

AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS DE QUALIDADE DE CACAU EM PÓ E CHOCOLATES COMERCIAIS.

REJANE VANESSA DA **SILVA**¹; APARECIDA SÔNIA DE **SOUZA**²; VERA SÔNIA
NUNES DA **SILVA**³; MARIA TERESA BERTOLDO **PACHECO**³; ANA MARIA RAUEN
DE OLIVEIRA **MIGUEL**³;
Nº 12244

RESUMO

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a qualidade de cacau em pó e chocolates comerciais através da determinação de umidade por secagem em estufa a 105°C até peso constante, pH com leitura em pHmetro, teor de lipídeos com hidrólise prévia e extração em extrator de Soxhlet, atividade da enzima lipase pelo método titulométrico e determinação da composição em ácidos graxos por cromatografia gasosa. Foram avaliadas 25 amostras de cacau em pó e chocolates provenientes de várias empresas brasileiras processadoras de cacau e derivados foram analisadas. Sendo 7 de cacau em pó lecitinado, 4 de cacau em pó alcalino, 8 de cacau em pó natural e 6 de chocolates. Os dados obtidos permitiram concluir que das 19 amostras analisadas de cacau em pó, 18 continham teores de umidade acima de 5%, sendo este um fator crítico na qualidade do produto, pois pode possibilitar o crescimento microbiano. O pH e o teor de lipídeos para todas as amostras analisadas apresentaram-se dentro dos valores encontrados na literatura. As amostras de chocolate quando comparadas com as do cacau em pó apresentaram maior teor do ácido graxo láurico (C12:0). No entanto, os resultados da atividade da enzima lipase mostraram não ter correlação com a composição de ácidos graxos apresentada pela amostras de cacau em pó e chocolate.

¹ Bolsista CNPq: Graduação em Eng. de Alimentos, FAJ, Jaguariúna-SP, rejanevan@yahoo.com.br.

² Orientadora: Pesquisadora, CCQA/ITAL, Campinas-SP.

³ Colaboradora: Pesquisadora, CCQA/ITAL, Campinas-SP.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the quality of cocoa powder and commercial chocolate by moisture determination by drying at 105 °C to constant weight, pH reading on pH meter, the lipid content with prior hydrolysis and extraction in extractor Soxhlet, lipase activity by titration method and determination of fatty acid composition by gas chromatography. We evaluated 25 samples of cocoa powder and chocolates from various Brazilian companies processing of cocoa and derivatives. The samples analyzed were: seven of lecithinated cocoa powder, four of cocoa powder in alkali, eight of natural cocoa powder and six of chocolate. The data obtained showed that among the 19 samples analyzed, 18 contained moisture content above 5%, which is a critical factor in product quality, as it may allow microbial growth. The pH and lipids for all samples were within the values found in literature. The chocolate samples compared with those of cocoa powder had higher lauric fatty acid content (C12: 0). However, the results of lipase enzyme activity showed no correlation with the fatty acid composition for both samples of cocoa powder and chocolate.

INTRODUÇÃO

O mercado chocolate, a nível mundial, movimenta em torno de US\$ 60 bilhões/ano, segundo dados da ABICAB, sendo prevista a expansão deste negócio. Verifica-se a tendência para o consumo de produtos com alto teor de cacau, motivados pelas suas características funcionais e possíveis benefícios à saúde. Para seguir a tendência de mercado tornam-se necessárias algumas alterações no processo produtivo, pois o sabor das amêndoas do cacau é influenciado pelas condições onde ela é processada. Todas as etapas, desde os cuidados com os cacaueiros até a fermentação e secagem das sementes podem ser responsáveis por até 50% das características organolépticas (principalmente sobre o sabor e o aroma) do chocolate. Nas etapas de processamento do cacau as perdas de qualidade sensorial derivam da fermentação incompleta das amêndoas, processo que normalmente ocorre de maneira espontânea, desencadeado por fungos naturalmente presentes nos frutos (LEAL, 2008). Esses microrganismos também ocupam papel importante na fase de fermentação e processamento do cacau, pois favorecem reações bioquímicas responsáveis pelo aroma, cor e sabor do chocolate (ARDHANA & FLEE, 2003). Uns dos produtos indesejáveis formados pela presença de microrganismos é a enzima lipase (BECKETT, 1994).

A lipase é uma enzima pertencente ao grupo das serina hidrolases (E.C. 3.1.1.3). Seus substratos naturais são triglicerídeos e o seu modo de ação se assemelha ao das esterases, porém, sua atividade é muito aumentada quando situada na interface polar/apolar e apresentam maior afinidade por ácidos graxos. A ação da lipase e a presença dos ácidos graxos livres são fatores que concorrem para a perda de qualidade do cacau. Na rancidez hidrolítica, os ácidos graxos são liberados dos triglicerídeos pela ação da enzima lipase presente naturalmente no grão ou produzida por microrganismos contaminantes. Os resultados finais desta hidrólise são sabor desagradável, aumento de acidez, da susceptibilidade dos ácidos graxos às reações de oxidação e as alterações de propriedades funcionais (GALLIARD, 1983).

Na literatura ainda são escassos os estudos sobre os fatores que causam o aparecimento da lipase e o mecanismo das reações de hidrólise. Nesse sentido, o objetivo do presente trabalho foi definir parâmetros de qualidade para cacau em pó e chocolates através de análises físico-químicas e enzimáticas pela avaliação da atividade da lipase.

MATERIAL E MÉTODOS

Matéria-prima

Vinte e cinco amostras de cacau em pó e chocolates provenientes de várias empresas brasileiras processadoras de cacau e derivados foram analisadas. Sendo 7 de cacau em pó lecitinado, 4 de cacau em pó alcalino, 8 de cacau em pó natural e 6 de chocolates.

Os reagentes utilizados foram de grau analítico (p.a.) e cromatográfico de várias procedências. Os equipamentos usados foram específicos de cada método.

Umidade

Foi determinada pelo método gravimétrico em estufa ($105\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$), até peso constante, segundo procedimento da AOAC (2010). A determinação foi realizada em triplicata.

Determinação de pH

O pH foi determinado com o auxílio de pHmetro utilizando-se 10 g de amostra previamente macerada e homogeneizada em 100 mL de água deionizada. Após agitação por 20 minutos foi realizada a leitura em triplicata. (ZENEBON, 2005).

Teor de Lipídios

Os lipídeos foram determinados segundo a AOAC (2010). A extração dos lipídeos foi realizada com 5 g de produto previamente moído em 60 mL de ácido clorídrico concentrado (37%) e 100 mL de água destilada. Após homogeneização a mistura foi deixada em fervura durante 30 minutos. Após este período a solução foi filtrada em papel filtro e lavada com 1 L de água. O papel filtro contendo lipídeos foi seco em estufa ventilada a 80°C por 2 horas. A extração da gordura foi posteriormente efetuada com éter de petróleo por aproximadamente 6 a 8 horas em extrator de Soxhlet. O éter foi evaporado e a amostra foi mantida em estufa a 100°C por 1 h. Após resfriamento em dessecador, procedeu-se a pesagem até peso constante. A análise foi realizada em triplicata.

Composição em ácidos graxos

A determinação da composição em ácidos graxos foi realizada por cromatografia em fase gasosa com detecção por ionização de chama após esterificação dos extratos lipídicos (HARTMAN & LAGO, 1973; AOAC, 2010; AOCS, 2009). A análise foi realizada em uniplicata.

Atividade da Lipase

A atividade de lipase foi determinada de acordo com a metodologia proposta por Kaur et. al. (1993), através do preparo de substrato (emulsão) pela homogeneização em Ultra- Turrax a 14.000 rpm por 2 minutos, de 2g de álcool polivinílico, 0,40g de taurocolato de sódio e 33,3 mL de óleo de oliva em 70mL de tampão fosfato 0,2M, pH 7,4. A seguir, 0,5g de amostra foram dispersos em 12mL de substrato, incubados a 40°C por 1 hora, sendo a reação paralisada pela adição de 20mL de solução de álcool etílico acetona (1:1). A quantidade de ácidos graxos livres foi estimada pela titulação da mistura com NaOH 0,1N até pH 11,00 e a atividade de lipase expressa em U.g⁻¹ (Uma atividade enzimática é equivalente a 1 µmol de ácido graxo produzido por minuto). A análise foi realizada em triplicata.

Análise Estatística

As médias foram comparadas por análise de variância utilizando o teste de tukey ao nível de significância de 5% (COCKRAN, 1957), com o programa STATISTICA (versão 5.0) (StaSoft, Inc, Tulsa, OK, EUA)

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Umidade

A Tabela 1 apresenta os valores mínimos, máximos e médios do teor de umidade das amostras de cacau em pó alcalino, acetinado e natural. Neste estudo não possível a avaliação do teor de umidade dos chocolates. De acordo com o Codex Alimentarius, o teor de umidade máximo permitido para o cacau em pó é de 9,0%. No entanto, segundo especificações técnicas das indústrias processadoras, o cacau em pó deve possuir teores de umidade variando de 2,5% a 4,5% e a Organização Internacional do Cacau (ICCO) recomenda valor máximo de 5,0% de umidade para cacau em pó independente de ser alcalinizado, natural e/ou lecitinado. No presente trabalho, das 19 amostras analisadas 18 delas apresentaram teores de umidade apresentaram-se acima de 5,0% e abaixo de 9,0%, portanto em concordância com o limite máximo permitido pelo Codex Alimentarium. Entretanto, Erukainure et al. (2010) afirmaram que a umidade do cacau em pó é fundamental para garantir a qualidade e perspectiva de vida de prateleirado produto. Segundo Beckett (1994) a alta umidade do cacau em pó favorece a produção microbiana e aparecimento da enzima lipase e consequentemente, perda qualidade do produto.

TABELA 1: Teor de umidade (%) das amostras de cacau em pó lecitinado, natural e alcalino

Amostra	N ¹	Umidade (%)			
		Mín.	Máx.	Média ²	CV(%)
Cacau em póLecitinado	7	5,13	13,49	7,53±2,54	33,77
Cacau em pó alcalino	4	5,09	7,33	6,09±0,81	13,38
Cacau em pó Natural	8	3,98	7,96	5,99±1,09	18,28
Total	19				

¹N=número total de amostras analisadas; ² Média das amostras ± desvio padrão; Min= Mínimo; Máx= Máximo; CV=Coeficiente de variação entre as amostras

pH

O pH do cacau em pó depende do seu grau de alcalinização e para o chocolate também a quantidade da acidez do leite utilizado em sua formulação. Em geral, o grau de alcalinizaçãode pó de cacau feito pelas indústrias leva a um pH em torno de 7,1.

OpH do leite em pó pode variar de 6,5 a 6,7 (EDUARDO & LANES, 2004). A alcalinização é importante, pois influencia no sabor e aroma do produto final.

Com relação ao pH (Tabela 2), as amostras de cacau em pó alcalino apresentaram maiores valores de pH quando comparados ao natural, lecitinado e chocolate. Este maior valor de pH é esperado em função da prática de alcalinização realizada no pó. Quanto aos valores de pH apresentados pelos chocolates neste trabalho, estes estão em concordância aos encontrados por Erukainure et al. (2010), onde foi avaliada a qualidade físico-química e sensorial de chocolates.

TABELA 2: Teor de pH das amostras de cacau em pó lecitinado, natural e alcalino e chocolates

Amostra	N ¹	pH			
		Mín.	Máx.	Média ²	CV(%)
Cacau em pó Lecitinado	7	5,22	7,17	5,83±0,60	10,35
Cacau em pó alcalino	4	7,14	7,23	7,18±0,04	0,49
Cacau em pó Natural	8	5,40	5,89	5,62±0,15	2,63
Chocolates	6	5,65	6,36	6,05±0,24	4,01
Total	25				

¹N=número total de amostras analisadas; ² Média das amostras ± desvio padrão; Min= Mínimo; Max= Máximo; CV=Coeficiente de variação entre as amostras

Lipídeos

Os valores do teor de lipídeos estão apresentados na Tabela 3. Os valores de lipídeos variaram significativamente (5,22 a 7,17%) para amostras de cacau lecitinado apresentando Cv de 31,81%. Para as demais amostras de cacau e chocolate os valores estão dentro da faixa reportada pela literatura (LANNES & MEDEIROS, 2003; BABA, 2007), de 9 a 12% para cacau em pó e de 29,45 a 34,09%. Sendo que a legislação estabelece para o chocolate o mínimo 20% de lipídeos (VISSOTO et al., 1999).

TABELA 3: Teor de lipídeos (%) das amostras de cacau em pó lecitinado, natural e alcalino e chocolates

Amostra	N ¹	Lipídeos (%)			
		Mín.	Máx.	Média ²	CV(%)
Cacau em pó Lecitinado	7	3,04	12,66	9,35±2,97	31,81
Cacau em pó alcalino	4	9,12	10,77	9,95±0,60	5,99
Cacau em pó Natural	8	5,66	12,44	9,86±1,88	19,03
Chocolates	6	27,68	32,50	29,65±1,72	5,80
Total	25				

¹N=número total de amostras analisadas; ² Média das amostras ± desvio padrão; Min.= Mínimo; Máx.=Máximo; CV=Coeficiente de variação entre as amostras.

Atividade de lipase

Na Tabela 4 pode-se observar que a atividade média da atividade da lipase para as diferentes amostras de cacau em pó variou entre 10,53 a 14,77 U.g⁻¹. Para os chocolates a atividade da lipase foi aproximadamente 70% menor quando comparada a do cacau em pó. Segundo Chen et al. (2003), a presença da lipase no cacau em pó e chocolate está associada a contaminação microbiana. As formas esporuladas desses microrganismos podem ser resistentes à temperatura de processamento e na estocagem em condições ideais de temperatura e umidade podem produzir lipase.

TABELA 4: Atividade da Lipase nas amostras de cacau em pó lecitinado, natural e alcalino e chocolates

Amostra	N	Lipase (U.g ⁻¹)			
		Mín.	Máx.	Média ¹	CV(%)
Cacau em pó Lecitinado	7	9,54	14,15	13,47±3,76	27,93
Cacau em pó alcalino	4	9,10	11,72	10,53±0,96	9,08
Cacau em pó Natural	8	8,62	19,92	14,77±4,33	29,32
Chocolates	6	2,75	6,07	4,30±1,25	29,03
Total	25				

N=número total de amostras analisadas; ¹Média±desvio padrão das amostras; Min.= Mínimo; Máx.=Máximo; CV=Coeficiente de variação entre as amostras; U.g⁻¹ = Uma atividade enzimática é equivalente a 1 µmol de ácido graxo produzido por minuto.

Composição em ácidos graxos

A composição em ácidos graxos das amostras de cacau em pó e chocolate pode ser visualizada na Tabela 5.

A composição das amostras de cacau em pó natural foi a que apresentou maior número de ácidos graxos quando comparados com as demais amostras. No entanto, as amostras de chocolate apresentaram valores elevados, do ácido lignocérico (C24:0) e principalmente do láurico (C12:0). A presença do ácido láurico está associada ao sabor indesejável do chocolate e a atividade da enzima lipase.

Embora a atividade da lipase ter sido detectada nas amostras de chocolate, seus valores foram inferiores quando comparados com as amostras de cacau em pó. Este resultado pode ser explicado pelas diferenças nas formulações do cacau em pó e chocolate. No chocolate além do cacau em pó são adicionados leite em pó, manteiga de cacau e/ou substituintes similares que possivelmente contribui para o aumento na quantidade de ácido láurico.

TABELA 5: Composição em ácidos graxos (g/100g) das amostras de cacau em pó lecitinado, alcalino, natural e chocolates ¹

Ácidos Graxos (g/100g)	Cacau em pó lecitinado (N=7)	Cacau em pó alcalino (N=4)	Cacau em pó natural (N=8)	Chocolates (N=6)
C6:0 (Capríco)	NI	NI	0,07 ± 0,03	0,45 ± 0,03
C8:0 (Caprílico)	NI	0,69 ± 0,29	1,51 ± 0,57	10,95 ± 0,14
C10:0 (Cáprico)	NI	0,69 ± 0,29	1,68 ± 0,63	15,55 ± 0,13
C12:0 (Láurico)	NI	9,76 ± 3,94	28,15 ± 10,21	294,06 ± 1,63
C14:0 (Mirístico)	0,96 ± 0,07	4,79 ± 1,36	12,06 ± 3,78	113,79 ± 0,69
C15:0 (Pentadecanóico)	0,08 ± 0,03	NI	NI	NI
C16:0 (Palmitico)	180,31 ± 0,57	109,79 ± 4,43	181,16 ± 4,63	64,49 ± 0,67
C16:1 (Palmitoléico)	2,61 ± 0,23	1,61 ± 0,12	2,71 ± 0,10	NI
C17:0 (Margarico)	1,58 ± 0,03	0,84 ± 0,01	1,56 ± 0,05	NI
C18:0 (Estearico)	230,50 ± 3,17	122,83 ± 7,16	214,52 ± 5,10	65,07 ± 0,50
C18:1 (cis-Oléico)	240,38 ± 0,87	119,93 ± 3,05	204,68 ± 7,56	18,66 ± 0,80
C18:1 (trans-Oléico)	0,12 ± 0,05	7,96 ± 3,37	14,02 ± 4,86	4,84 ± 0,73
C18:2 (cis-Linoléico)	29,09 ± 1,65	13,41 ± 0,70	24,48 ± 0,83	9,96 ± 0,83
C18:2 (trans-Linoléico)	NI	NI	0,79 ± 0,26	NI
C18:3 (Linolênico) ω-3	1,77 ± 0,16	0,73 ± 0,04	1,51 ± 0,06	0,96 ± 0,13
C20:0 (Araquídico)	7,60 ± 0,07	4,16 ± 0,12	6,91 ± 0,25	1,11 ± 0,02
C21:0 (Eicosanóico)	0,12 ± 0,05	NI	NI	NI
C22:0 (Behênico)	2,23 ± 0,18	1,23 ± 0,05	1,91 ± 0,11	NI
C24:0 (Lignocérico)	1,65 ± 0,22	1,00 ± 0,07	1,43 ± 0,11	NI
Saturados	425,03 ± 2,78	256,05 ± 5,34	451,00 ± 9,16	565,52 ± 1,37
Monoinsaturados	242,99 ± 0,95	121,54 ± 2,98	207,40 ± 7,57	18,66 ± 0,80
Poliinsaturados	30,86 ± 1,81	14,14 ± 0,73	25,99 ± 0,88	10,92 ± 0,88
Rel. ω-3	1,77 ± 0,16	13,41 ± 0,70	1,51 ± 0,06	9,96 ± 0,83
Rel. ω-6	29,09 ± 1,65	0,73 ± 0,04	24,48 ± 0,83	0,96 ± 0,13
Rel. Trans	0,12 ± 0,05	7,96 ± 3,37	14,81 ± 5,12	4,90 ± 0,73
NI	1,00 ± 0,34	0,61 ± 0,11	0,80 ± 0,14	0,00 ± 0,00

NI= Não identificado; N= número total de amostras analisadas; ¹Média±desvio padrão das amostras.

CONCLUSÃO

Na avaliação dos resultados para as amostras analisadas de cacau em pó e chocolates, os teores de umidade para as amostras atendem a especificação do Codex Alimentarius. No entanto estão acima do valor sugerido pelos fabricantes de cacau. O pH e o teor de lipídeos para todas as amostras analisadas apresentaram-se dentro dos valores encontrados na literatura. As amostras de chocolate quando comparadas com as do cacau em pó apresentaram maior teor do ácido graxo láurico (C12:0). No entanto, os resultados da atividade da enzima lipase mostraram não ter correlação com o teor de ácido láurico encontrado nas amostras de cacau em pó e chocolates. Para uma caracterização mais conclusiva sugere-se investigar o mecanismo microbiano associado a produção de lipase em cacau em pó e nos principais constituintes do chocolate.



AGRADECIMENTOS

Ao CNPQ – PIBIC, pela bolsa concedida.

Ao CCQA – ITAL, pela oportunidade de estágio.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AOAC – **Association of Official Analytical Chemistry**. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemistry. 16 ed. Washington, 2010.

AOCS – **Association of Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemist's Society**. 5th ed. Champaign: Illinois, 2009.

ARDHANA, M.M.; FLEET, G.H. The microbial ecology of cocoa bean fermentation in Indonesia. **International Journal of Food Microbiology**. Set. 2003. vol. 86, p. 87-99, 2003.

BECKETT, S. T. **Industrial chocolate manufacture and use**. 2. ed. London: Chapman and Hall, 1994. p. 408p.

CHENA, L.; DANIELA, R.; M.; COOLBEAR, T. Detection and impact of protease and lipase activities in milk and milk powders. **International Dairy Journal**, v.13, p. 255–275, 2003

COCKRAN, W. G., CO, G. M. **Experimental design**. 2 ed. New York: John Wiley, 1957. 611p.

CODEX ALIMENTARIUS. CAC/RCP 39 de 1993. Code of Hygienic Practice for Precooked and Cooked Foods in Mass Catering. Disponível em: http://www.codexalimentarius.net/web/standard_list.jsp

EDUARDO, M.F.; LANNES, S.C.S. Achocolatados Análise Química. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.40, p.406-412, 2004.



ERUKAINURE, O.L., T.I. EGAGAH, P.T. BOLAJI AND A.J. AJIBOYE. Development and quality assessment of date chocolate products. **American Journal of Food Technology**, v.5, p. 324-330, 2010.

GALLIARD, T. Rancidity in cereal products. In: ALLEN, J.C.; HAMILTON, R.J. **Rancidity in Foods**. London: Applied Science Publishers, 1983. p. 109-130.

HARTMAN, L. & LAGO, R.C.A. Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. **Laboratory Practice**. London, 1973. v. 22. n. 8, p. 494-495.

KAUR, J.; RAMAMURTHY, V.; KOTHARI, R.M. Characterization of oat lipase for lipolysis of rice bran oil. **Biotechnology Letters**. London, 1993. p. 257-262.

LANNES, S. C. S.; MEDEIROS, M. L. Processamento de achocolatado de cupuaçu por spray-dryer. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 39, n. 1, p. 115-123, 2003.

LEAL JUNIOR, G. A.; GOMES, L. H.; EFRAIM, P.; TAVARES, F.C de A.; FIGUEIRA, A. Fermentation of cacao (*Theobroma cacao* L.) seeds with a hybrid *Kluyveromyces marxianus* strain improved product quality attributes. **FEMS Yeast Research**, v. 8, p. 788-798, Ago. 2008.

WOOD, G.A.; LASS, R.A. **Cocoa**. Logman Scientific and Technical, Essex. 1985.

ZENEBON, O.; PASCUET, NeusSadocco (Coord.). **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4a ed. Brasília: Ministério da Saúde/ANVISA; São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2005, Cap. 4, met. 017, p. 104.