

CAPACIDADE ANTIOXIDANTE E TEOR DE POLIFENÓIS EM CHOCOLATES: IMPACTO DA FERMENTAÇÃO E TRATAMENTOS TÉRMICO E ÁCIDO

Sarah Arruda Fiorido, Ruth Vieira de Aguiar, Maria Emília Rodrigues Valente, Pollyanna Ibrahim Silva, Sérgio Henriques Saraiva.

Universidade Federal do Espírito Santo, Alto Universitário, S/N, Guararema – 29500-000, Alegre – ES, Brasil, sara.arruda.fiorido@gmail.com, ruthhaguiar@gmail.com, maria.valente@ufes.br, pollyanna.silva@ufes.br, sergio.saraiva@ufes.br.

Resumo

O presente estudo avaliou os efeitos da subfermentação (72 h) e da ausência de fermentação nas características físico-químicas (pH e cor), no teor de fenólicos totais, pelo método de Folin-Ciocalteu e na capacidade antioxidante, pelos métodos de DPPH e ABTS, de líquidos e chocolates elaborados com amêndoas submetidas a branqueamento (95 °C/5 min) e tratamento com ácido cítrico (1,5 M/5 min). A subfermentação não promoveu alterações relevantes, exceto no pH dos. Os produtos apresentaram tonalidades púrpura-avermelhadas, com teores médios de polifenóis de 127,21 mg EAG/g (líquidos) e 48,67 mg EAG/g (chocolates). A capacidade antioxidante média foi de 1417,97 e 6147,34 µmol TE/g (DPPH e ABTS, respectivamente) nos líquidos e 362,31 e 1023,05 µmol TE/g nos chocolates. Conclui-se que a utilização de amêndoas não fermentadas é mais promissora pela maior preservação dos compostos bioativos e aproveitamento da polpa.

Palavras-chave: Polifenóis. Cacau. Compostos bioativos.

Área do Conhecimento: Ciências da Saúde - Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Introdução

O cacau (*Theobroma cacao*), fruto nativo da bacia Amazônica, é a principal matéria-prima do chocolate, alimento amplamente consumido em nível mundial. Suas amêndoas apresentam elevado teor de polifenóis, que representam cerca de 10% do peso seco, destacando-se flavanóis (epicatequina, catequina, procianidinas, antocianinas), flavonóis (quercetina e derivados) e ácidos fenólicos (Żyżelewicz et al., 2018). Esses compostos, especialmente epicatequina, catequina e procianidinas, apresentam propriedades antioxidantes, antimicrobianas, anti-inflamatórias, antiaterogênicas e cardioprotetoras, associadas à prevenção de doenças crônicas, como câncer, doenças coronarianas e neurodegenerativas (Żyżelewicz et al., 2018; Febrianto & Zhu, 2019).

Durante o processamento, entretanto, ocorre redução significativa no teor de polifenóis. Na fermentação, esses compostos sofrem polimerização e interações com proteínas, resultando em derivados menos solúveis, enquanto antocianinas são hidrolisadas e convertidas em taninos, levando ao desaparecimento quase completo desse pigmento responsável pela cor vermelho-violeta das sementes (Żyżelewicz et al., 2014).

A demanda por produtos diferenciados impulsionou a busca por processos que preservem compostos bioativos e mantenham colorações alternativas das amêndoas, explorando o uso de sementes subfermentadas ou não fermentadas (Kealey et al., 1998; Kealey et al., 2004; Rizo, 2006; Becerra et al., 2023). Esse cenário ganhou destaque com o lançamento do chocolate Ruby em 2017, pela Barry Callebaut, caracterizado por cor rosada, sabor frutado e elevado teor de polifenóis, obtido sem adição de corantes artificiais. Embora o processo industrial seja protegido por patente, sabe-se que envolve amêndoas subfermentadas (até 3 dias) ou não fermentadas, submetidas a tratamento ácido (Ferreira et al., 2021; Fistarol & Moraes, 2019; Montoya et al., 2021; Tuentner et al., 2021).

Diante disso, o presente estudo tem como objetivo avaliar o efeito da subfermentação em amêndoas de cacau submetidas a branqueamento e tratamento com ácido cítrico, considerando parâmetros de cor, pH, teor de fenóis totais e capacidade antioxidante em massas de cacau e chocolates.

Metodologia

O cacau foi obtido no Instituto Federal do Espírito Santo – Campus Alegre. Após pré-seleção e lavagem em água corrente, os frutos foram abertos, as sementes removidas e destinadas aos tratamentos experimentais: sem fermentação e subfermentação (72 h), com duas repetições.

As sementes não fermentadas seguiram para despulpamento por fricção em tela de náilon. Em seguida, foram branqueadas em água a 95 °C por 5 min (1:50, m/v) e submetidas a choque térmico em água a 18 a 20 °C por 20 min, conforme Montoya et al. (2021). O tratamento ácido consistiu na imersão em solução de ácido cítrico 1,5 M (1:2, m/v) por 5 min, seguido de lavagem e secagem em estufa a 50 °C até peso constante.

Já as sementes subfermentadas, foram inicialmente colocadas em caixas de isopor perfuradas para drenagem do exsudato, sendo a massa revolvida uma vez no tempo de 48 horas. O processo foi interrompido no tempo de 72 horas, sendo as sementes conduzidas às etapas de despulpamento e branqueamento descritas anteriormente.

As amêndoas secas (não fermentadas e subfermentadas) foram torradas a 100 °C por 10 min, visando teor de umidade próximo a 2%. Em seguida, foram descascadas, moídas em melanger até granulometria média de 25 µm, originando três liquores: o primeiro obtido de amêndoas exclusivamente não fermentadas, o segundo unicamente de amêndoas subfermentadas e o terceiro por um blend 50:50 de amêndoas não fermentadas e subfermentadas. Os liquores foram armazenados a -18 °C até as análises.

A partir dos liquores descritos acima, foram elaboradas, respectivamente, três formulações de chocolate com 35% de liquor, 30% de açúcar, 19,6% de leite em pó, 15% de manteiga de cacau e 0,4% de lecitina de soja. Os chocolates foram produzidos em melanger até 25 µm de granulometria. As amostras foram armazenadas em freezer (-18 °C).

O pH foi determinado em triplicata a partir de 10 g de amostra triturada diluída em 100 mL de água destilada (IAL, 2008), em pHmetro. A cor foi avaliada em amostras fundidas (45 a 50 °C) e resfriadas a 27 °C (Andrade, 2018), com leitura em colorímetro (Konica Minolta CM-5), segundo os sistemas CIE L*a*b* e L*C*h.

Para análises de compostos fenólicos e capacidade antioxidante, as amostras foram desengorduradas com n-hexano (1:10, m/v), segundo metodologia de Gültekin-Özgüven et al (2016). O extrato foi obtido a partir de 0,5 g de amostra desengordurada em 25 mL da mistura água:acetona:metanol (49:45:6, v/v/v), conforme metodologia descrita por Efraim et al. (2006, 2011), com modificações.

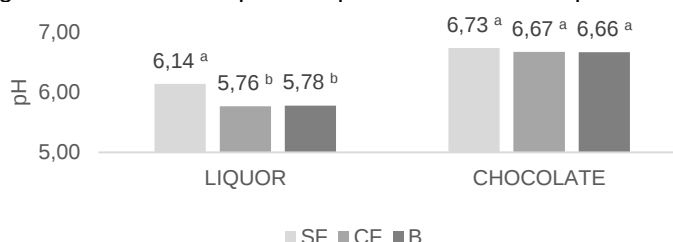
O teor de fenólicos totais foi determinado pelo método de Folin-Ciocalteu (Singleton; Rossi, 1965), expresso em mg EAG/g (base seca). A capacidade antioxidante foi mensurada pelos métodos DPPH, segundo Silveira et al. (2018) e ABTS segundo Brito et al. (2017), sendo os resultados expressos em µmol TE/g.

Os efeitos da subfermentação sobre as variáveis resposta, em liquores e chocolates, foram avaliados por análise de variância e teste de Tukey ($p \leq 0,05$), utilizando o software Statistica.

Resultados

Os valores de pH dos liquores e chocolates produzidos a partir de amêndoas não fermentadas (SF), subfermentadas (CF) e por um blend de amêndoas não fermentadas e subfermentadas (B) estão apresentados na Figura 1.

Figura 1 – Valores de pH de liquores e chocolates produzidos.



Fonte: elaborado pelos autores.

Os parâmetros de cor das amostras estão apresentados na Figura 2. Não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos ($p > 0,05$), tanto para os chocolates quanto para os licores.

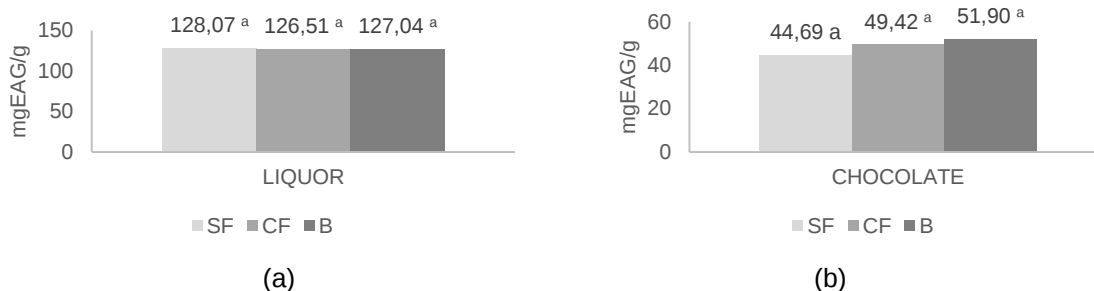
Figura 2 – Parâmetros de cor dos licores e chocolates produzidos.



Fonte: elaborado pelos autores.

O teor de compostos fenólicos totais obtidos nos licores e chocolates está apresentado na Figura 3. Não houve diferença significativa entre os tratamentos ($p > 0,05$) tanto para chocolates quanto para licores.

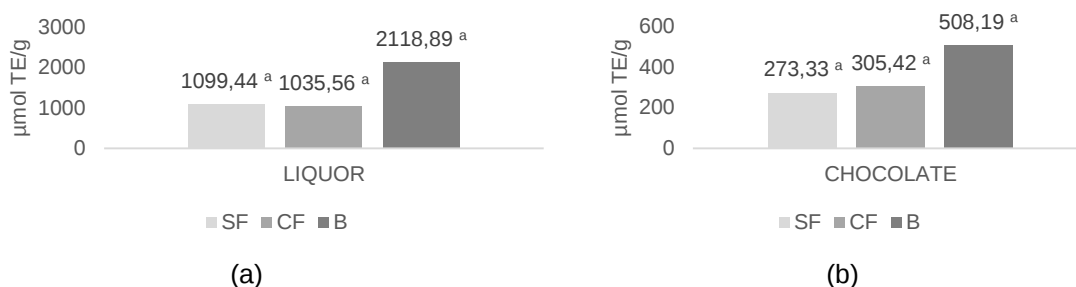
Figura 3 – Teores de polifenóis totais (mg AGE/g) de licores (a) e chocolates (b).

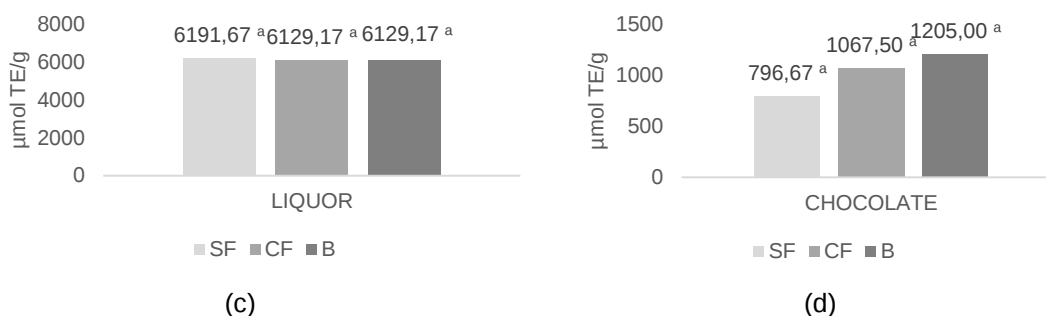


Fonte: elaborado pelos autores.

A Figura 4 apresenta os resultados obtidos das análises da capacidade antioxidante realizadas nos licores e chocolates. Não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos ($p > 0,05$), tanto para os chocolates quanto para os licores.

Figura 4 – Capacidade antioxidante ($\mu\text{mol TE/g}$) para as análises de ABTS (a, b) e DPPH (c, d) dos licores e chocolates.





Fonte: elaborado pelos autores.

Discussão

Para análise de pH houve diferença significativa apenas entre os licores ($p \leq 0,05$), ocasionada possivelmente pela subfermentação de 3 dias, a qual promove acúmulo de ácido acético nos cotilédones, reduzindo o pH das amêndoas (Ferreira *et al.*, 2021). O valores de pH para os chocolates são mais altos que dos licores uma vez que há adição de outros ingredientes com o pH mais básico, ocorrendo um efeito de diluição do liquor nestes ingredientes.

A análise de cor indica que as amostras são escuras (valores de L^* inferiores a 50), os parâmetros a^* e b^* permitem inferir que as amostras apresentam coloração predominantemente avermelhada, e, em associação com os valores negativos ou reduzidos de b^* , resulta em tons púrpura ou arroxeados. A análise dos parâmetros C^* e h^* , indicam que as amostras apresentam baixa saturação, apresentando-se apagadas ou acinzentadas, e com matiz na faixa do vermelho ao magenta o que sugere a presença de tons vermelho arroxeado nas amostras. Esse comportamento é compatível com a presença de antocianinas, cuja preservação pode ser atribuída aos tratamentos térmico e ácido aplicado às amêndoas de cacau (Becerra *et al.*, 2023; Dantas, Silva, 2018).

A ausência de diferença estatística ($p > 0,05$) nos teores de compostos fenólicos totais, tanto nos licores quanto nos chocolates sugerem que, nas condições experimentais adotadas, a fermentação parcial não foi um fator determinante para a variação dos fenólicos presentes nos produtos finais. Estudos de Brito *et al.* (2017), Casotti (2024), Ramôa Júnior (2011) e Silva e Barbosa (2023), demonstram que o teor destes compostos nas amêndoas de cacau tende a diminuir ao longo do processo fermentativo, sendo observadas maiores concentrações em amêndoas não fermentadas ou com tempos curtos de fermentação. Na metodologia empregada, a formulação do chocolate foi composta por 35% de liquor de cacau, o que implica em uma diluição direta de mais de dois terços em relação ao liquor, logo, o conteúdo fenólico presente nos chocolates tende a ser reduzido proporcionalmente à quantidade de nibs utilizado.

No estudo, verificou-se que a subfermentação de 72 horas não exerceu influência significativa ($p > 0,05$) sobre a capacidade antioxidante de licores e chocolates. Estudos de Casotti (2024) e Ramôa Júnior (2011) indicam que a capacidade antioxidante das amêndoas de cacau não apresentam variações significativas durante as primeiras 72 horas do processo fermentativo. E de forma análoga à quantidade de compostos fenólicos presentes nas amostras, a capacidade antioxidante, também é reduzida durante o processo de febricação dos chocolates devido a adição de leite em pó e açúcar, além da quantidade de liquor utilizado na formulação.

Conclusão

Com base nos resultados obtidos, conclui-se que a fermentação de 72 horas não apresentou efeitos significativos na maioria dos parâmetros analisados, com exceção do pH dos licores, que apresentou redução em comparação às amêndoas não fermentadas. Dessa forma, a utilização de amêndoas não fermentadas demonstrou ser uma alternativa mais viável, permitindo o aproveitamento da polpa e agregando valor à cadeia produtiva do cacau.

Referências

BECERRA, L. D.; QUINTANILLA-CARVAJAL, M. X.; ESCOBAR, S.; RUIZ, R. Y. Correlation between color parameters and bioactive compound content during cocoa seed transformation under controlled process conditions. **Food Bioscience**, V. 53, 102526, June 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.102526>.

BRITO, B. N. C.; CHISTÉ, R. C.; PENA, R. S.; GLORIA, M. B. A.; LOPES, A. S. Bioactive amines and phenolic compounds in cocoa beans are affected by fermentation. **Food Chemistry**, v. 228, p. 484-490, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.02.004>.

CASOTTI, B. N. **Características físico-químicas, compostos fenólicos, capacidade antioxidante e atividade da polifenoloxidase durante a fermentação de cacau (*Theobroma cacao* L.)** cultivado no Espírito Santo. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, 2024. Disponível em: <http://repositorio.ufes.br/handle/10/17693>. Acesso em: 15 jan. 2025.

DANTAS, T. B.; SILVA, S. M. R. Identificação da enzima peroxidase e de microrganismos patogênicos em açaí (*Euterpe oleracea* M) após o processamento de branqueamento. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindústria**, v. 12, n.2, 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.3895/rbta.v12n2.7468>.

EFRAIM, P.; TUCCI, M. L.; PEZOA-GARCÍA, N. H. Phenolic Compound Content in Cocoa Seeds from Different Genotypes. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 9, n. 4, p. 229–236, 2006.

EFRAIM, P.; ALVES, A. B.; JARDIM, D. C. P. Revisão: Polifenóis em cacau e derivados: teores, fatores de variação e efeitos na saúde. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 14, p. 181-201, 2011. DOI: <https://doi.org/10.4260/BJFT2011140300023>.

FEBRIANTO, N. A.; ZHU, F. Diversity in composition of bioactive compounds among 26 cocoa genotypes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 67, n. 34, p. 9501–9509, 2019, Aug. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b03448>.

FERREIRA, B. C. F.; PIEREZAN, M. D.; MALAGHINI, C. M. E.; MANASSI, C. F.; VERRUCK, S. Processamento de cacau e chocolate: influência sobre a qualidade do produto final. In: VERRUCK, S. (Org.). **Avanços em Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Vol 5. 1 ed. Guarujá, SP: Editora Científica Digital, 2021. Cap. 23, p. 300-334. DOI: <https://doi.org/10.37885/211106835>.

FISTAROL, E. R.; MORAES, B. K. B. **Índice de aceitabilidade e intenção de compra de chocolate tradicional e de chocolate rubi**. 2019. Disponível em: <https://repositorio.uergs.edu.br/xmlui/handle/123456789/1041>. Acesso em 15 jun. 2023.

GÜLTEKIN-ÖZGÜVEN, M.; BERKTAŞ, I.; ÖZÇELİK, B. Change in stability of procyanidins, antioxidante capacity and in-vitro bioaccessibility during processing of cocoa powder from cocoa beans. **Food Science and Technology**, v. 72, p. 559-565, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.04.065>.

IAL. Instituto Adolfo Lutz. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4 ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. 1020 p. Disponível em: <https://www.ial.sp.gov.br/ial/publicacoes/livros/metodos-fisico-quimicos-para-analise-de-alimentos>. Acesso em: 10 fev. 2025.

KEALEY, K. S.; SNYDER, R. M.; ROMANCZYK JR, L. J.; GEYER, H. M.; MYERS, M. E.; WHITACRE, E. J.; HAMMERSTONE JR, J. F.; SCHMITZ, H. H. Mars Incorporated. **Cocoa components, edible products having enhanced polyphenol content, methods of making same medical uses**. Patent Corporation Treaty (PCT) WO 98/09533, 1998.

KEALEY, K. S.; SNYDER, R.; ROMANCZYK, L. HAMMERSTON, J.; BUCK, M.; CIPOLLA, G. **Mars Incorporated. Method for producing fat and/or solids from beans and compositions containing polyphenols.** US Patent Application 2004/0058022, 2004.

MONTOYA, C. C.; VALENCIA, W. G.; SIERRA, J. A.; PENAGOS, L. Enhanced pink-red hues in processed powders from unfermented cacao beans. **Lwt**, v. 138, 110671, Mar. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110671>.

RAMÔA JÚNIOR, A. G. A. **Comportamento cinético de compostos polifenólicos e enzimas oxidativas na fermentação de cacau da Amazônia.** 2011. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Pará, Belém, 2011. Disponível em: <https://ppgcta.propesp.ufpa.br/index.php/br/teses-e-dissertacoes/dissertacoes/45-2009>. Acesso em: 15 jan. 2025.

RIZO, D. C. Barry Callebaut confirma el poder de los polifenoles en el chocolate. **Dulcelandia**, v. 65, n. 789, p. 33-37, 2006.

SILVA, B. S. R.; BARBOSA, L. Z. **Influência do tempo de fermentação e processamento do cacau no teor de compostos fenólicos e atividade antioxidante de chocolate artesanal.** Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, 2023.

SILVEIRA, A. C.; KASSUIA, Y. S.; DOMAHOVSKI, R. C.; LAZZAROTTO, M. **Método de DPPH adaptado: uma ferramenta para analisar atividade antioxidante de polpa de frutos da erva-mate de forma rápida e reprodutível.** Colombo, PR: Embrapa Florestas, 2018, p. 11. Disponível em: <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1101294>.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolydic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, p. 144-158, 1965. DOI: <https://doi.org/10.5344/ajev.1965.16.3.144>.

TUENTER, E.; SAKAVITSI, M. E.; RIVERA-MONDRAGÓN, A.; HERMANS, N.; FOUBERT, K.; HALABALAKI, M.; PIETERS, L. Ruby chocolate: A study of its phytochemical composition and quantitative comparison with dark, milk and white chocolate. **Food Chemistry**, v. 343, 128446, May 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128446>.

ŻYŻELEWICZ, D.; BUDRYN, G.; ORACZ, J.; ANTOLAK, H.; KRĘGIEL, D.; KACZMARSKA, M. The effect on bioactive components and characteristics of chocolate by functionalization with raw cocoa beans. **Food Research International**, v. 113, p. 234–244, Nov. 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.07.017>.

ZYZELEWICZ, D.; KRYSIAK, W.; NEBESNY, E.; BUDRYN, G. Application of various methods for determination of the color of cocoa beans roasted under variable process parameters. **European Food Research and Technology**, v. 238, p. 549–563, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00217-013-2123-6>.