com menor teor de açúcar (20%) poderiam ser utilizados e nenhuma baunilha precisaria ser utilizada. Em especial, o resultado

da textura corroborou com os achados da primeira etapa deste estudo mostrando médias bastante semelhantes (Tabela 3).

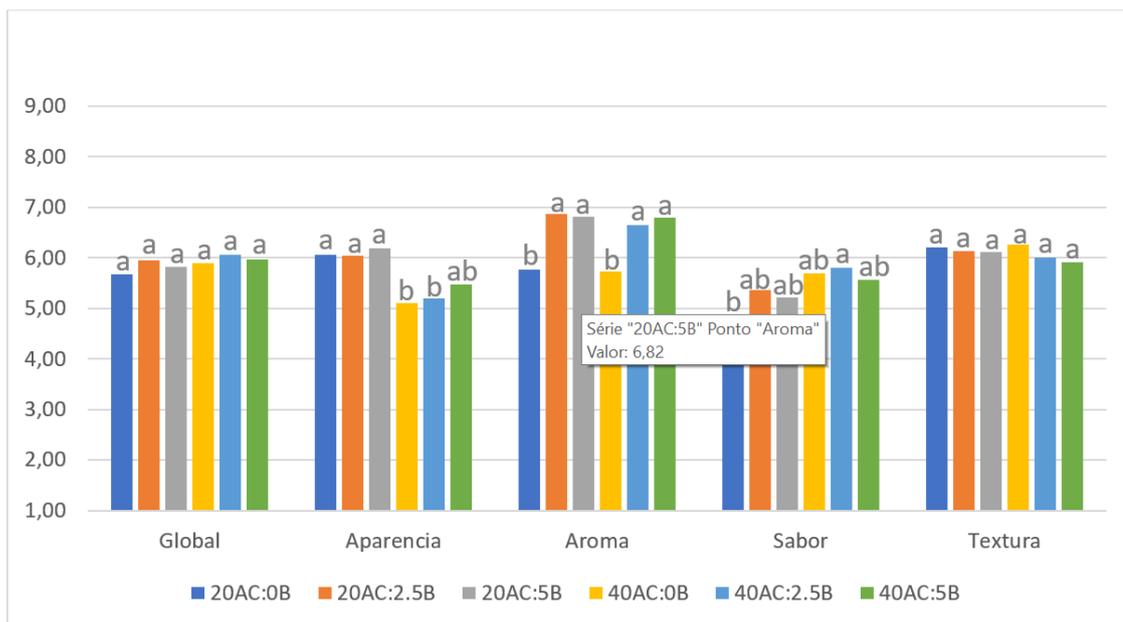


Figura 1: Médias da aceitação global, da aparência, do aroma, do sabor e da textura dos *nibs* de cacau caramelizados com baunilha.

*letras diferentes para o mesmo atributo apresentam diferença significativa ($p < 0,05$) entre as amostras.

As médias das aceitações da aparência, aroma e sabor revelaram resultados diferentes (Figura 1). Da aparência, as médias dos *nibs* com 20% de açúcar se mostram numericamente maiores, mas após a ANOVA e posterior teste de Tukey ($p < 0,05$), foi observado que 20AC:0B, 20AC:2,5B e 20AC:5B não possuem diferença significativa entre si, da mesma forma que os *nibs* 40AC:0B, 40AC:2,5B e 40AC:5B não possuem entre eles. No aroma, as amostras sem a baunilha mostraram as menores médias da aceitação, embora sem diferença significativa dos *nibs* 20AC:0B e 40AC:0B, sugerindo que a adição de baunilha agrega aroma ao produto. Para sabor, as médias da aceitação foram inferiores aos dos outros atributos, sendo a amostra 20AC:0B numericamente a menos aceita (com média abaixo de 5 na escala, apontando rejeição), porém sem diferenças significativas na aceitação todas às demais, com exceção da 40AC:2,5B.

Para melhor entendimento da aceitação dos *nibs* de cacau por atributo, foi realizada a análise estatística de correlação de Pearson (Tabela 5). Foi observado uma correlação positiva entre a aceitação do sabor e da impressão global demonstrado pelo valor de p menor e igual a 0,05. Do contrário, existe uma correlação negativa entre a aceitação do sabor e da aparência, ou seja, quanto mais aceita a aparência, menos aceito é o sabor e vice-versa.

Tabela 5: Valores de p da correlação de Person dos atributos de aceitação investigados.

Atributos	Global	Aparência	Aroma	Sabor	Textura
Global	0	0,197	0,245	0,016	0,171
Aparência	0,197	0	0,619	0,026	0,760
Aroma	0,245	0,619	0	0,686	0,082
Sabor	0,016	0,026	0,686	0	0,437
Textura	0,171	0,760	0,082	0,437	0

*Valores em negrito são diferentes de 0 com um nível de significância alfa=0,05

Logo, para um aroma mais atraente é interessante incluir a baunilha. Neste caso, sugere-se a 20AC:2.5B, menor teor de açúcar e menor teor de baunilha.

Para sabor, não houve diferença significativa na aceitação com exceção da amostra 20AC:0B, que foi a menos aceita (com média abaixo de 5 na escala, apontando rejeição) e a 40AC:2.5B. Com isso, a amostra 40AC:2.5B seria uma escolha para desenvolvimento, no entanto pensando no teor de açúcar menor, a 20AC:2.5B seria a melhor sugestão, com menos açúcar e menor teor de baunilha. Na aparência, as amostras 20AC foram as mais aceitas, sendo a amostra 20AC:2.5B uma boa opção de produto.

Wang et al (2018), avaliaram a adição de açúcar, leite e baunilha para gerar funções dose-resposta para a sacarose no leite e baunilha no leite. Os participantes encontraram interações significativas entre baunilha e açúcar a percepção da doçura, embora estes efeitos parecem ser bastante pequenos em magnitude, a baunilha pode ser usada em potenciais aplicações para redução de açúcar em alimentos.

Alcaire et al. (2018) acrescentaram concentração de baunilha e amido resultando em um aumento no sabor de baunilha e percepção de doçura e reduzida mudanças na percepção hedônica do consumidor causadas por redução de 20% de açúcar em uma sobremesa sem a necessidade de adicionar adoçantes não nutritivos. Outro trabalho mostrando a adição de aroma com redução de açúcar investigou qual o nível de redução de açúcar aceito pelos consumidores no iogurte adicionado de aroma de morango e café, realizou o teste hedônico de aceitação dos produtos para identificar os níveis ótimos de doçura e aroma. Para ambos os aromas (morango e café), os consumidores preferiram o iogurte com apenas 10% de adição de açúcar (CHOLLET, 2013).

A partir das médias da aceitação da impressão global foi gerado o mapa de preferência interno (Figura 2). Os pontos vermelhos representam os consumidores e os azuis as amostras de nibs de cacau caramelizados com ou sem baunilha. Observou-se que os

consumidores mostraram diferentes preferências pelas amostras de nibs de cacau. As duas primeiras dimensões do mapa de preferência explicaram 56,28% da variação ocorrida entre as amostras. Este valor abaixo de 70% pode ser explicado por se tratar de um teste realizado com consumidores e não com provadores treinados. A primeira dimensão separou as amostras 20AC:0B e 20AC:5B, da 20AC:2,5B e 40AC:5B. Já a segunda dimensão distinguiu os nibs 20AC:0B, 20AC:2,5B e 40AC:2,5B das amostras 20AC:5B, 40AC:0B e 40AC:5B. O mapa representa ainda que os nibs 20AC:5B e 40AC:0B apresentam semelhanças de aceitação por estarem relativamente próximos no espaço; que a aceitação do nib 20AC:0B se opõe do extremo 40AC:5B e; que aparentemente o nib 20AC:2,5B é um dos mais aceitos.

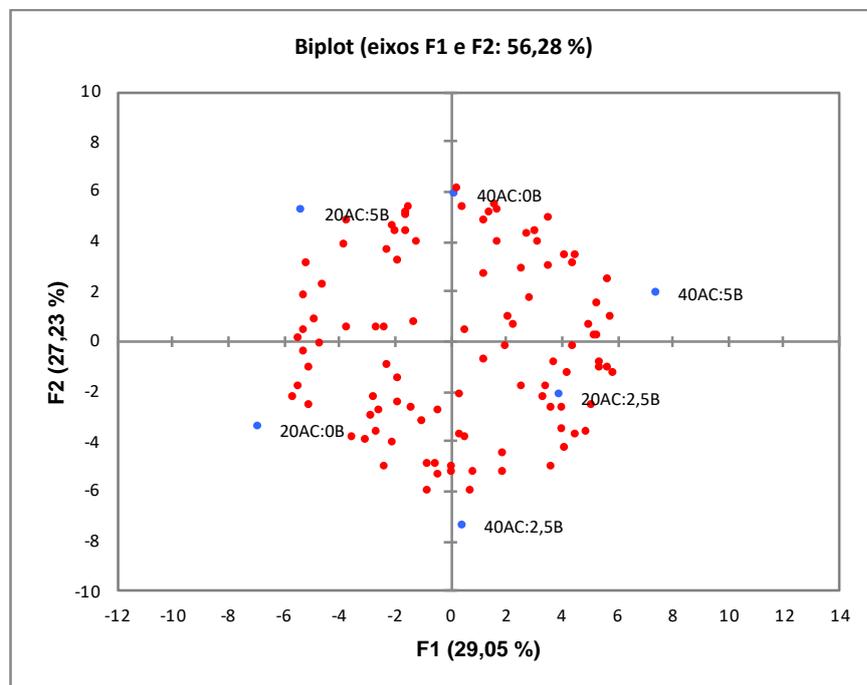


Figura 2: Mapa de preferência interno da aceitação da impressão global segundo consumidores. (azul=amostras de nibs de cacau caramelizado com baunilha e vermelho=consumidores)

A análise de segmentação (*cluster analysis*) é utilizada como um complemento ao mapa de preferência interno para tornar os resultados mais fáceis de interpretar. Após esta análise a partir das médias da aceitação global dos nibs foram identificados três grupos contendo 46, 25 e 30 consumidores por meio dos níveis de similaridades de suas respostas. O dendrograma da análise de segmentação está apresentado na Figura 3. A tabela 4 mostrada acima estão as características demográficas destes grupos, sendo a maioria mulheres e jovens adultos em todos os grupos.

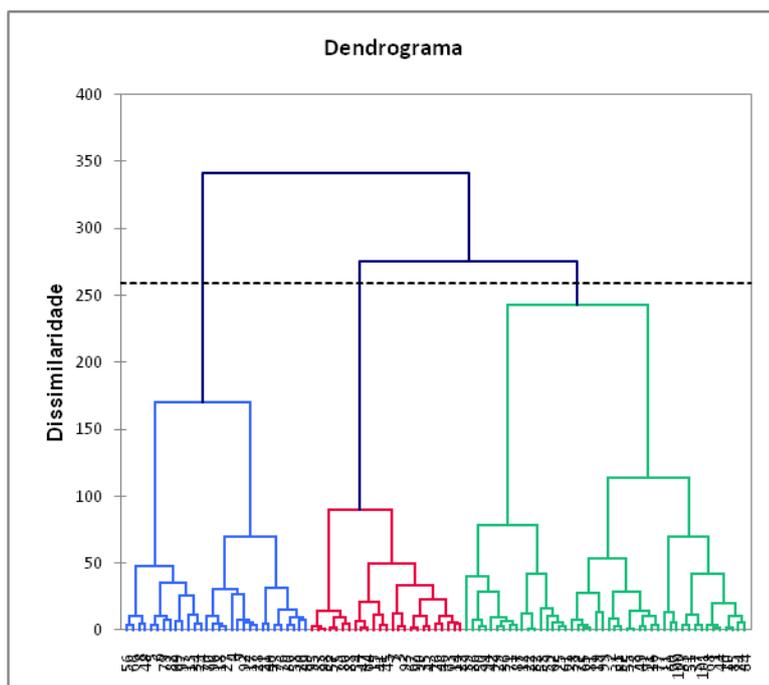


Figura 3: Dendrograma da análise de segmentação para os avaliadores (n = 101) a partir das médias da aceitação global.

As tabelas 6, 7 e 8 que seguem mostram as diferenças significativas entre as amostras de nibs por grupo identificado na análise de segmentação.

Tabela 6: Médias de aceitação do grupo 1 (n=46) para os atributos aparência, aroma, sabor, textura e global dos *nibs* caramelizados com e sem baunilha.

Amostras	Global	Aparência	Aroma	Sabor	Textura
20AC:0B	5,65 ^b	6,26 ^{ab}	6,02 ^b	4,65 ^c	6,45 ^{ab}
20AC:2,5B	5,63 ^b	5,82 ^b	6,52 ^{ab}	4,76 ^c	5,78 ^b
20AC:5B	6,69 ^a	6,91 ^a	7,04 ^a	6,30 ^{ab}	6,97 ^a
40AC:0B	6,91 ^a	5,95 ^{ab}	6,11 ^{ab}	7,06 ^a	7,15 ^a
40AC:2,5B	6,28 ^{ab}	5,21 ^b	6,59 ^{ab}	6,08 ^{ab}	6,32 ^{ab}
40AC:5B	6,21 ^{ab}	5,52 ^b	6,91 ^{ab}	5,73 ^{bc}	6,17 ^{ab}
Pr > F	0,001	0,000	0,008	0,000	0,001
Significativo	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim

*letras iguais na mesma coluna indicam que não houve diferença significativa em nível de 5% pelo teste de Tukey. Escala hedônica estruturada de 9 pontos (1=desgostei extremamente a 9=gostei extremamente).

Da aceitação global (médias de 5,63 a 6,91), os nibs 20AC:5B, 40AC:0B, 40AC:2,5B e 40AC:5B foram igualmente e os mais aceitos, principalmente os dois primeiros. A aparência não mostrou nenhuma tendência clara e definida de preferência. O aroma não mostrou

diferença significativa entre as amostras de nibs com exceção da 20AC:0B que diferiu da 20AC:5B. Quanto ao sabor (médias de 4,65 a 7,06), os nibs 20AC:5B, 40AC:0B e 40AC:2,5B foram os mais aceitos, sem diferença significativa entre si. Estes consumidores não gostaram do sabor das amostras 20AC:0B e 20AC:2,5B, com médias de 4,65 e 4,76, respectivamente. No geral, não houve diferença significativa entre os nibs para a textura. O nib que seria o sugerido pela aceitação deste grupo seria o 20AC:5B.

Tabela 7: Médias de aceitação do grupo 2 (n=25) para os atributos aparência, aroma, sabor, textura e global dos *nibs* caramelizados com e sem baunilha.

Amostras	Global	Aparência	Aroma	Sabor	Textura
20AC:0B	6,52 ^a	6,20 ^a	5,92 ^{bc}	6,40 ^{ab}	6,64 ^{ab}
20AC:2,5B	7,00 ^a	6,84 ^a	7,88 ^a	7,32 ^a	7,16 ^a
20AC:5B	5,04 ^b	5,72 ^{ab}	6,72 ^{bc}	4,32 ^c	5,32 ^b
40AC:0B	5,88 ^{ab}	4,44 ^b	5,72 ^c	5,44 ^{bc}	5,72 ^b
40AC:2,5B	7,04 ^a	5,72 ^{ab}	7,00 ^{ab}	6,88 ^a	6,32 ^{ab}
40AC:5B	6,20 ^{ab}	6,04 ^a	6,68 ^{bc}	6,20 ^{ab}	6,56 ^{ab}
Pr > F	0,000	0,000	0,000	0,000	0,001
Significativo	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim

*letras iguais na mesma coluna indicam que não houve diferença significativa em nível de 5% pelo teste de Tukey. Escala hedônica estruturada de 9 pontos (1=desgostei extremamente a 9=gostei extremamente).

Este grupo 2 é composto por 25 pessoas. As médias deste grupo também apresentaram diferenças significativas entre as amostras para todos os atributos ($p < 0,05$). Para a aceitação global (médias de 5,04 a 7,04), apenas a amostra 20AC:5B, a menos aceita, foi diferente das 20AC:0B, 20AC:2,5B e 40AC:2,5B. A aparência e aroma não mostraram nenhuma tendência de preferência dos consumidores. O sabor (médias de 4,32 a 7,32) mostrou rejeição do nib 20AC:5B e 40AC:0B. O nib seria sugerido como mais aceito para este grupo seria o 20AC:2,5B.

Tabela 8: Médias de aceitação do grupo 3 (n=30) para os atributos aparência, aroma, sabor, textura e global dos *nibs* caramelizados com e sem baunilha.

Amostras	Global	Aparência	Aroma	Sabor	Textura
20AC:0B	5,03 ^a	5,66 ^a	5,26 ^{bc}	3,96 ^a	5,50 ^a
20AC:2,5B	5,56 ^a	5,70 ^a	6,56 ^a	4,66 ^a	5,80 ^a
20AC:5B	5,13 ^a	5,46 ^{ab}	6,56 ^a	4,30 ^a	5,43 ^a
40AC:0B	4,33 ^a	4,33 ^b	5,13 ^c	3,80 ^a	5,33 ^a
40AC:2,5B	4,90 ^a	4,73 ^{ab}	6,40 ^{ab}	4,56 ^a	5,26 ^a
40AC:5B	5,40 ^a	4,93 ^{ab}	6,70 ^a	4,76 ^a	5,00 ^a
Pr > F	0,120	0,013	0,000	0,231	0,649

Significativo	Não	Sim	Sim	Não	Não
---------------	-----	-----	-----	-----	-----

*letras iguais na mesma coluna indicam que não houve diferença significativa em nível de 5% pelo teste de Tukey. Escala hedônica estruturada de 9 pontos (1=desgostei extremamente a 9=gostei extremamente).

Este terceiro grupo é composto por 30 pessoas, caracterizado como o grupo dos que desgostaram dos nibs e dos que não perceberam muita diferença entre os produtos propostos. Observando as médias dos atributos, nota-se que são médias mais baixas que as dadas pelos outros grupos e que não houve diferença significativa para os atributos de aceitação global (médias de 4,33 a 5,56), sabor (médias de 3,80 a 4,76) e textura, e que além disso, em algumas amostras as médias foram baixo de 5, indicando rejeição do produto. Por outro lado, é interessante que para aparência e aroma as amostras tenham sido percebidas diferentemente. O nib 40AC:0B foi o único diferente de 20AC:0B e 20AC:2,5B, o que mostra que pela adição de açúcar em distintas concentrações somente, o consumidor já nota aparências desiguais, e que a adição de baunilha em combinação com o açúcar pode não ter efeito na aceitação da aparência. Do aroma, ficou claro que os consumidores perceberam quando o nib tinha, ou não, a baunilha, no entanto, sem diferença quanto às variadas concentrações de baunilha.

Por fim, a amostra 20AC:2,5B seria uma escolha para desenvolvimento de um nib caramelizado com aroma de baunilha. Principalmente, intencionando um menor teor de açúcar e menor teor de baunilha.

3.4. Caracterização sensorial do *nibs* de cacau caramelizado com e sem baunilha

O levantamento de atributos (Tabela 9) realizado para compor os termos posteriormente usados na análise CATA mostrou que os descritores mais citados pelos participantes foram: sabor adocicado, gosto amargo e crocante, com percentuais de ocorrência superiores a 50%. Os demais termos selecionados para serem incluídos na ficha CATA foram aqueles cuja ocorrência foi acima de 10%. Então, foram selecionados 24 descritores para o *nibs* de cacau caramelizado. Foi utilizada a técnica de lista livre (SANTOS et al., 2015) em que o consumidor foi solicitado de maneira livre escrever todos os termos relacionados para cada uma das amostras quanto a aparência, aroma, sabor e textura. Os provadores tiveram a liberdade de emitir os termos descritivos na quantidade e como desejaram.

Tabela 9: Atributos dos *nibs* de cacau caramelizados levantados pelos 102 consumidores e selecionados para compor a ficha CATA.

APARÊNCIA	SABOR	TEXTURA	AROMA
Açucarado	Cacau	Crocante	Chocolate
Esbranquiçado	Doce	Dura	Café
Cor marrom	Chocolate	Nozes	Caramelo
Escuro	Queimado	Esfarela na boca	
Caramelizado	Baunilha	arenosa	–
Claro	Frutado	–	–
Opaco	Amargo	–	–
–	Adstringente	–	–
–	Residual amargo	–	–

Dos atributos selecionados, os termos foram agrupados em categorias de aparência, sabor, textura e aroma e considerados como um único atributo partindo de termos correlacionados. Por exemplo, gosto doce foi o atributo representativo de açucarado, adocicado, doce, muito doce, pouco doce. Efraim (2009) realizou um levantamento de atributos por método de grade repertória de Kelly, e encontrou termos semelhantes ao deste estudo (amargo, doce, ácido, cacau) para a caracterização de chocolate amargo.

Válquez-Ovando (2015) avaliou diferentes variedades de grão de cacau seco, utilizando o método Análise Descritiva Quantitativa (ADQ) com provadores treinados e encontrou os seguintes descritores: gosto amargo; adstringente; aroma chocolate e aroma de torrado. Descritores desejáveis identificados em amostras como de boa qualidade (doçura, chocolate, nozes, avelãs) e descritores descritivos de baixa qualidade sensorial como acidez, odor e mofo. Thamke et al. (2009) avaliaram pelo método de perfil livre os atributos do chocolate amargo por dois grupos de diferentes países tendo a mesma língua materna. O estudo mostrou que não houve diferenças significativas nos descritores utilizados na avaliação dos produtos. Em ambos os locais, os descritores chaves eram: amargo, doce, ácido, cacau e derretendo na boca.

Na tabela 10 estão apresentadas as frequências dos termos citados pelos consumidores no teste descritivo CATA. Dos descritores avaliados, 9 se mostraram significativamente diferentes entre as amostras. Os atributos que apresentaram diferença significativas entre as amostras de *nibs* de cacau caramelizado com ou sem baunilha foram: gosto amargo, gosto residual amargo, aroma doce, aparência clara e opaca, aparência escura, cor esbranquiçada,

cor marrom e aparência açucarada. O gosto doce não apresentou diferença significativa entre as amostras, indicando que se há 20 ou 40% de açúcar e/ou 0 a 5% de baunilha, não houve diferença. Por outro lado, no gosto amargo, o nib 40AC:0B teve o maior número de citações e o nib 20AC:5B o menor com diferenças entre si ($p < 0,05$).

Tabela 10: Tabela de frequência de termos assinalados pelos consumidores no teste CATA

Atributos	p-valores	20AC:0B	20AC:2.5B	20AC:5B	40AC:0B	40AC:2.5B	40AC:5B
ap.açucarada	0,001	34 ^{bc}	26 ^{abc}	43 ^c	24 ^{abc}	13 ^a	20 ^{ab}
ap.esbranquiçada	0,001	29 ^b	26 ^b	37 ^b	23 ^b	07 ^a	20 ^{ab}
cor.marrom	0,001	09 ^{ab}	15 ^{abc}	06 ^a	3 ^{cd}	34 ^d	24 ^{bcd}
ap.escura	0,002	12 ^a	21 ^{ab}	14 ^{ab}	31 ^b	28 ^{ab}	22 ^{ab}
ap.caramelizada	0,068	31 ^a	25 ^a	24 ^a	18 ^a	15 ^a	21 ^a
ap.opaca	0,051	16 ^a	09 ^a	18 ^a	22 ^a	11 ^a	11 ^a
ap.clara	0,008	29 ^b	23 ^{ab}	23 ^{ab}	15 ^{ab}	11 ^a	15 ^{ab}
a.cacau	0,145	33 ^a	29 ^a	18 ^a	30 ^a	28 ^a	23 ^a
a.doce	0,005	29 ^b	18 ^{ab}	14 ^{ab}	29 ^{ab}	13 ^a	21 ^{ab}
a.chocolate	0,051	28 ^a	24 ^a	29 ^a	40 ^a	23 ^a	22 ^a
a.café	0,471	21 ^a	27 ^a	24 ^a	26 ^a	28 ^a	33 ^a
a.caramelo	0,554	25 ^a	25 ^a	21 ^a	22 ^a	16 ^a	19 ^a
a.baunilha	0,139	24 ^a	14 ^a	21 ^a	29 ^a	20 ^a	19 ^a
s.cacau	0,536	13 ^a	20 ^a	22 ^a	20 ^a	20 ^a	16 ^a
g.doce	0,255	33 ^a	33 ^a	30 ^a	30 ^a	23 ^a	22 ^a
s.chocolate	0,766	30 ^a	23 ^a	27 ^a	31 ^a	31 ^a	28 ^a
s.café	0,375	19 ^a	22 ^a	22 ^a	26 ^a	31 ^a	25 ^a
s.queimado	0,761	21 ^a	24 ^a	21 ^a	27 ^a	27 ^a	27 ^a
s.baunilha	0,779	24 ^a	22 ^a	27 ^a	27 ^a	20 ^a	23 ^a
s.frutado	0,939	24 ^a	25 ^a	25 ^a	28 ^a	24 ^a	22 ^a
g.amargo	0,001	15 ^{ab}	15 ^{ab}	08 ^a	29 ^b	14 ^{ab}	11 ^{ab}
g.residual.amargo	0,002	18 ^a	17 ^a	22 ^{ab}	39 ^b	29 ^{ab}	29 ^{ab}
Adstringente	0,063	23 ^a	21 ^a	21 ^a	37 ^a	26 ^a	27 ^a
esfarela.na.boca	0,742	23 ^a	24 ^a	19 ^a	27 ^a	24 ^a	27 ^a
Crocante	0,067	13 ^a	22 ^a	21 ^a	27 ^a	30 ^a	26 ^a
Dura	0,784	27 ^a	23 ^a	20 ^a	25 ^a	25 ^a	28 ^a
tex.de.nozes.ou.castanhas	0,597	16 ^a	17 ^a	14 ^a	22 ^a	21 ^a	21 ^a
Arenosa	0,967	26 ^a	28 ^a	29 ^a	30 ^a	30 ^a	26 ^a

Estudos na literatura vem sugerindo um aumento da doçura percebida por um aroma (incluindo baunilha), porém existem outros estudos contraditório sugerindo que a avaliação das interações sabor-aroma depende fortemente da resposta cognitiva (ou seja, teste perguntas e instruções) usadas pelos avaliadores na avaliação das amostras. Um estudo usando

classificação de escalas para redução de açúcar mostraram pouco ou nenhum aumento do sabor induzido pela mistura quando os avaliadores são solicitados a avaliar a doçura percebida, bem como a intensidade do aroma percebida (WANG et al., 2018).

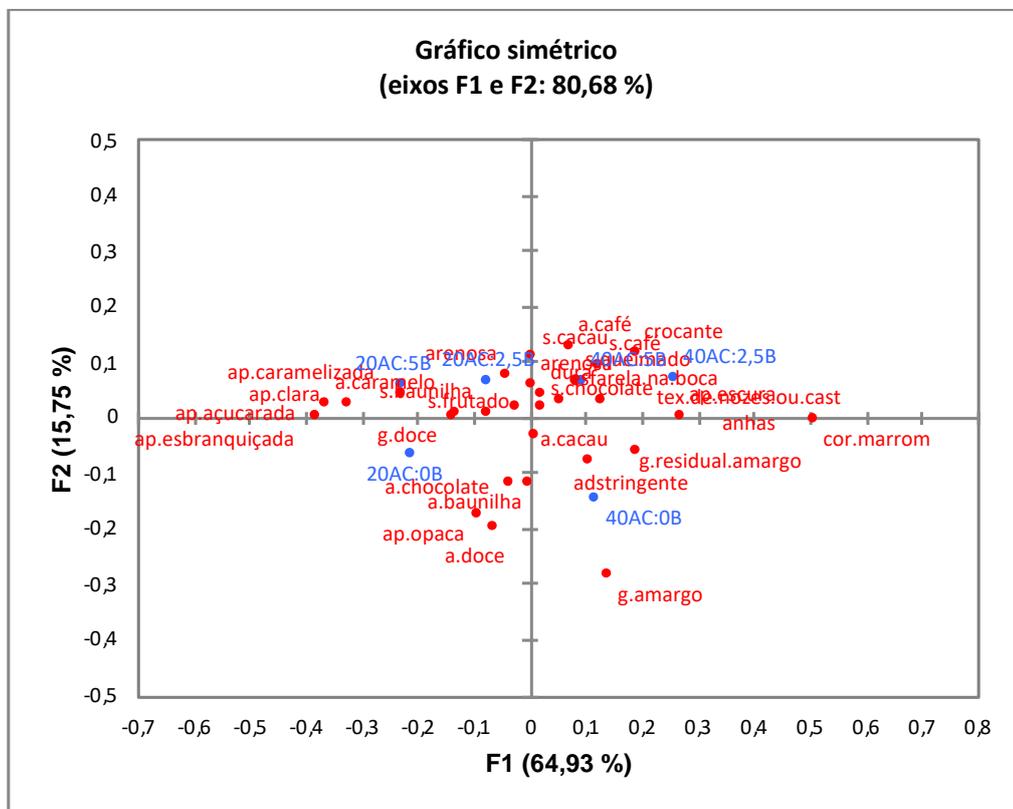


Figura 4: Mapa da análise de correspondência a partir dos dados da metodologia CATA para os nibs de cacau caramelizados com e sem baunilha segundo os avaliadores (n=102) (azul=amostras e vermelho=atributos sensoriais).

A figura 4 apresenta um mapa dos fatores 1 e 2 da análise de correspondência que juntos explicam 80,68% dos dados das características sensoriais dos nibs. Percebe-se claramente uma separação no espaço das amostras com e sem baunilha pelo fator 2 e dos nibs com 20 e 40% de açúcar pelo fator 1 (64,93%). O nib 40AC:0B pode ser sensorialmente descrito pelos atributos adstringente, gosto residual amargo e gosto amargo, características não evidenciadas nas amostras 20AC:2,5B e 20AC:5B, que possuem aparência caramelizada, aparência caramelo, sabor baunilha e gosto doce como perfil sensorial. Já os nibs 40AC:2,5B e 40AC:5B são melhores descritos como aparência escura, sabor cacau, esfarela na boca, crocante e arenosa, embora muitos destes atributos não apresentem diferença significativa entre amostras segundo resultados do teste Q de Cochran apresentado na tabela 10.

4. CONCLUSÃO

Diante dos resultados dos testes sensoriais foi possível concluir que a combinação de açúcar e baunilha são grandes potenciais ingredientes para melhorar a aceitação de nibs de cacau, e que a interação destes pode promover uma redução do teor de açúcar adicionado e ao mesmo tempo uma percepção favorável ao consumidor, principalmente devido a importante influência que o gosto/sabor pode exercer na impressão global e/ou de outros atributos. Os dados mostraram que há diferenças na aceitação de certos atributos quanto à inclusão do açúcar e da baunilha e que os nibs apresentaram também características sensoriais distintas conforme variações na formulação.

Neste estudo foi evidenciado que entre os participantes, diferentes níveis de gostar foram revelados por grupos de consumidores, onde uns tiveram uma aceitação superior a outras pessoas, mostrando que é possível atender a nichos específicos interessados neste tipo de alimento.

A proposta do desenvolvimento do nibs caramelizado com e sem baunilha merece ainda mais pesquisas acerca de embalagens e efeito in vitro das propriedades nutricionais e promissoras do compostos bioativos nele presente após a exposição ao calor e ingredientes agregados. No entanto, para o que foi proposto, o nib caramelizado a 20%, com baunilha a 2,5% é uma das amostras que se apresentou atraente e com potencial para comercialização.

REFERÊNCIAS

AJALA, A. S.; OJEWANDE, K. O. STUDY ON DRYING OF FERMENTATED COCOA BEANS (*Theobroma cacao*). **International Journal of Innovation and Applied Studies**, v. 9, n. 2, p. 931, 2014.

ALCAIRE, Florencia et al. Aroma-related cross-modal interactions for sugar reduction in milk desserts: Influence on consumer perception. **Food research international**, v. 97, p. 45-50, 2017.

CHOLLET, M. et al. Acceptance of sugar reduction in flavored yogurt. *Journal of dairy science*, v. 96, n. 9, p. 5501-5511, 2013.

CARDELLO, H. M. A. B.; DA SILVA, M. A. P. A.; DAMASIO, M. H. Measurement of the relative sweetness of stevia extract, aspartame and cyclamate/saccharin blend as compared to sucrose at different concentrations. **Plant Foods for Human Nutrition**, v.

DREWNOWSKI, Adam. Taste preferences and food intake. *Annual review of nutrition*, v. 17, n. 1, p. 237-253, 1997.

EFRAIM, Priscilla et al. 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. 2009.

EFRAIM, Priscilla et al. Revisão: Polifenóis em cacau e derivados: teores, fatores de variação e efeitos na saúde. **Brazilian Journal of Food Technology**, 2011.

GENOVESE, Maria Inés; LANNES, Suzana Caetano da Silva. Comparison of total phenolic content and antiradical capacity of powders and "chocolates" from cocoa and cupuassu. **Food Science and Technology**, v. 29, n. 4, p. 810-814, 2009.

GERE, Attila et al. Use of JAR-Based Analysis for Improvement of Product Acceptance: A Case Study on Flavored Kefirs. **Journal of food science**, v. 82, n. 5, p. 1200-1207, 2017.

GRAY, Jennifer; ARMSTRONG, Gillian; FARLEY, Heather. Opportunities and constraints in the functional food market. *Nutrition & Food Science*, v. 33, n. 5, p. 213-218, 2003.

GREENHOFF, K.; MACFIE, H. J. H. Preference mapping in practice. In: **Measurement of food preferences**. Springer, Boston, MA, 1994. p.137-166.

HOGENKAMP, Pleunie. Sweetness and satiety. **Flavor, Satiety and Food Intake**, p. 57-88, 2017.

HU, SuJung; KIM, Byung-Yong; BAIK, Moo-Yeol. Physicochemical properties and antioxidant capacity of raw, roasted and puffed cacao beans. *Food chemistry*, v. 194, p. 1089-1094, 2016.

JONES, Peter N.; MACFIE, Halliday JH; BEILKEN, Shane L. Use of preference mapping to relate consumer preference to the sensory properties of a processed meat product (tinned cat food). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 47, n. 1, p. 113-123, 1989.

KESKITALO, Kaisu et al. Sweet taste preferences are partly genetically determined: identification of a trait locus on chromosome 16. **The American journal of clinical nutrition**, v. 86, n. 1, p. 55-63, 2007.

KWIK-URIBE, C. Potential Health Benefits of Cocoa Flavanols. *The Manufacturing Confectioner*, Princeton, v. 85, n. 10, p. 43-49, 2005.

KÜSTER-BOLUDA, I.; VIDAL-CAPILLA, I. Consumer attitudes in the election of functional foods. **Spanish Journal of Marketing-ESIC**, v. 21, p. 65-79, 2017.

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, 7292e7295.

MISNAWI, S. Jinap; JAMILAH, B.; NAZAMID, S. Changes in polyphenol ability to produce astringency during roasting of cocoa liquor. Faculty of Food Science and Biotechnology, UPM Serdang, Selangor, Malaysia.(Doi). www3.interscience.2004.

NISSIM, Ido; DAGAN-WIENER, Ayana; NIV, Masha Y. The taste of toxicity: A quantitative analysis of bitter and toxic molecules. *IUBMB life*, v. 69, n. 12, p. 938-946, 2017.

ORACZ, J.; NEBESNY, E.; ORACZ, J. Antioxidant Properties of Cocoa Beans (*Theobroma cacao* L .): Influence of Cultivar and Roasting Conditions Antioxidant Properties of Cocoa Beans (*Theobroma cacao* L .): Influence of Cultivar and Roasting Conditions. *International Journal of Food Properties*, v. 19, n. 00, p. 1242–1258, 2016

OLIVEIRA, SILVA da C et al. Phenolic compounds, flavonoids and antioxidant activity in different cocoa samples from organic and conventional cultivation. *British Food Journal*, v. 113, n. 9, p. 1094-1102, 2011.

ORTEGA, Nadia et al. Comparative study of UPLC–MS/MS and HPLC–MS/MS to determine procyanidins and alkaloids in cocoa samples. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 23, n. 3, p. 298-305, 2010.

POINOT, Pauline et al. How can aroma–related cross–modal interactions be analysed? A review of current methodologies. **Food Quality and Preference**, v. 28, n. 1, p. 304-316, 2013

PERYAM, David R.; PILGRIM, Francis J. Hedonic scale method of measuring food preferences. **Food technology**, 1957.

ROININEN, Katariina; LÄHTEENMÄKI, L.; TUORILA, Hely. Quantification of consumer attitudes to health and hedonic characteristics of foods. **Appetite**, v. 33, n. 1, p. 71-88, 1999

ROININEN, Katariina; LÄHTEENMÄKI, L.; TUORILA, Hely. Quantification of consumer attitudes to health and hedonic characteristics of foods. **Appetite**, v. 33, n. 1, p. 71-88, 1999.

VARELA, Paula; ARES, Gaston. **Novel techniques in sensory characterization and consumer profiling**. CRC Press, 2014.

THAMKE, Ines; DÜRRSCHMID, Klaus; ROHM, Harald. Sensory description of dark chocolates by consumers. **LWT-Food Science and Technology**, v. 42, n. 2, p. 534-539, 2009.

VINSON, Joe A. et al. Chocolate is a powerful ex vivo and in vivo antioxidant, an antiatherosclerotic agent in an animal model, and a significant contributor to antioxidants in the European and American diets. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 54, n. 21, p. 8071-8076, 2006.

VÁZQUEZ-OVANDO, Alfredo et al. Sensory descriptors of cocoa beans from cultivated trees of Soconusco, Chiapas, Mexico. **Food Science and Technology**, v. 35, n. 2, p. 285-290, 2015.

VARELA, Paula; ARES, Gastón. Sensory profiling, the blurred line between sensory and consumer science. A review of novel methods for product characterization. **Food Research International**, v. 48, n. 2, p. 893-908, 2012.

REFERÊNCIAS REVISÃO DE LITERATURA

ARUNKUMAR, K.; JEGADEESWARI, V. Evaluating the processed beans of different cocoa (*Theobroma cacao* L.) accessions for quality parameters. **Journal of Phytology**, p. 01-04, 2019.

SÁNCHEZ-MORA, Fernando D. et al. Potencial sanitario y productivo de 12 clones de cacao en Ecuador. **Revista fitotecnia mexicana**, v. 38, n. 3, p. 265-274, 2015.

OKIYAMA, Dayane CG; NAVARRO, Sandra LB; RODRIGUES, Christianne EC. Cocoa shell and its compounds: Applications in the food industry. **Trends in Food Science & Technology**, v. 63, p. 103-112, 2017.

MAPA: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. <http://www.agricultura.gov.br/>, ACESSADO EM: 2 julho de 2019.

GRAMACHO, Karina Peres et al. Pathogenic variability of *Moniliophthora perniciosa* in three agroecological zones of the cacao region of Bahia, Brazil. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 16, n. 1, p. 7-13, 2016.

Pereira JL, Ram A, Figueiredo JM & Almeida LCC de (1989) Primeira ocorrência de vassoura-de-bruxa na principal região produtora de cacau do Brasil. *Agrotropica*, 1:79-81

KREIBICH, Heloisa Helena et al. 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. 2016.

EVANS, Harry C. Witches' Broom Disease (*Moniliophthora perniciosa*): History and Biology. In: **Cacao Diseases**. Springer, Cham, 2016. p. 137-177.

MARTINI, M. H. Caracterização das sementes de seis espécies de *Theobroma* em relação ao *Theobroma cacao* L. Tese (Doutorado em Alimentos e Nutrição). Faculdade de Engenharia de Alimentos. Universidade Estadual de Campinas – SP. 2004.

ARGOUT, Xavier et al. The genome of *Theobroma cacao*. **Nature genetics**, v. 43, n. 2, p. 101, 2011.

SALTINI, Rolando; AKKERMAN, Renzo; FROSCH, Stina. Optimizing chocolate production through traceability: A review of the influence of farming practices on cocoa bean quality. **Food control**, v. 29, n. 1, p. 167-187, 2013.

AIPIC. DA REDAÇÃO-AGROANALYSIS, Equipe et al. Aposta na retomada do cacau. **AgroANALYSIS**, v. 37, n. 9, p. 31-35, 2018.

KONGOR, John Edem et al. Factors influencing quality variation in cocoa (*Theobroma cacao*) bean flavour profile—a review. **Food Research International**, v. 82, p. 44-52, 2016.

OLMEDILLA-ALONSO, Begoña; JIMÉNEZ-COLMENERO, Francisco; SÁNCHEZ-MUNIZ, Francisco J. Development and assessment of healthy properties of meat and meat products designed as functional foods. **Meat science**, v. 95, n. 4, p. 919-930, 2013.

VARELA, Paula; ARES, Gaston. **Novel techniques in sensory characterization and consumer profiling**. CRC Press, 2014.

BIEDRZYCKI, A. Aplicação da avaliação sensorial no controle de qualidade em uma indústria de produtos cárneos. 2008. 64f. Monografia (Especialização em Engenharia de Alimentos) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008.

COX, David N.; HENDRIE, Gilly A.; LEASE, Haidee J. Do healthy diets differ in their sensory characteristics?. **Food Quality and Preference**, v. 68, p. 12-18, 2018.

GUTIÉRREZ, Tomy J. State-of-the-Art Chocolate Manufacture: A Review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 16, n. 6, p. 1313-1344, 2017.

SIRO, Istvan et al. Functional food. Product development, marketing and consumer acceptance—A review. **Appetite**, v. 51, n. 3, p. 456-467, 2008.

SZAKÁLY, Zoltán et al. The influence of lifestyle on health behavior and preference for functional foods. **Appetite**, v. 58, n. 1, p. 406-413, 2012.

KATZ, David L.; DOUGHTY, Kim; ALI, Ather. Cocoa and chocolate in human health and disease. **Antioxidants & redox signaling**, v. 15, n. 10, p. 2779-2811, 2011.

ALZAMORA, Stella M. et al. Novel functional foods from vegetable matrices impregnated with biologically active compounds. **Journal of Food Engineering**, v. 67, n. 1-2, p. 205-214, 2005.

OLMEDILLA-ALONSO, Begoña; JIMÉNEZ-COLMENERO, Francisco; SÁNCHEZ-MUNIZ, Francisco J. Development and assessment of healthy properties of meat and meat products designed as functional foods. **Meat science**, v. 95, n. 4, p. 919-930, 2013.

NIVA, Mari. 'All foods affect health': understandings of functional foods and healthy eating among health-oriented Finns. **Appetite**, v. 48, n. 3, p. 384-393, 2007.

KÜSTER-BOLUDA, I.; VIDAL-CAPILLA, I. Consumer attitudes in the election of functional foods. **Spanish Journal of Marketing-ESIC**, v. 21, p. 65-79, 2017.

BARAUSKAITE, Dovile et al. Eating healthy to impress: How conspicuous consumption, perceived self-control motivation, and descriptive normative influence determine functional food choices. **Appetite**, v. 131, p. 59-67, 2018.

BECH-LARSEN, Tino; GRUNERT, Klaus G. The perceived healthiness of functional foods: A conjoint study of Danish, Finnish and American consumers' perception of functional foods. **Appetite**, v. 40, n. 1, p. 9-14, 2003.

VINSON, Jack R.; SIERAKOWSKI, Robert L. **The behavior of structures composed of composite materials**. Springer Science & Business Media, 2006.

DEMROW, Heather S.; SLANE, Peter R.; FOLTS, John D. Administration of wine and grape juice inhibits in vivo platelet activity and thrombosis in stenosed canine coronary arteries. **Circulation**, v. 91, n. 4, p. 1182-1188, 1995.

REIN, Dietrich et al. Epicatechin in human plasma: in vivo determination and effect of chocolate consumption on plasma oxidation status. **The Journal of nutrition**, v. 130, n. 8, p. 2109S-2114S, 2000.

EFRAIM, Priscilla et al. Revisão: Polifenóis em cacau e derivados: teores, fatores de variação e efeitos na saúde. **Brazilian Journal of Food Technology**, 2011.

GÜLTEKIN-ÖZGÜVEN, Mine; BERKTAŞ, Ijlal; ÖZÇELİK, Beraat. Change in stability of procyanidins, antioxidant capacity and in-vitro bioaccessibility during processing of cocoa powder from cocoa beans. **LWT-Food Science and Technology**, v. 72, p. 559-565, 2016.

PIMENTEL

WOLLGAST, Jan; ANKLAM, Elke. Polyphenols in chocolate: is there a contribution to human health?. **Food Research International**, v. 33, n. 6, p. 449-459, 2000.

DE SOUZA, Volnei Brito et al. Functional properties and stability of spray-dried pigments from Bordo grape (*Vitis labrusca*) winemaking pomace. **Food chemistry**, v. 164, p. 380-386, 2014.

ZIEGLEDER, G. Flavour development in cocoa and chocolate. **Industrial chocolate manufacture and use**, p. 169-191, 2009.

LEITE, PAULA BACELAR. **Caracterização de chocolates provenientes de variedades de cacau *Theobroma cacao* L. resistentes a vassoura de bruxa**. 2012. Tese de Doutorado. Dissertação (Mestrado)-Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, Universidade Federal da Bahia, Salvador.

KIM, Dae-Ok; JEONG, Seung Weon; LEE, Chang Y. Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. **Food chemistry**, v. 81, n. 3, p. 321-326, 2003.

WANG, Tian-yang; LI, Qing; BI, Kai-shun. Bioactive flavonoids in medicinal plants: Structure, activity and biological fate. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 13, n. 1, p. 12-23, 2018.

VERMERRIS, Wilfred; NICHOLSON, Ralph. Families of phenolic compounds and means of classification. In: **Phenolic compound biochemistry**. Springer, Dordrecht, 2008. p. 1-34.

ALVES, Miguel Maria Caeiro. **Polifenóis no vinho tinto e efeitos na saúde**. 2015. Tese de Doutorado.

BAIÃO, Diego et al. Polyphenols from root, tubercles and grains cropped in Brazil: Chemical and nutritional characterization and their effects on human health and diseases. **Nutrients**, v. 9, n. 9, p. 1044, 2017.

PÉREZ-JIMÉNEZ, Jara; SAURA-CALIXTO, Fulgencio. Fruit peels as sources of non-extractable polyphenols or macromolecular antioxidants: Analysis and nutritional implications. **Food research international**, v. 111, p. 148-152, 2018.

DI MATTIA, Carla D. et al. From cocoa to chocolate: The impact of processing on in vitro antioxidant activity and the effects of chocolate on antioxidant markers in vivo. **Frontiers in immunology**, v. 8, p. 1207, 2017.

PEDAN, Vasilisa et al. Determination of oligomeric proanthocyanidins and their antioxidant capacity from different chocolate manufacturing stages using the NP-HPLC-online-DPPH methodology. **Food chemistry**, v. 214, p. 523-532, 2017.

MOUNJOUENPOU, Pauline et al. Temperature/duration couples variation of cocoa beans roasting on the quantity and quality properties of extracted cocoa butter. **Annals of Agricultural Sciences**, v. 63, n. 1, p. 19-24, 2018.

D'SOUZA, Roy N. et al. Origin-based polyphenolic fingerprinting of Theobroma cacao in unfermented and fermented beans. **Food research international**, v. 99, p. 550-559, 2017.

AFOAKWA, E. O. et al. Flavor formation and character in cocoa and chocolate: A critical review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, v. 48, n. 9, p. 840–857, 2008

ŻYŻELEWICZ, Dorota et al. The influence of the roasting process conditions on the polyphenol content in cocoa beans, nibs and chocolates. ***Food Research International***, v. 89, p. 918-929, 2016.

EFRAIM, Priscilla et al. Influência da fermentação e secagem de amêndoas de cacau no teor de compostos fenólicos e na aceitação sensorial. ***Food Science and Technology (Campinas)***, 2010.

ESTEBAN-TORRES, María et al. Characterization of a halotolerant lipase from the lactic acid bacteria *Lactobacillus plantarum* useful in food fermentations. ***LWT-Food Science and Technology***, v. 60, n. 1, p. 246-252, 2015.

CAMU, Nicholas et al. Fermentation of cocoa beans: influence of microbial activities and polyphenol concentrations on the flavour of chocolate. ***Journal of the Science of Food and Agriculture***, v. 88, n. 13, p. 2288-2297, 2008.

KONGOR, John Edem et al. Factors influencing quality variation in cocoa (*Theobroma cacao*) bean flavour profile—a review. ***Food Research International***, v. 82, p. 44-52, 2016.

PEREIRA-CARO, Gema et al. Profiles of phenolic compounds and purine alkaloids during the development of seeds of *Theobroma cacao* cv. Trinitario. ***Journal of agricultural and food chemistry***, v. 61, n. 2, p. 427-434, 2012.

OKIYAMA, Dayane CG; NAVARRO, Sandra LB; RODRIGUES, Christianne EC. Cocoa shell and its compounds: Applications in the food industry. ***Trends in Food Science & Technology***, v. 63, p. 103-112, 2017.

SILVA, Adriana Reis de Andrade et al. Caracterização de amêndoas e chocolate de diferentes variedades de cacau visando a melhoria da qualidade tecnológica. 2013.

ANEXOS

(ANEXO 1) Ficha de avaliação da aceitação global

TESTE SENSORIAL - UNIRIO

Data: ____/____/____. Número: _____

1) Por favor, avalie a amostra de **NIBS DE CACAU** _____. Use a escala abaixo para indicar o quanto você GOSTOU ou DESGOSTOU dela.

9- gostei extremamente	Impressão global	_____
8- gostei muito		
7- gostei moderadamente	Aparência	_____
6- gostei ligeiramente		
5- nem gostei / nem desgostei	Aroma	_____
4- desgostei ligeiramente		
3- desgostei moderadamente	Sabor	_____
2- desgostei muito		
1- desgostei extremamente	Textura	_____

(ANEXO 2) Ficha de avaliação da aceitação global e CATA

Entre as características sensoriais em **NEGRITO** abaixo, marque aquela(s) que melhor descreve(m) este produto em sua opinião. Marque quantas características achar aplicável.

Deixe em branco, se não identificar a característica no produto.

Na característica marcada, nas opções ao lado, marque a **QUANTIDADE** que consegue identificar desta característica no produto.

CARACTERÍSTICA SENSORIAL

- APARÊNCIA
- açucarada**
 - branca/esbranquiçada**
 - cor marrom**
 - escura**
 - caramelizada**
 - opaca/fosca**
 - clara**

AROMA

- de cacau**
- doce**
- chocolate**
- café**
- caramelo**
- baunilha**

SABOR ou

- de cacau**

GOSTO

- doce**
- de chocolate**
- de café**
- de queimado**
- de baunilha**
- frutado**
- amargo**

PERCEPÇÃO

- gosto residual amargo**

BUCAL

- adstringente**
- esfarela na boca**

TEXTURA

- crocante**
- dura**
- de nozes ou castanha**
- arenosa**

(ANEXO 3) Questionário

Questionário

1- Você já havia consumido *Nibs* de cacau?

Sim

Não

Se **SIM**, de que forma?

Puro

Em receitas culinárias (bolos, pães, tortas...)

Adicionado a frutas e iogurtes

Outros _____

2- Incluiria na sua Dieta acessível?

Sim

Não - caso está seja sua resposta vá para questão 4

3- Em qual ocasião você consumiria? Café-da-manhã

Lanche da tarde

Snack/Petiscos

Preparações culinária

Outros _____

4- O quão saudável você acha que o *nibs* de cacau é?

Pouco saudável

Muito

saudável

1 []

2 []

3 []

4 []

5 []

]

Sexo: Masculino

Feminino

Idade:
