

UNIVERSIDADE VILA VELHA – ES
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA VEGETAL

**PERFIL QUÍMICO E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE
AMÊNDOAS DE CLONES DE CACAU CULTIVADOS EM
SISTEMA AGROFLORESTAL SOB CONDIÇÕES DE ADUBAÇÃO
ORGÂNICA**

AMANDA BRAHIM BRANDÃO

VILA VELHA - ES
JANEIRO/2021

UNIVERSIDADE VILA VELHA – ES
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA VEGETAL

**PERFIL QUÍMICO E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE
AMÊNDOAS DE CLONES DE CACAU CULTIVADOS EM
SISTEMA AGROFLORESTAL SOB CONDIÇÕES DE ADUBAÇÃO
ORGÂNICA**

Dissertação apresentada à Universidade de Vila Velha, como pré-requisito do Programa de Pós-graduação em Biotecnologia Vegetal, para obtenção do grau de Mestra em Biotecnologia Vegetal.

AMANDA BRAHIM BRANDÃO

VILA VELHA - ES
JANEIRO/2021

Catálogo na publicação elaborada pela Biblioteca Central / UVV-ES

B816p

Brandão, Amanda Brahim.

Perfil químico e atividade antioxidante de amêndoas de clones de cacau cultivados em sistema agroflorestal sob condições de adubação orgânica. / Amanda Brahim Brandão. - 2021
53 f. : il.

Orientador: Alessandro Coutinho Ramos.

Dissertação (Mestrado em Biocologia Vegetal) – Universidade Vila Velha, 2021.

Inclui bibliografias.

1. Biotecnologia. 2. Alimentos naturais. 3. Antioxidantes.
4. Cacau. I. Ramos, Alessandro Coutinho. III. Universidade Vila Velha. III. Título.

CDD 660.6

AMANDA BRAHIM BRANDÃO

**PERFIL QUÍMICO E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE
AMÊNDOAS DE CLONES DE CACAU CULTIVADOS EM
SISTEMA AGROFLORESTAL SOB CONDIÇÕES DE ADUBAÇÃO
ORGÂNICA**

Dissertação apresentada à Universidade de Vila Velha, como pré-requisito do Programa de Pós-graduação em Biotecnologia Vegetal, para obtenção do grau de Mestra em Biotecnologia Vegetal.

Aprovada em 08 de janeiro de 2021.

Banca Examinadora:



Dr. Sávio Bastos de Souza (ICCA)



Dra. Amanda Azevedo Bertolazi (UVV)



Dr. Frederico Jacob Eutrópio (FAESA)



**Prof. Dr. Alessandro Coutinho Ramos (UVV)
(Orientador)**

“Dedico à minha família, em especial, à minha avó Otília Barbosa Brahim (*in memoriam*) e minha mãe. Sem elas nada seria possível.”

“Não há nada bom nem mau a não ser estas duas coisas:
a sabedoria que é um bem e a ignorância que é um mal”.

Platão

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela dádiva a mim concedida de concluir mais esta importante etapa da minha vida.

À minha família pelo apoio incondicional ao meu crescimento profissional e pessoal, especialmente minha mãe, pai e irmã, que estão sempre ao meu lado e são minha força sempre que preciso, além da torcida que muitas vezes me move.

Ao orientador desta dissertação, Prof. Dr. Alessandro Coutinho Ramos, por tornar meu antigo sonho de ser mestra uma realidade. Agradeço imensamente pelo seu incentivo, empatia e companheirismo nesta jornada.

Aos colegas da Pós-Graduação de Biotecnologia Vegetal, que contribuíram para a conclusão deste trabalho.

Muito obrigada!

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	3
2.1 CACAU.....	3
2.1.1 O uso do cacau nas indústrias.....	7
2.1.2. Compostos Bioativos do cacau e Valor Nutricional.....	9
2.2 CULTIVO DO CACAU EM SISTEMA AGROFLORESTAL	11
2.2.1 Benefícios do sistema agroflorestal no cultivo do cacau.....	11
2.2.2 Benefícios da adubação orgânica.....	14
3. OBJETIVO GERAL	16
3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	16
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	17
4.1 OBTENÇÃO DA MATÉRIA PRIMA	17
4.2 PLANTIO E PRÉ-PROCESSAMENTO DE AMÊNDOAS CLONES DE CACAU NO INCAPER	17
4.2.1 Sistema de plantio e adubação.....	17
4.2.2 Colheita e seleção das amêndoas	18
4.3 PREPARO DO MATERIAL VEGETAL	19
4.3.1 Amostra	19
4.3.2 Preparo do extrato vegetal.....	19
4.4 DETERMINAÇÃO DA COMPOSIÇÃO CENTESIMAL	19
4.5 DETERMINAÇÃO DE FLAVONOIDES TOTAIS	20
4.6 DETERMINAÇÃO DE ANTOCIANINAS - MÉTODO POR DETERMINAÇÃO DE PH.....	20
4.7 DETERMINAÇÃO DAS ATIVIDADES ANTIOXIDANTES	20
4.7.1 Método DPPH	20
4.7.2 Método FRAP	21
4.8 ANÁLISES ESTATÍSTICAS	21
5. RESULTADOS	23
5.1 ANÁLISE CENTESIMAL	23
5.2 ANÁLISE DE ANTOCIANINAS E FLAVONOIDES.....	24
5.3 ATIVIDADE SEQUESTRANTE DO RADICAL - MÉTODO DPPH (2,2-DIFENIL-1- PICRILHIDRAZILA)	26
5.4 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO MÉTODO DE REDUÇÃO DO FERRO - FRAP	27
5.5 ANÁLISES DE COMPONENTES PRINCIPAIS (PCA)	28
5.6 ANÁLISE NUTRICIONAL	30
6. DISCUSSÃO	32
7. CONCLUSÃO.....	37
8. REFERÊNCIAS.....	38

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Teor de antocianinas em seis diferentes clones de cacau (PH 16, PH 15, CCN 51, CEPEC 2002, SJ 02 e PS 13.19) cultivados nas condições pré ou pós-adubação. Os dados foram analisados através de Two-way ANOVA combinado com teste de Tukey. Para cada clone de cacau (PH 16, PH 15, CCN 51, CEPEC 2002, SJ 02 ou PS 13.19), as barras seguidas da mesma letra em maiúsculo, nas diferentes condições de cultivo (pré ou pós-adubação), não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey a $p < 0,05$. Para cada condição de cultivo, barras seguidas da mesma letra em minúsculo, nos diferentes clones de cacau, não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey a $p < 0,05$	24
Figura 2. Teor de flavonoides em seis diferentes clones de cacau (PH 16, PH 15, CCN 51, CEPEC 2002, SJ 02 e PS 13.19) cultivados nas condições pré ou pós-adubação. Os dados foram analisados através de Two-way ANOVA combinado com teste de Tukey. Para cada clone de cacau (PH 16, PH 15, CCN 51, CEPEC 2002, SJ 02 ou PS 13.19), as barras seguidas da mesma letra em maiúsculo, nas diferentes condições de cultivo (pré ou pós-adubação), não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey a $p < 0,05$. Para cada condição de cultivo, barras seguidas da mesma letra em minúsculo, nos diferentes clones de cacau, não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey a $p < 0,05$	25
Figura 3. Avaliação da potência antioxidante dos extratos metanólicos de seis diferentes clones de cacau (PH 16, PH 15, CCN 51, CEPEC 2002, SJ 02 e PS 13.19) cultivados nas condições pré ou pós-adubação. Os dados foram analisados através de Two-way ANOVA combinado com teste de Tukey. Para cada clone de cacau (PH 16, PH 15, CCN 51, CEPEC 2002, SJ 02 ou PS 13.19), as barras seguidas da mesma letra em maiúsculo, nas diferentes condições de cultivo (pré ou pós-adubação), não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey a $p < 0,05$. Para cada condição de cultivo, barras seguidas da mesma letra em minúsculo, nos diferentes clones de cacau, não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey a $p < 0,05$	26
Figura 4. Atividade antioxidante em extratos metanólicos de seis diferentes clones de cacau (PH 16, PH 15, CCN 51, CEPEC 2002, SJ 02 e PS 13.19) cultivados nas condições pré ou pós-adubação. Os dados foram analisados através de Two-way ANOVA combinado com teste de Tukey. Para cada clone de cacau (PH 16, PH 15, CCN 51, CEPEC 2002, SJ 02 ou PS 13.19), as barras seguidas da mesma letra em maiúsculo, nas diferentes condições de cultivo (pré ou pós-adubação), não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey a $p < 0,05$. Para cada condição de cultivo, barras seguidas da mesma letra em minúsculo, nos diferentes clones de cacau, não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey a $p < 0,05$	27
Figura 5. Gráficos dos scores da PCA separando os grupos pelas condições pré ou pós-adubação.....	28
Figura 6. Gráfico dos <i>loadings</i> utilizados para construir o modelo PCA (ant: antocianina; flav: flavonoides; ash: cinzas; lip: lipídeos; prot: proteínas; cal: calorias; wat: conteúdo de água, cho: umidade; DPPH e FRAP: atividades antioxidantes).....	29

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Produção anual de cacau (em toneladas) no Brasil e nas unidades da federação, de 1940 a 2020.....	6
Tabela 2. Análise físico-química do lodo de esgoto desidratado utilizado como fertilizante orgânico no estudo.....	18
Tabela 3. Composição centesimal dos clones de <i>Theobroma cacao</i> cultivados em SAF (média $\pm$ DP).....	23
Tabela 4. Teor de macro e micronutrientes das amêndoas dos clones de <i>Theobroma cacao</i> L, dos períodos pré e pós-adubação, cultivados em SAF. Os dados foram analisados através de Two-way ANOVA combinado com teste de Tukey. Para cada clone de cacau (PH 16, PH 15, CCN 51, CEPEC 2002, SJ 02 ou PS 13.19), os valores seguidos da mesma letra em maiúsculo, nas diferentes condições de cultivo (pré ou pós-adubação), não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey a $p < 0,05$. Para cada condição de cultivo, os valores seguidos da mesma letra em minúsculo, nos diferentes clones de cacau, não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey a $p < 0,05$	30

RESUMO

BRANDÃO, Amanda Brahim, M.Sc., Universidade Vila Velha, janeiro de 2021.
Perfil químico e atividade antioxidante de amêndoas de clones de cacau cultivados em sistema agroflorestal sob condições de adubação orgânica.
Orientador: Alessandro Coutinho Ramos.

As amêndoas de cacau e seus derivados possuem um alto valor econômico, químico, ecológico, nutricional e um grande potencial biológico. O Sistema Agroflorestal (SAF) é uma alternativa viável para o seu cultivo. Este estudo objetiva comparar a composição químico-centesimal e a atividade antioxidante de clones de amêndoas de cacau cultivadas mediante SAF sob condições de estresse e após a adubação. A composição centesimal foi determinada através de métodos tradicionais. Os métodos DPPH e FRAP foram utilizados na determinação da capacidade antioxidante. As diferenças entre os clones foram testadas via Análise dos Componentes Principais - PCA. A análise estatística foi realizada utilizando-se a Two-way Análise de Variância (ANOVA) seguida do teste de Tukey a 5%. O clone CEPEC-2002 pré-adubação apresentou maiores teores de proteínas, flavonoides, antocianinas e atividade antioxidante pelo método DPPH. Todos os clones apresentaram elevada atividade antioxidante ($1,0 < AAI < 2,0$) pela redução do radical Ferro. Conclui-se que, através da análise quimiométrica, é possível diferenciar os clones pré e pós-adubação. As alterações na composição químico-centesimal influenciaram a capacidade antioxidante dos clones, observada pelo método FRAP. CEPEC-2002 pré-adubação pode ser considerado o clone mais viável para indústria alimentícia, farmacêutica e cosmética.

Palavras-chave: *Theobroma cacao*, amêndoas, híbridos, composição químico-centesimal, adubação

ABSTRACT

BRANDÃO, Amanda Brahim, M.Sc., Universidade Vila Velha, January 2021. **Chemical profile and antioxidant activity of cocoa clones beans cultivated in an agroforestry system under organic fertilization conditions.** Advisor: Alessandro Coutinho Ramos.

Cocoa beans and their derivatives have a high economic, chemical, ecological, nutritional value and great biological potential. The Agroforestry System (SAF) is a viable alternative for its cultivation. This study aims to compare the chemical-centesimal composition and antioxidant activity of clones of cocoa beans grown under SAF under stress conditions and after fertilization. The proximate composition was determined using traditional methods. The DPPH and FRAP methods were used to determine the antioxidant capacity. The differences between the clones were tested using Principal Component Analysis - PCA. The statistical analysis was performed using the Two-way Analysis of Variance (ANOVA) followed by the Tukey test at 5%. The pre-fertilization CEPEC-2002 clone showed higher levels of proteins, flavonoids, anthocyanins and antioxidant activity by the DPPH method. All clones showed high antioxidant activity ($1.0 < AAI < 2.0$) due to the reduction of the radical Ferro. It is concluded that, through chemometric analysis, it is possible to differentiate between pre and post fertilization clones. Changes in chemical-centesimal composition influenced the antioxidant capacity of the clones, observed by the FRAP method. CEPEC-2002 pre-fertilization can be considered the most viable clone for the food, pharmaceutical and cosmetic industry.

Keywords: *Theobroma cacao*, almonds, hybrids, chemical-centesimal composition, fertilization

1. INTRODUÇÃO

O cacauero pertence à ordem Malvales, família Malvaceae, gênero *Theobroma*, espécie *Theobroma cacao* L., cuja espécie é considerada frutífera e endêmica das florestas tropicais da América Central e do Sul (Alverson et al., 1999). O cacauero constitui três grupos: Criollo, Forasteiro e Trinitário (híbridos) (Bartley, 2005). Dentre estes, destaca-se a variedade Forasteiro, como o mais cultivado correspondendo à 95% da produção mundial, enquanto o grupo Criollo, constitui apenas com 5% da produção mundial, devido à suscetibilidade deste grupo às doenças (Schroth et al., 2016; Lachenaud e Motamayor, 2017).

A importância econômica do cacauero se dá, principalmente pelas suas sementes ou amêndoas de cacau utilizadas para a indústria mundial de alimentos, devido à produção em larga escala de derivados, como o chocolate, cacau em pó, nibs de cacau, entre outros (Almeida e Valle, 2007). A comercialização do cacau também é orientada aos demais produtos como cibirra e mel e casca do cacau, que podem ser utilizados para a produção de iguarias alimentares, vinhos, bebidas, geleias, goma xantana e adubos orgânicos (Diniz et al., 2012; Benassi et al., 2013; Corrales et al., 2015). Tanto as amêndoas e os demais produtos do cacau possuem um alto valor físico-químico, nutricional e energético, especialmente, devido à sua alta concentração de carboidratos, lipídios, proteínas, composto fenólicos e centenas de metabólitos secundários que possuem potencial biológico (Afoakwa, 2010a; Nair, 2010).

No âmbito da indiscutível importância econômica, o cultivo do cacau também tem um grande valor ecológico. Sobre esta perspectiva, os Sistemas Agroflorestais (SAFs) harmonizam os agroecossistemas e buscam o oposto da agricultura moderna (Antônio, 2012; Dollinger e Jose, 2018).

Grande parte dos remanescentes da Mata Atlântica no Brasil encontra-se em plantações de cacau no SAF (Homen et al., 2017; Rolim et al., 2017). Na implementação deste sistema, as espécies nativas são mantidas e preservadas, com o objetivo de fornecer sombra para garantir uma boa performance do cacau. Alguns estudos confirmaram que estes SAFs servem como *habitat* e corredor para diversas espécies endêmicas (Amaro, 2010; Piasentin et al., 2014), ou seja, este sistema ecológico auxilia a proteger os remanescentes de Mata Atlântica, um dos biomas mais diversos e ameaçados do mundo (Müller e Gama-Rodrigues, 2007).

Através dos SAFs, há o aumento da fertilidade e os níveis de matéria orgânica do solo devido a produção e ciclagem de serapilheira e do sistema radicular das plantas. Sendo assim, o uso de fertilizantes neste tipo de sistema é reduzido ou inexistente (Schoeneberger, 2009). Contudo, na produção comercial de mudas de cacaueiro são usualmente empregadas tubetes rígidos de polietileno e substrato de terra de horizontes superficiais, o que aumenta os custos com transportes, tratamentos culturais das mudas e, ainda, a possibilidade de disseminação de patógenos de solo (Santos, 2019b).

O uso de resíduos orgânicos como fonte de nutrientes às plantas, tem-se constituído viável, pois reduz a aplicação de adubos químicos, reduz os custos, além de diminuir o impacto sobre os ecossistemas (Sodré, 2017). Além disso, o cacau como planta tropical, necessita de condições ambientais adequadas de temperatura e precipitação para seu cultivo (CEPLAC, 2018), no qual o solo é uma importante variável neste processo, em que o mesmo deve estar constantemente fértil para auxiliar no crescimento do cacau e evitar doenças comuns (Souza-Jr et al., 1999).

Desta forma, esta pesquisa objetivou conhecer a composição química e nutricional de novos clones de cacau, além de comparar a composição químico-centesimal, a atividade antioxidante e o perfil de nutrientes de amêndoas de clones de cacau em dois períodos, pré e pós-adubação orgânica, cultivados em SAF.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Cacau

O cacaueiro (*Theobroma cacao* L., Malvaceae) é uma planta arbórea, frutífera, umbrófila, cauliflora, com inflorescências se formando a partir do tronco, e possui ramificações secundárias e terciárias mais desenvolvidas (Alverson et al., 1999). O estrato arbóreo do cacaueiro pode atingir 20 a 25 metros de altura em floresta, enquanto em condições de cultivo, sua altura varia entre 3 a 5 metros (Lachenaud et al., 1997; Almeida e Valle, 2007) e, os primeiros frutos começam a surgir após 5 anos desde o seu plantio. Cacau é o fruto do cacaueiro, cujo peso pode variar entre 300 e 600g, apresentando um formato de arredondado a alongado, com comprimento podendo atingir até de 20 cm no maior eixo, e normalmente estes frutos apresentam uma casca grossa (Almeida e Valle, 2007). A coloração dos frutos pode variar entre verde e vermelho quando ainda imaturos, e quando maduros sua coloração se torna amarelo ou alaranjado (Martini, 2004; Batalha, 2009). No interior dos frutos podem ser encontradas amêndoas ou sementes envoltas por uma polpa branca, sendo cada um constituído por 20 a 40 sementes (Almeida e Valle, 2007). Segundo estes autores, as sementes constituem a principal parte econômica do cultivo do cacaueiro, sendo achatadas e de gosto adocicado a amargo.

Essa planta é originada do noroeste da Floresta Amazônica e os maias são apontados como os responsáveis pelas primeiras evidências do seu cultivo já em 400 a.c. (Levis et al., 2017). O cultivo do cacau ocorre predominantemente nas áreas tropicais da América Central e América do Sul, Ásia e África (Marita et al., 2001).

Devido ao cacaueiro ser perene, existem duas fases de sua produção, o temporão que ocorre de março a agosto e a safra que ocorre de setembro a dezembro (Monteiro e Ahnert, 2012). Como planta tropical, as condições para o cultivo do cacau são chuvas regulares, temperatura média superior a 21°C e precipitação anual superior a 1300 mm (CEPLAC, 2018; Mendes, 2018). Além disso, o solo deve ter grande profundidade e estar constantemente fértil para evitar fungos e pragas que podem afetar as plantas (Souza-Jr et al., 1999).

As variedades de cacau tradicionalmente cultivadas envolvem três grupos principais: Criollo, Forastero e Trinitario (Bartley, 2005). A variedade Criollo é pouco cultivada na América Central e do Sul (devido à suscetibilidade às

doenças), composta por frutos grossos, brancos e de sementes rosadas, no qual são responsáveis pela produção de chocolates finos (Marita et al., 2001). Forastero é amplamente cultivado (com maior resistência às doenças), sendo responsáveis por cerca de 95% da produção mundial de sementes de cacau (Schroth et al., 2016; Lachenaud e Motamayor, 2017). O grupo do Tринitário é considerado híbridos recentes, provenientes entre o cruzamento entre Criollo e Forastero da Baixa Amazônia (Motamayor, 2001).

Dentre as doenças supracitadas que contribuem com as perdas de produtividade do cacau, as principais acometidas são: podridão-parda dos frutos (que ocorre em todos os países produtores de cacau), vassoura-de-bruxa, moníliase ou monília, morte-de-ponteiros e inchaço-do-fruto (Ten Hoopen e Krauss, 2016). No Brasil, as principais doenças do cacaueiro são a vassoura-de-bruxa, a podridão-parda e a murcha-vascular-estriada ou mal-do-facão (Engelbrecht e Harrington, 2005; Oliveira e Luz, 2005).

Em função da qualidade, e mais especificamente das características organolépticas (aroma e sabor), as denominações de cacau no comércio internacional são: cacau fino, cacau *bulk* e cacau especial. O cacau do tipo fino ou cacau *flavor* apresenta sabor mais suave e aroma frutado, floral, amadeirado ou de caramelo, no qual é proveniente do Equador do tipo Nacional ou certos tipos de Trинitários e Criollos (Santos et al., 2019). O cacau do tipo *bulk* é o mais comum comercializado (representa 95% do mercado), considerado não aromático e é proveniente do material de origem Forastero (Figueira et al., 1997; Santos et al., 2019). O cacau especial é constituído por cacaos orgânicos (sem a utilização de fertilizantes químicos e agrotóxicos), *Fair Trade* (sob normas de Comércio justo), indicação/selo de Origem (origem concedida após avaliação do Instituto Nacional da Propriedade Industrial-INPI), *Rain Forest Alliance* e *UTZ Certified* (estes dois últimos, os selos destacam um conjunto de critérios sociais e ambientais) (Santos et al., 2019).

Países como Costa do Marfim seguida por Gana, Indonésia, Nigéria, Equador, Camarões, Brasil e Papua Nova Guiné são considerados os maiores produtores mundiais de cacau (FAOSTAT, 2020; ICCO, 2020). Guyton (2003) relata que a importância econômica da produção agrícola do cacau está no fato desse elemento ser uma *commodity* com participação relevante nas importações e exportações no mundo. No entanto, a maior parte da produção de cacau é realizada principalmente nos países em desenvolvimento e por pequenas

propriedades familiares que, ainda utilizam práticas agrícolas desatualizadas (WORLD COCOA FOUNDATION, 2014).

No Brasil, a cadeia produtiva do cacau iniciou em 1679, crescendo ao longo dos séculos XVIII a XX, contudo, atingiu seu ápice na década de 1980, quando o país se tornou um dos maiores produtores mundiais (Leiter e Harding, 2004; Estival et al., 2014). Neste sentido, o Brasil já foi considerado o segundo maior produtor mundial de cacau (na década de 1970), quando a economia cacaueira era o seu principal negócio agrícola (Lopes et al., 2011).

Essa fase inicial da expansão da produção do cacau perdurou até o início da década de 1990 e, após esse período, iniciou-se o declínio produtivo agrícola (IBGE, 2021). Segundo CEPLAC (2018), nessa fase de declínio, a participação brasileira na produção mundial estava em torno de 12% (safra 1993/1994) e, ainda mantendo seu declínio, nas safras 2013/2014, a produção registrada foi de 4% do mercado global, se mantendo no sétimo lugar. Dentre os principais motivos que influenciaram esse declínio da produção do cacau estão o plantio desordenado, o baixo controle de pragas, aparecimento desordenado de doenças (principalmente vassoura-de-bruxa e podridão-parda), o esgotamento do solo, o déficit hídrico, descapitalização de cacauicultores e a queda dos preços internacionais (Leiter e Harding, 2004; Gonçalves et al., 2010; Aguiar e Pires, 2019).

Dados mais atuais apontam que o Brasil ainda se mantém com cerca de 4% da produção mundial do cacau, o que representa 181.450 toneladas em média do fruto produzidas por ano (AIPC, 2018). No entanto, ainda segundo a AIPC, nesses últimos anos, uma tendência de crescimento moderado tem sido observada na produção das amêndoas, mas de maneira não uniforme entre seus segmentos.

A Bahia e o Pará são os principais produtores de amêndoa de cacau do Brasil, responsáveis por, aproximadamente, 93% de toda a produção nacional). Contudo, em 2018 o Pará assumiu a liderança na produção nacional de amêndoa de cacau (53% da produção nacional), enquanto a Bahia, tradicionalmente o maior produtor, ficou com 40% (BRASIL, 2020). Na região Sudeste, a maior parte da produção está associada aos estados de Espírito Santo e Minas Gerais, porções essas que, juntamente com Rondônia e a região Nordeste formam a maior região cacaueira do Brasil (Brainer, 2021; IBGE, 2021) (**Tabela 1**).

Tabela 1. Produção anual de cacau (em toneladas) no Brasil e nas unidades da federação, de 1940 a 2020.

Local	1940	1950	1960	1970	1985	1995	2006	2017	2020
Brasil	108.076	146.728	169.050	204.477	472.737	242.104	199.171	159.856	280.661
Bahia	103.269	139.431	161.581	195.207	424.996	215.486	155.656	85.244	118.018
Pará	2.053	2.612	1.965	1.548	22.329	15.062	28.888	67.024	144.663
Espírito Santo	1.004	2.608	3.772	5.899	12.104	6.165	7.025	5.296	11.271
Rondônia	-	-	-	8	9.814	3.605	5.951	1.854	5.069
Amazonas	1.589	2.007	1.458	1.762	2.148	988	1.331	258	1.266
Outros	161	70	274	244	1.373	798	321	180	374

De acordo com Santos et al. (2019), até o ano de 2013, o mercado europeu, que é o maior consumidor de cacau do mundo, possuía uma visão errada do cacau brasileiro, pois caracterizava o cacau produzido no Brasil apenas como sendo o *bulk*. No entanto, 97% da produção brasileira de cacau fino era destinada à exportação para a Europa, Estados Unidos e Japão (Santos, 2019b). Em 2010, o Brasil ganhou um prêmio importante da indústria do cacau fino (International Cocoa Awards, do Salon du chocolat de Paris), o que o colocou na rota do mercado de grãos finos (Santos et al., 2019).

No entanto, a produção do cacau ainda se mostra bastante variada entre os pequenos produtores, no qual observa-se a falta de organização institucional desses produtores, além do capital limitado e ocorrência de variação de informação tecnológica e de mercado entre os diferentes segmentos de produção (Gonçalves et al., 2010). Além da evidência da baixa organização e estruturação da cadeia brasileira do cacau e chocolate, a renda dessa atividade tem sido concentrada em poucas empresas (Silva et al., 2017).

A maior parte do processamento do cacau ocorre em regiões não produtoras, que são as tradicionais fabricantes de chocolate. Assim, a Europa e os EUA processam 37% e 8% do volume mundial, respectivamente, resultando na existência das cinco maiores empresas chocolateiras nessas regiões como, Mars (EUA); Ferrero (Itália); Mondelez (EUA); Meiji (Japão) e Nestlé (Suíça) (Leite, 2018). Contudo, observa-se uma tendência do processamento de cacau no país de origem das amêndoas, devido à logística, redução de custos e qualidade das amêndoas. No Brasil, atualmente o processamento do cacau é concentrado em três indústrias, todas de capital estrangeiro e que atuam em diversos países: Cargill, Barry Callebaut e Olam (controlam 97% da indústria de moagem e da compra de amêndoas) (Repórter Brasil, 2020); no qual esta citação

também destaca que na fabricação de chocolate, as empresas multinacionais Mondelez e Nestlé, lideram no Brasil.

2.1.1 O uso do cacau nas indústrias

O cultivo do cacaueiro produz principalmente amêndoa ou semente, que é o principal ingrediente na produção do chocolate e seus derivados (Almeida e Valle, 2007). Outra parte do fruto do cacau utilizada na comercialização é a cibirra ou placenta, que é uma estrutura linear bastante utilizada como iguaria alimentar em algumas culturas brasileiras (Benassi et al., 2013). Além disso, a polpa da semente produz o mel do cacau, que serve de matéria prima para a fabricação de vinhos, licores, vinagres e geleias, além de ser bastante apreciada quando consumida em sua forma crua (Santos et al., 2014; Corrales et al., 2015). A casca do cacau quando seca é muito utilizada para ornamentação, produção de compostos usados em diversos setores industriais como a goma xantana e adubos orgânicos (Chepote, 2003; Diniz et al., 2012).

O processamento do cacau é a fase em que a amêndoa é transformada em líquido ou massa de cacau. Em seguida, o processo de prensagem resulta nos produtos como manteiga e pó de cacau, com rendimentos de 46% e 54% (Leite, 2018). Em geral, Leite (2018) estima que ocorra perda de cerca de 20% do peso nesse processamento da amêndoa, ou seja, a cada 100 toneladas de cacau são produzidas 80 toneladas de seus produtos. Esse autor destaca que o líquido e a manteiga de cacau são os principais insumos na produção de chocolate, já o pó de cacau é mais utilizado na produção de achocolatados, sorvetes e biscoitos.

O comércio internacional de produtos derivados do cacau movimentou em 2016 quase US\$ 50 bilhões, sendo mais da metade desse valor na forma de chocolate (Leite, 2018). O mercado mundial de chocolate engloba cerca de 7 milhões de toneladas de produto ao ano e movimenta US\$ 100 bilhões/ano em vendas no varejo, sendo que os maiores consumidores são os europeus e norte-americanos, com parcela no consumo de 35% e 20% respectivamente (EXAME, 2018; FINANCIAL TIMES, 2018; CBI, 2020). Neste sentido, a Alemanha dispara como a maior consumidora mundial de chocolate, 10 kg per capita em 2018, seguida da Suíça (9,7 kg) e Estônia (8,8 kg) (Guirlanda et al., 2021).

Ressalta-se que, a pandemia do COVID-19 impactou o mercado de chocolates de forma variada, com queda na demanda de alguns segmentos

(Brainer, 2021). No entanto, ao mesmo tempo, percebe-se oportunidades de crescimento promissoras, como o mercado de chocolates sazonais e o varejo online, que impulsionaram o mercado de chocolate, principalmente a Europa ocidental com uma projeção de valor do mercado europeu de US\$ 72,04 bilhões para 2024 (Businesswire, 2020). Dados de mercado também demonstram que cerca de 55% dos brasileiros compram chocolate mensalmente, levando a 9% de incremento no faturamento de chocolate, atingindo valores estimados em R\$ 5,4 bilhões até setembro (Mercado do Cacau, 2020).

Brasil é um raro caso de país com a ocorrência de cadeia produtiva completa, ao mesmo tempo que é um grande produtor de cacau, também possui indústrias de processamento da amêndoa e produz outras principais matérias-primas da indústria de chocolate, leite em pó e açúcar e, naturalmente, é grande fabricante de chocolate (Leite, 2018). Além disso, Leite (2018) destaca também que o Brasil se situa entre os cinco maiores consumidores de chocolate do mundo. Além disso, este autor relata que houve aumento significativo das importações de chocolate, passando de 6 mil toneladas para 25 mil de 2005 a 2017.

A cibirra ou placenta é a parte que prende as sementes dentro do fruto e não deve entrar no processo de fermentação do cacau (Ferreira et al., 2013). A cibirra é utilizada na produção de doces cristalizado ou desidratado, além de seu uso na agregação ao chocolate (Mororó, 2012).

O mel do cacau, constituído por um suco transparente drenado da massa de cacau durante o processo de fermentação, possui potencial de comercialização devido seus açúcares, visto que são os mesmos açúcares encontrados em frutas, também conhecidos como adoçantes nutritivos e como principal fonte de energia para o corpo humano (Guirlanda et al., 2021). Além disso, estes autores relatam que o mel de cacau apresenta acidez moderada, baixa porcentagem de gordura, disponibilidade de micronutrientes minerais, presença de pectina e pequena quantidade de vitamina C, podendo contribuir com cerca de 24% da IDR de vitamina C. Desta forma, o mel de cacau apresenta diversas características que permitem utilizar esse recurso em diversos produtos alimentícios como álcool, vinho, bebidas hidratantes e de Kefir, vinagre, adoçante e geleias (Puerari et al., 2012; Santos, 2012; Garcia e Moreta, 2013; Corrales et al., 2015; Guirlanda et al., 2021). No entanto, sabe-se que o mel de

cacau ainda é subaproveitado em grande parte das propriedades produtoras de amêndoas de cacau (Ruesgás-Ramón et al., 2020).

A casca do cacau é o subproduto em maior quantidade do processamento do cacau, pois cerca de 80% do fruto corresponde a casca (Silva-Neto et al., 2001). Aproximadamente seis toneladas de casca fresca, provenientes da quebra dos frutos são geradas anualmente por hectare de cacau cultivado. Uma alternativa para o aproveitamento desse resíduo é a sua utilização como fonte de potássio na produção de mudas de cacaueiro (Sodré et al., 2012). A casca do cacau tem vários potenciais de uso como geração de biogás, briquete, produção de biofertilizante e substrato para produção de enzimas (Gonzales et al., 2013).

Vale ressaltar que o aumento do consumo de derivados de cacau no mercado está relacionado, entre outros fatores, aos benefícios para a saúde, muitos dos quais relacionados à presença de altos teores de antioxidantes presentes na composição desses derivados (Ramos et al., 2013). Diversos estudos sugerem relação entre o consumo de cacau e os benefícios à saúde como melhoria cardiovascular e efeitos neuroprotetores e anti-inflamatórios (Fanton et al., 2021).

Devido a essa importância do crescimento do setor de indústria do cacau, muitos pesquisadores atuam no desenvolvimento de clones de cacau e de novos processos de cultivo com o objetivo aumentar a produtividade e a qualidade das amêndoas (Salles et al., 2019; Santos e Kalid, 2020). Essas etapas são fundamentais na expressão das características sensoriais (aroma e sabor) dos produtos produzidos, na produção de clones mais resistentes economicamente e na variação dos compostos bioativos relacionados ao benefício à saúde (Ramirez-Sanchez et al., 2010).

2.1.2. Compostos Bioativos do cacau e Valor Nutricional

O sabor, aroma e valor nutricional dos produtos do cacau são influenciados pela origem da produção, variedade ou clone existentes e processos das etapas de fermentação, secagem e torração (Salles et al., 2019; Santos e Kalid, 2020). Na fermentação ocorre o processo da hidrólise de proteínas e a formação de peptídeos e aminoácidos (Santos e Kalid, 2020). Já a torração do cacau potencializa o sabor dos chocolates, resultado da Reação de Maillard (Misnawi et al., 2002).

A composição do cacau possui grande valor nutricional e altamente energético e estimulante (Guirlanda et al., 2021). O processo de fermentação das amêndoas de cacau proporciona um aumento expressivo na maior parte dos aminoácidos livres (Brito et al., 2001). O valor nutritivo dos alimentos é resultado da qualidade da proteína, no qual depende da proporção dos aminoácidos, da biodisponibilidade e da suscetibilidade à hidrólise durante a digestão (Burton, 1979; Farfán, 1994). Os produtos do cacau como o achocolatado em pó possui alto valor nutritivo, no qual as proteínas (19,8%) e os carboidratos (37,9%) apresentaram valores de digestibilidade de 42 e 32%, respectivamente (Meursing, 1983).

A ação de enzimas sobre as proteínas, carboidratos e polifenóis, aliados à ação de microrganismos presentes na polpa, são os responsáveis pelos precursores do aroma e sabor (*flavor*) do cacau (Lehrian e Patterson, 1983). Dentre as enzimas, protease, polifenoloxidase e invertase são as principais enzimas que atuam na fermentação da amêndoa do cacau para a formação do *flavor* (Robinson e Eskin, 1991; Hansen et al., 1998). Através da atuação das enzimas presentes no cacau durante o processo fermentativo, ocorre a Reação de Maillard, uma das reações mais importantes e complexas para a formação do *flavor* do chocolate (Misnawi et al., 2002).

Partes do fruto como a casca e a pele da amêndoa são ricos em polifenóis, como as catequinas, epicatequinas e procianidinas oligoméricas (Pierre et al., 2015). O cacau possui 14 tipos de flavonoides, sendo que a maioria dos compostos identificados pertence à apenas seis tipos: flavonas, flavononas, flavonóis, flavanóis, isoflavonas e antocianinas (Cádiz-Gurrea et al., 2017; Hernández-Hernández et al., 2018).

Por suposto, o número de estudos sobre os polifenóis presentes no cacau tem aumentado consideravelmente nos últimos anos, principalmente, pela indústria farmacêuticas e nutracêutica. Esse crescimento da atenção sobre os compostos fenólicos está relacionado aos benefícios à saúde humana, como uma potente atividade antioxidante na prevenção de reações oxidativas e de formação de radicais livres, bem como na proteção contra danos ao DNA das células (Badrie et al., 2015; Zempo et al., 2016).

A destruição dos compostos fenólicos naturalmente presentes nas amêndoas de cacau se dá, principalmente, nas etapas realizadas para o desenvolvimento do sabor de chocolate, as quais favorecem a diminuição da

adstringência e do amargor (Afoakwa, 2010a; Leite et al., 2013; Kongor et al., 2016). Os polifenóis, responsáveis pela capacidade antioxidante do cacau, são drasticamente reduzidos durante a fermentação e a alcalinização das amêndoas (Efraim et al., 2010; Efraim et al., 2011). A variação do conteúdo fenólico no cacau pode ter influência genética, edafoclimática e dos processos tecnológicos utilizados para a obtenção dos produtos avaliados (Efraim et al., 2011; Albertini et al., 2015).

De maneira geral, a composição da físico-química e bioquímica do cacau varia de acordo com o tamanho do fruto, clima, época de colheita, tipo de solo, grau de maturação e manipulação pós-colheita (Zoumas et al., 1980). Contudo, mesmo compreendendo a importância destes aspectos na qualidade da amêndoa do cacau, ainda existem poucos estudos que descrevam novas técnicas de cultivo e seus efeitos na composição qualitativa das amêndoas de diferentes cultivares do cacau (Hansen et al., 1998; Sanches, 2019). Sabe-se que todos estes aspectos supracitados podem ser otimizados de acordo com o tipo de cultivo empregado, dentre os quais pode-se destacar os sistemas agroflorestais, por apresentar maior disponibilidade de nutrientes no solo, principalmente por serem ricos em matéria orgânica, apresentarem maior variedade de espécies vegetais e consequentemente maior diversidade microbiana (AnimKwapong e Osei-Bonsu, 2009; Barrios et al., 2012).

2.2 Cultivo do cacau em sistema agroflorestal

2.2.1 Benefícios do sistema agroflorestal no cultivo do cacau

O cacau caracteriza-se como uma cultura de sub-bosque, seja sob floresta nativa ou floresta homogênea, no qual seu plantio e cultivo em sombreamento apresentam-se como um sistema adequado para sua produção (Vaast e Somarriba, 2014). A maior parte da produção do cacau se dá em torno de 70% na forma de sistema agroflorestal (SAFs), denominado regionalmente “sistema cacau-cabruca”, no qual o cacau é plantado sob a sombra do dossel da Floresta Ombrófila Densa (Rolim et al., 2017; Sanches, 2019).

O histórico do cultivo de cacau em agroflorestas se dá no México há 4.000 anos atrás, com a civilização pré-colombiana Olmecas, que cultivavam em sistemas de plantação de tamanhos menores ou maiores, e utilizavam o cacau para produção de bebida alcoólica e chocolate (Henderson et al.,

2007). O cacau era cultivado sob sombreamento nos quintais ou em associação com outras árvores frutíferas e/ou nativas (Touzard, 1993). Este autor também relata que o cultivo de cacau em agroflorestas foi utilizado depois pelos colonos espanhóis, e assim como os indígenas, começaram a desenvolver cultivos mais orientados e organizados. Atualmente o cacau continua a ser produzido mundialmente, principalmente por pequenos proprietários rurais, em pequenas fazendas com baixo capital, ou seja, pouca disponibilidade de investimento na produção, baixos rendimentos e produção sensível às doenças e oscilações de preços (Santos et al., 2019; Repórter Brasil, 2020).

Os sistemas agroflorestais por constituírem cadeias produtivas orientadas à produção do cacau e manutenção de florestas maduras, possuem uma valoração econômica-ecológica (Rolim et al., 2017). Primeiramente, a implementação deste sistema fornece meios de subsistência para muitos produtores rurais, além de manterem e preservarem espécies de árvores nativas, fornecendo sombra e garantindo boa performance ao cacau (Rice e Greenberg, 2000). Além do cacau propriamente dito, esses produtores de cacau obtêm diversos recursos de árvores de sombra, de forma a auxiliar na complementação de renda e no enfrentamento quanto às doenças ou flutuação de preços em que os cacaueiros são acometidos mundialmente (Duguma et al., 2001; Cerda et al., 2014).

Além disso, os SAFs servem como habitat e corredor para diversas espécies de flora e fauna endêmicas e são responsáveis por diversos serviços ecossistêmicos (Amaro, 2010; Piasentin et al., 2014). Diante desse contexto, essa valoração ecológica associada aos SAFs de cacau é constituída pela melhoria da biodiversidade funcional, sequestro de carbono, fertilidade e proteção do solo, diminuição dos efeitos da erosão e da lixiviação, resistência à seca e às ervas daninhas, controle biológico de pragas (Clough et al., 2009; Tschardt et al., 2011; Vandermeer, 2011; Somarriba et al., 2012; Deheuvels et al., 2014).

No âmbito das agroflorestas, a *Sustainable Agriculture Network-SAN* (2014) definiu aos produtores de cacau o critério de sombreamento de forma a manter 40% de cobertura de sombra constituídas por no mínimo 12 ou 19 espécies de árvores nativas por ha. Essa ecocertificação é associada a cerca de 20% do cacau mundial produzido (ICCO, 2014) e o seu potencial de viabilidade

é devido ao maior rendimento da produção do cacau, maior agregação financeira e consequente proteção da biodiversidade (Gockowski et al., 2013; Tschardt et al., 2014).

Em Gana e Costa do Marfim, 50% do cacau é cultivado sob sombra moderada, enquanto 45% são manejados sob nenhuma sombra nessas regiões (Padi e Owusu, 1998). Na Mata Atlântica costeira, os estados da Bahia e Espírito Santo cultivam o sistema cabruca e contribuem com cerca de 4% do cacau produzido no mundo e 75% no Brasil (Lobão et al., 2007). Particularmente, muitos produtores de cacau estão informados dos efeitos de proteção dos sistemas de agroflorestas contra a seca e a amplitude da temperatura desta estação sazonal. A África Ocidental e a América Latina, por exemplo, se destacam no engajamento em ter mais árvores em seus cultivos para sustentar as suas produções de cacau, diversificar suas receitas, melhorar suas subsistências e se adaptarem às mudanças climáticas (Vaast e Somarriba, 2014).

Neste sentido, o cultivo de cacau em agrossistemas deve envolver estratégias adequadas e inovadoras como, espaçamento entre árvores, ciclo de poda de árvores em momentos críticos do ciclo de produção e combinação de espécies de árvores com fenologia de folhas complementares ao longo da produção do cacau (Vaast e Somarriba, 2014). No geral, esses autores também destacam que a seleção de árvores de sombra, outro principal fator em agroflorestas de cacau, deve envolver espécies nativas locais específicas que aumentam a fertilidade do solo e árvores com altos valores de sequestro de madeira ou carbono.

Outras formas de ecocertificação ao cacau, como orgânica, têm demonstrado uma valoração econômica do cacau no mercado e, ao mesmo tempo, fornece incentivos para a manutenção de agroflorestas no cultivo do cacau (Hinojosa et al., 2003; Schroth et al., 2014). O uso de fertilizantes em cacaueiros em SAFs tem relação direta com a fertilidade e textura do solo, a produtividade esperada e a reposição de nutrientes no solo, que são retirados pelo cacaueiro para crescimento e produção, no qual, o uso incorreto desses insumos pode reduzir a produção do cacau, desta forma, é fundamental a proposição de estratégias de manejo orientadas por técnicos com experiência em fertilidade do solo e manejo nutricional do cacaueiro (Sodré, 2017). Dentre

esses fertilizantes, a adubação orgânica é a mais comum e amplamente utilizadas em SAFs.

2.2.2 Benefícios da adubação orgânica

A adubação orgânica é importante na fertilização do cacaueiro pois atua nas propriedades químicas, biológicas e físicas do solo, melhorando a disponibilidade dos nutrientes e o aumento da produtividade (Chepote et al., 2013). Segundo estes autores, a adubação orgânica consiste na aplicação de resíduos de origem vegetal ou animal. Resíduos de origem vegetal fornecem nutrientes, e estes variam conforme o material empregado em seu preparo. Já o adubo orgânico de origem animal é mais conhecido como esterco (excrementos sólidos e líquidos dos animais). Esses adubos de origem animal são considerados também bons fornecedores de nutrientes.

De acordo com Taiz et al. (2017), a adubação orgânica constitui importante fonte alternativa de nutrientes para as plantas, pois permite fornecer macro e micronutrientes dos quais necessitam para seu pleno crescimento e desenvolvimento. Além disso, esse sistema de adubação também contribui para as plantas, no sentido de aumentar a capacidade de troca de cátions, estabilizar o pH e reduzir a população de patógenos (Bulluck et al., 2002).

Ademais, a aplicação de adubos orgânicos propicia uma melhoria significativa nas características físicas dos solos. Pode-se citar, como exemplo, o aumento da aeração, da disponibilidade de água no solo e a melhoria da agregação das partículas, aspectos que auxiliam no controle dos processos erosivos e de degradação dos solos (Lima, 2001).

Em geral, os adubos orgânicos são adicionados ao solo por incorporação antes do plantio e, após sua mineralização, esses compostos liberam nutrientes que podem ser absorvidos pelas culturas, contribuindo para sua nutrição. Recomenda-se o uso de adubação orgânica em cacaueiros preferencialmente quando o solo possui teor de matéria orgânica inferior a 30 g kg⁻¹ (Chepote et al., 2013).

Dentre os principais adubos orgânicos utilizados em cacaueiros estão o esterco de gado, casca do cacau, testa da amêndoa do cacau e resíduo de cogumelo (Sodré et al., 2012; Chepote et al., 2013; Santos, 2019a). O uso da casca de cacau como adubo orgânico consegue reduzir em até 50% a quantidade de adubos inorgânicos utilizados em culturas de cacau, além disso

provocam um aumento na produção de sementes por hectare (Chepote, 2003). No entanto, existem outros adubos orgânicos que demonstram viabilidade no uso na agricultura, seja em solos carentes de nutrientes e matéria orgânica, como lodo de esgoto (Embrapa, 2019).

A adubação orgânica se destaca, ainda, pois além de reduzir a aplicação de adubos químicos e os custos envolvidos, diminui o impacto sobre os ecossistemas, como uma estratégia mais sustentável (Sodré, 2017). Tendo em vista a importância econômica e ecológica do cacaueteiro em agrossistemas, atrelada à escassez de estudos nessa temática, torna-se relevante a avaliação do efeito da adubação orgânica no crescimento, desenvolvimento, nutrição dos frutos, visando a formação de plantios mais produtivos e com melhor qualidade.

3. OBJETIVO GERAL

Avaliar o efeito do cultivo em sistema agroflorestal e da aplicação de do de um adubo orgânico a base de lodo de esgoto tratado na composição química e nutricional das amêndoas de seis genótipos de cacau.

3.1 Objetivos específicos

- Descrever a composição química e nutricional de amêndoa de seis genótipos de cacau cultivados em SAF nos períodos pré e pós-adubação com fertilizante orgânico a base de lodo de esgoto tratado;
- Avaliar a atividade antioxidante de amêndoa de seis genótipos de cacau cultivados em SAF nos períodos pré e pós-adubação com fertilizante orgânico a base de lodo de esgoto tratado;
- Avaliar a composição químico-centesimal de amêndoa de seis genótipos de cacau cultivados em SAF nos períodos pré e pós-adubação com fertilizante orgânico a base de lodo de esgoto tratado.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Obtenção da matéria prima

As amêndoas de seis diferentes clones de cacau, denominadas PH 16, PH 15, CCN 51, CEPEC 2002, SJ 02 e PS 13.19, foram selecionadas pelo corpo técnico do Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural (INCAPER), cultivadas em SAF, na Fazenda Experimental "Engenheiro Agrônomo Reginaldo Conde", em Jucuruaba, no município de Viana-ES. Esses clones de amêndoas apresentam variações quanto à tolerância e à resistência às principais doenças de cacau, como a vassoura-de-bruxa (Podridão de Frutos por Vassoura de Bruxa - PFVB) e podridão-parda (Podridão de Frutos por Podridão Parda - PFPP).

4.2 Plantio e pré-processamento de amêndoas clones de cacau no INCAPER

4.2.1 Sistema de plantio e adubação

As amêndoas dos seis diferentes clones de cacau foram cultivadas em sistema agroflorestal em consórcio com culturas de cana de açúcar, banana, abacaxi e espécies de plantas nativas, como o Ipê Roxo, Sapucaia, Ipê amarelo, Pau Ferro, Pupunha, Aroeira, Açaí, Jenipapo, Araçá comum e Gliricídia, em um período de avaliação de 6 anos.

O cultivo dos clones de cacau em SAF foi mantido entre os anos de 2012 e 2017 sem a aplicação de qualquer tipo de adubação, seja ela orgânica ou artificial. Entre os anos 2017 e 2018 foi realizado um processo de adubação com a utilização de um composto orgânico seco, obtido de lodo de esgoto tratado e desidratado (**Tabela 2**). A adubação das plantas foi feita a cada três meses, sendo quatro processos de adubação realizados durante o período experimental, até a colheita final das amêndoas para análise. Desta forma considera-se duas condições experimentais: período pré-adubação (amêndoas colhidas entre os anos de 2015 e 2016); período pós adubação (amêndoas colhidas entre os anos de 2016 e 2017).

Tabela 2. Análise físico-química do lodo de esgoto desidratado utilizado como fertilizante orgânico no estudo.

Parâmetro	Unidade	Amostra lodo desidratado
Umidade a 60 - 65°C	%	74,06
pH em CaCl ₂	-	7,08
Matéria orgânica total	%	76,35
Matéria orgânica compostável	%	63,37
Carbono orgânico	%	35,20
Relação C/N	-	44204,00
Relação CTC/C	-	-
Nitrogênio (N) ₂	%	4,51
Fósforo (P ₂ O ₅) ₃	%	1,29
Potássio (K ₂ O) ₃	%	0,30
Cálcio (Ca) ₃	%	1,30
Magnésio (Mg) ₃	%	0,11
Enxofre (S) ₃	%	0,57
Ferro (Fe) ₃	%	0,15
Zinco (Zn) ₃	ppm	52,60
Cobre (Cu) ₃	ppm	45,00
Manganês (Mn) ₃	ppm	75,80
Boro (B) ₃	ppm	11,50

4.2.2 Colheita e seleção das amêndoas

Os clones selecionados para o estudo apresentam índices de PFVB e PFPP, respectivamente: PH 16 (3,38% e 0,14%); PH 15 (0,68% e 1,26%); CCN 51 (8,57% e 12,12%); CEPEC 2002 (10,35% e 3,32%); SJ 02 (16,29% e 1,14%); PS 13.19 (19,71% e 5,52%).

Os frutos de cacau foram produzidos o ano todo, sem sistema de irrigação e sob condições naturais de chuva. As colheitas ocorreram em duas épocas: safra (novembro a fevereiro) e temporão (abril a agosto). A primeira colheita foi realizada entre os anos de 2016-2017, na safra e no temporão, no período de pré-adubação do solo e a segunda colheita foi realizada entre os anos de 2017-2018, na safra e no temporão, no período de pós-adubação do solo.

As amostras de cacau foram reunidas em sacos de aniagem, devidamente etiquetados por tratamento clone e a quebra do cacau foi feita na área do experimento. Para a seleção das amêndoas de cacau utilizou-se 10 frutos, obtendo-se aproximadamente 60 amêndoas de cada fruto. Foram retiradas a polpa das sementes de cacau e, em seguida, as amêndoas foram secas, contadas e pesadas, foram também mantidas em estufa aclimatada sob temperatura de 60°C, ainda na Fazenda Experimental.

As amêndoas secas foram retiradas das estufas e direcionadas em sacos plásticos identificados por tratamento clone. Em seguida, as amostras foram direcionadas para os laboratórios de produtos naturais e bromatologia na Universidade de Vila Velha (UVV), onde foram devidamente armazenadas em freezers, sob temperatura de -20°C.

4.3 Preparo do material vegetal

4.3.1 Amostra

As amostras, foram selecionadas e reduzidas por quarteamento pelos pesquisadores do programa de pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, no laboratório de bromatologia. Para a homogeneização destas amostras, após o quarteamento, as amêndoas foram trituradas inteiras (tegumento/casca, embrião e endosperma) no liquidificador industrial, seguida de moagem em moinho de bola (BRASIL, 2010).

As amostras trituradas foram então identificadas por tratamento clone, período (pré e pós-adubação), embaladas em papel pardo e lacradas com lâminas de PVC transparente e armazenadas em freezer, sob temperatura de -20°C.

4.3.2 Preparo do extrato vegetal

Para a preparação dos extratos metanólicos foram utilizadas as amêndoas trituradas em uma relação ponderal de 1:4 (amêndoa de cacau:Metanol), no qual foram filtrados e concentrados com o rota-evaporador, sob temperatura de 40°C, levados à estufa (temperatura de 50°C) e seguidos de liofilização por 48 horas. Os extratos metanólicos foram empregados para as determinações da atividade antioxidante e da composição de flavonoides e antocianinas.

4.4 Determinação da composição centesimal

As análises centesimais foram realizadas com amêndoas trituradas dos seis clones de cacau, coletadas no período de pré e pós-adubação do solo. Para a determinação do teor de umidade, cinzas, lipídeos e proteínas foram empregados os métodos recomendados para o cacau, segundo Lutz (2008). Os

carboidratos foram determinados pela diferença, isto é, a percentagem de água, proteína, gordura, cinza e fibra subtraída de 100, sendo realizada em triplicata.

4.5 Determinação de flavonoides totais

A determinação de flavonoides totais foi realizada segundo método previamente descrito por Krepsky et al. (2012). De acordo com estes autores, as análises do conteúdo fenólico foram realizadas em triplicata e os resultados expressos como percentagem média de flavonoides totais, calculados como quercetina anidra.

4.6 Determinação de antocianinas - método por determinação de pH

A quantificação de antocianinas totais foi feita em triplicata de acordo com o método de Niketic-Aleksic e Hrazdina (1972) e Giusti e Wrolstad (2001). Pesou-se 1g de amêndoas de cacau, em seguida adicionou-se 30 mL da solução extratora [etanol:água-HCl (1,5N)]. A amostra foi homogeneizada em um agitador mecânico por 2 minutos. Depois, transferiu-se o conteúdo para um balão volumétrico de 50 mL (sem filtrar) envolto em papel alumínio completando-se o volume com a solução extratora. A solução foi mantida em repouso overnight sob refrigeração. Após essa etapa, o material foi filtrado com papel de filtro e na ausência de luz. O extrato foi analisado em um espectrofotômetro (Agilent Cary 60 UV-Vis) para leitura da absorbância em um comprimento de onda de 535 nm (absorção máxima) para as antocianinas. A intensa absorção na região do visível é atribuída ao pirano e ao anel B. Os resultados foram expressos em mg/g de amêndoa de cacau e o cálculo foi realizado através da fórmula: (Absorbância x fator de diluição/98,2). Sendo que 98,2 é o coeficiente de extinção molar (ϵ) da cianidina-3-glicosídeo, principal constituinte do extrato.

4.7 Determinação das atividades antioxidantes

4.7.1 Método DPPH

A avaliação da atividade antioxidante do extrato vegetal de cacau foi determinada pelo método de atividade sequestrante usando o radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH $\cdot$). Alíquotas de 0,1 mL de soluções metanólicas da amostra nas concentrações de 0,01 a 0,25 mg/mL foram adicionadas a 3,9 mL de solução metanólica de DPPH $\cdot$ 0,1mM, respectivamente. O índice de atividade

antioxidante (AAI) foi calculado pela razão entre a concentração final do DPPH e a concentração inibitória 50% (IC₅₀). O resultado foi expresso em AAI $\pm$ desvio padrão e IC₅₀ $\pm$ desvio padrão.

Concomitantemente à amostra, foram analisados um padrão (ácido ferúlico) com índice de atividade antioxidante (AAI), e um antioxidante sintético, o Butilhidroxitolueno (BHT). A atividade de cada amostra é classificada como fraca (AAI<0,5), moderada (0,5<AAI<1,0), alta (1,0<AAI<2,0) e muito alta (AAI>2,0) de acordo com o índice desenvolvido por Scherer et al. (2009).

4.7.2 Método FRAP

Utilizou-se o método descrito por Benzie e Strain (1996). Este se baseia na medida direta da habilidade dos antioxidantes (redutores) da amostra em reduzir, em meio ácido (pH 3,6), o complexo Fe³⁺/tripiridiltriazina (TPTZ), para formar Fe²⁺, de intensa cor azul e absorção máxima a 593 nm. As amostras de extratos de cacau foram diluídas em água destilada e foi acrescentado um volume de 0,1 mL de cloreto férrico a 3 mM (em ácido cítrico 5 mM) e 0,1 mL da amostra. A mistura foi mantida em banho-maria a 37 °C por 30 minutos. Após este tempo, adicionou-se 1,8 mL de solução TPTZ (2,4,6-tri(2-piridil)-striaizina) 1 mM em HCl 0,05 M. Transcorridos 10 minutos, a absorbância foi medida em comprimento de onda de 620 nm. O valor de PR foi calculado de acordo com a curva de calibração previamente preparada, sendo os resultados expressos em μ Mol TEAC.g⁻¹ (atividade antioxidante equivalente ao Trolox) (Benzie e Strain, 1999).

4.8 Análises estatísticas

Os resultados foram analisados estatisticamente através de uma Análise de variância fatorial (Two-way ANOVA), sendo realizado comparações entre pares por meio de um teste t, corrigindo os resultados correspondentes para comparações múltiplas através do teste de Tukey em $p \leq 0,05$, quando um fator ou qualquer interação entre os fatores foi considerado estatisticamente significativo. Todas as análises foram conduzidas usando o software GraphPad Prism 7.0, usando um nível de significância de 5% para o teste de hipótese.

A análise de componente principal (PCA) foi utilizada para correlacionar as variáveis lipídeo, proteína, umidade (cho), conteúdo de água (water), cinzas (ash), antocianina, calorias, DPPH, FRAP e flavonoides, nas duas condições do

SAF (pré-adubação e pós-adubação), nos seis tipos de grãos de cacau, foram executadas no ambiente R (R Core Team, 2015) com uso do pacote vegan (Legendre e Legendre, 1998; Bueno, 2001; Anderson, 2006; Warton et al., 2012).

5. RESULTADOS

5.1 Análise Centesimal

Os resultados da composição centesimal das amêndoas dos seis clones de cacau pré e pós-adubação, cultivados em SAF estão apresentados na **Tabela 3**. As siglas dos clones seguidas do número 1 (PH 16.1; PH 15.1; CCN 51.1; CEPEC 2002.1; SJ 02.1; PS 13.19.1) representam as amêndoas pré-adubação, enquanto as siglas dos clones seguidas do número 2 (PH 16.2; PH 15.2; CCN 51.2; CEPEC 2002.2; SJ 02.2; PS 13.19.2) representam as amêndoas pós-adubação.

Foram observadas diferenças significativas no teor de carboidratos entre os seis tipos de clones e entre os períodos de adubação. Os clones PH 16, CCN 51, CEPEC 2002 e SJ 02 apresentaram uma redução dos teores de carboidratos totais pós-adubação. Situação contrária ocorreu com o clone PH 15 que apresentou aumento do teor de carboidratos no período pós-adubação. Não houve diferença no teor de carboidratos no clone OS 13.19. É importante destacar que na pré-adubação, o clone com maior teor de carboidrato total foi o PH 16.1 ($62,09 \pm 3,7$) e na pós-adubação foi o clone PH 15.2 ($61,12 \pm 2,8$).

Em relação aos teores de lipídeos, houve aumento pós-adubação somente no clone CEPEC 2002, e redução nos clones PH 15 e PS 13.19, sendo esta de, 50,55% e 33,42%, respectivamente. Não houve alteração pós-adubação no teor de lipídeo nos demais clones. Na pré-adubação, o maior teor de lipídeos foi observado no clone PH 15 ($36,0 \pm 6,1$) e na pós-adubação no clone CCN 51 ($28,23 \pm 2,4$).

Foram observados aumentos significativos nos teores proteicos em todos os seis clones pós-adubação, com destaque para o PS 13.19 que teve o maior aumento (191,86%). Houve aumento significativo nos teores de umidade dos clones CEPEC 2002 (56,91%), PH 16 (42,99%) e PS 13.19 (23,62%) no período pós-adubação. Os demais clones não apresentaram diferenças significativas nesses teores. Os teores de cinzas, de todos os clones, em ambas as condições de adubação, mantiveram um padrão similar, com pouca variação.

Tabela 3. Composição centesimal dos clones de *Theobroma cacao* cultivados em SAF (média $\pm$ DP)

Clones	Carboidrato	Lipídeo	Proteína	Umidade	Cinzas
PH 16.1*	62.09 $\pm$ 3.7	21.53 $\pm$ 3.1	3.83 $\pm$ 0.7	7.35 $\pm$ 0.0	4.12 $\pm$ 0.2
PH 16.2**	54.97 $\pm$ 2.3 ^a	21.40 $\pm$ 0.9	8.63 $\pm$ 0.9 ^a	10.51 $\pm$ 0.3 ^{ab}	3.74 $\pm$ 0.4
PH 15.1*	48.43 $\pm$ 6.7	36.0 $\pm$ 6.1 ^b	2.73 $\pm$ 1.2	6.68 $\pm$ 0.1	4.13 $\pm$ 0.3
PH 15.2**	61.12 $\pm$ 2.8 ^a	17.80 $\pm$ 2.4 ^{ab}	8.90 $\pm$ 0.6 ^a	7.67 $\pm$ 0.1	4.12 $\pm$ 0.3
CCN 51.1*	57.50 $\pm$ 2.5	27.43 $\pm$ 2.6	3.13 $\pm$ 0.21	7.15 $\pm$ 0.12	3.99 $\pm$ 0.28
CCN 51.2**	50.73 $\pm$ 2.3 ^a	28.23 $\pm$ 2.4	8.17 $\pm$ 0.3 ^a	7.85 $\pm$ 0.3	3.78 $\pm$ 0.0
CEPEC 2002.1*	60.61 $\pm$ 8.4	19.80 $\pm$ 8.3	6.57 $\pm$ 0.7	6.36 $\pm$ 0.0	4.22 $\pm$ 0.5
CEPEC 2002.2**	51.19 $\pm$ 4.6 ^a	24.90 $\pm$ 5.1 ^a	9.53 $\pm$ 0.6 ^a	9.98 $\pm$ 0.8 ^a	3.42 $\pm$ 0.3
SJ 02.1*	61.42 $\pm$ 9.9	24.63 $\pm$ 8.6	1.17 $\pm$ 0.4 ^b	6.74 $\pm$ 0.1	4.13 $\pm$ 0.7
SJ 02.2**	55.04 $\pm$ 3.4 ^a	26.30 $\pm$ 4.1	8.60 $\pm$ 0.8 ^a	6.33 $\pm$ 0.1	3.55 $\pm$ 0.1
PS 1319.1*	50.07 $\pm$ 0.3	33.30 $\pm$ 1.0	3.93 $\pm$ 0.2	6.73 $\pm$ 0.1	4.53 $\pm$ 0.6
PS 1319.2**	53.86 $\pm$ 3.7	22.17 $\pm$ 3.5 ^a	11.47 $\pm$ 0.2 ^{ab}	8.32 $\pm$ 0.1 ^a	4.03 $\pm$ 0.2

*clones pré-adubação do solo (PH 16.1; PH 15.1; CCN 51.1; CEPEC 2002.1; SJ 02.1; PS 1319.1); **clones após a adubação do solo (PH 16.2; PH 15.2; CCN 51.2; CEPEC 2002.2; SJ 02.2; PS 1319.2); ^a diferença entre pré e pós-adubação dentro do mesmo clone; ^b diferença entre pré e pós-adubação entre todos os clones

5.2 Análise de Antocianinas e Flavonoides

Todos os clones apresentaram redução significativa no teor de antocianina após adubação, quando comparados com os clones pré-adubação, exceto o clone PH 16, que não apresentou mudanças significativas no teor desta substância, e o clone CCN 51, em que foi observado um aumento significativo no teor de antocianina pós-adubação (**Figura 1**).

O maior teor de antocianinas observado na condição pré-adubação foi encontrado no clone CEPEC 2002 (24,57 mg.g⁻¹) pré-adubação e na condição pós-adubação, o maior teor desta substância foi observado no clone CCN 51 (12,3 mg g⁻¹).

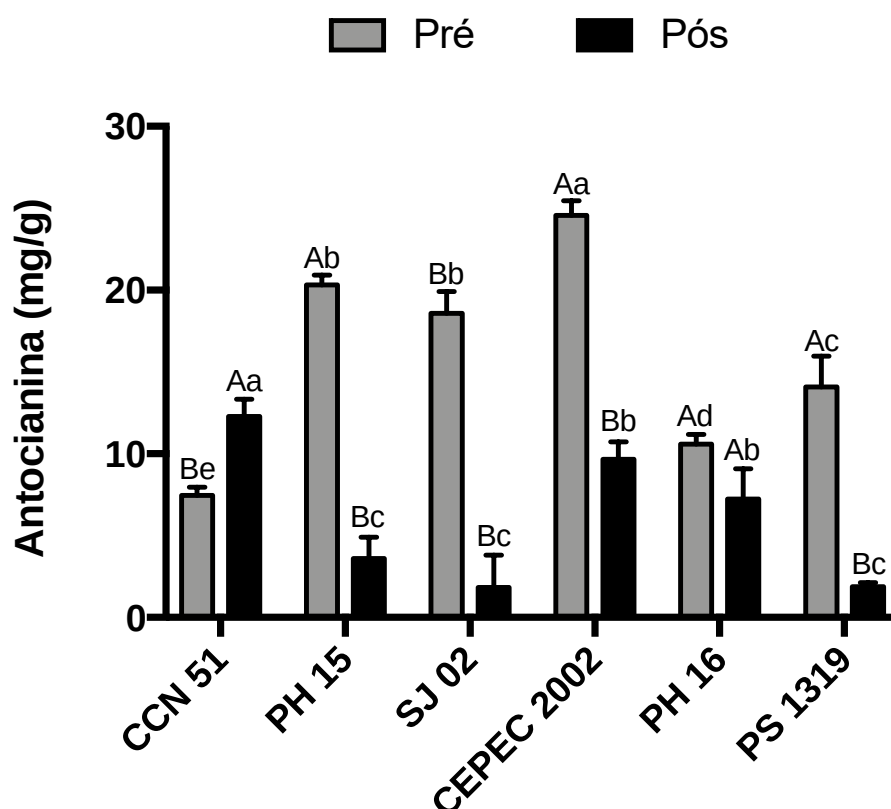


Figura 5. Teor de antocianinas em seis diferentes clones de cacau (PH 16, PH 15, CCN 51, CEPEC 2002, SJ 02 e PS 13.19) cultivados nas condições pré ou pós-adubação. Os dados foram analisados através de Two-way ANOVA combinado com teste de Tukey. Para cada clone de cacau (PH 16, PH 15, CCN 51, CEPEC 2002, SJ 02 ou PS 13.19), as barras seguidas da mesma letra em maiúsculo, nas diferentes condições de cultivo (pré ou pós-adubação), não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey a $p < 0,05$. Para cada condição de cultivo, barras seguidas da mesma letra em minúsculo, nos diferentes clones de cacau, não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey a $p < 0,05$.

Em relação ao teor de flavonoides, foi observada uma redução significativa destes compostos nos clones PH 15, CCN 51, SJ 02, CEPEC 2002 e PS 13.19 na condição pós-adubação em relação à pré-adubação (**Figura 2**). Quando comparados os clones em cada tipo de condição (pré ou pós-adubação), não foram observadas grandes diferenças significativas entre eles, desta forma, os maiores valores de flavonoides na pré-adubação foram registrados para os clones CEPEC 2002 (343,39), SJ 02 (286,01), CCN 51 (276,43) e PH 16 (276,44), e na pós-adubação os maiores valores foram observados nos clones CEPEC 2002 (286,00) e PH 16 (286,00) (**Figura 2**).

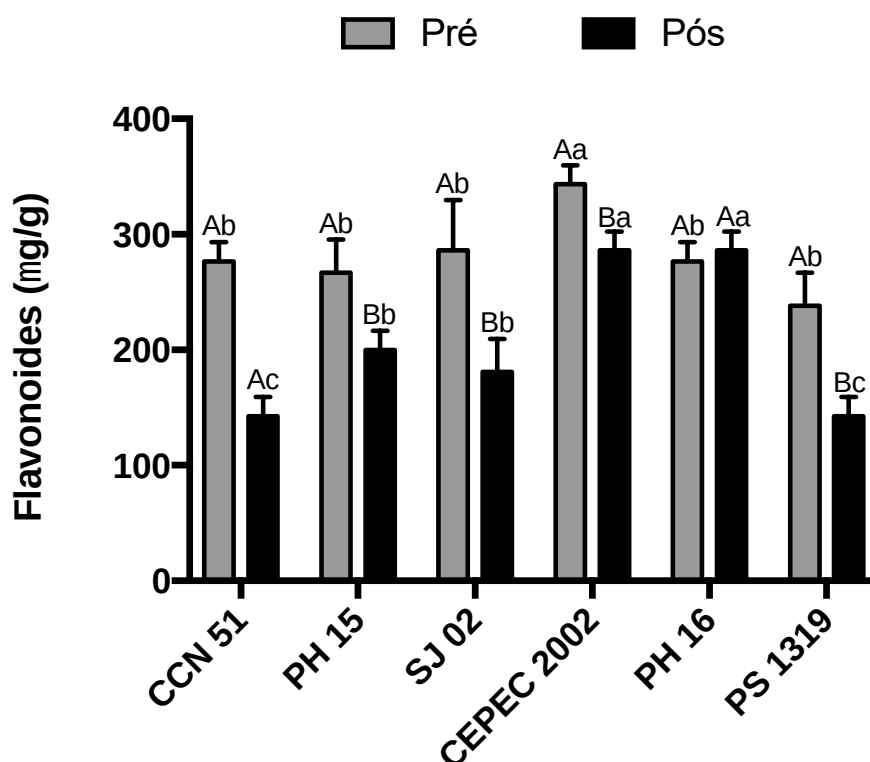


Figura 6. Teor de flavonoides em seis diferentes clones de cacau (PH 16, PH 15, CCN 51, CEPEC 2002, SJ 02 e PS 13.19) cultivados nas condições pré ou pós-adubação. Os dados foram analisados através de Two-way ANOVA combinado com teste de Tukey. Para cada clone de cacau (PH 16, PH 15, CCN 51, CEPEC 2002, SJ 02 ou PS 13.19), as barras seguidas da mesma letra em maiúsculo, nas diferentes condições de cultivo (pré ou pós-adubação), não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey a $p < 0,05$. Para cada condição de cultivo, barras seguidas da mesma letra em minúsculo, nos diferentes clones de cacau, não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey a $p < 0,05$.

5.3 Atividade sequestrante do radical - método DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila)

Observou-se que todos os clones (pré e pós-adubação) apresentaram atividade antioxidante alta ($1,0 < AAI < 2,0$), sem diferenças estatísticas entre si, com exceção para os clones PH 16 e CCN 51, no período de pré-adubação, que apresentaram atividade antioxidante moderada ($0,5 < AAI < 1,0$) (**Figura 3**). A atividade antioxidante avaliada pelo método DPPH apresenta baixa correlação com o teor de flavonoides e antocianinas.

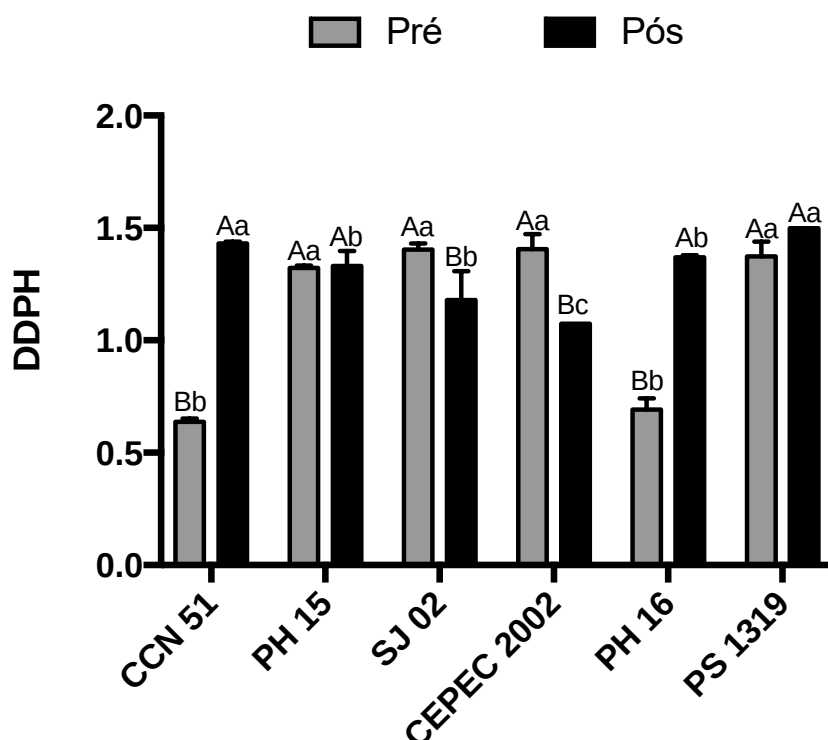


Figura 7. Avaliação da potência antioxidante dos extratos metanólicos de seis diferentes clones de cacau (PH 16, PH 15, CCN 51, CEPEC 2002, SJ 02 e PS 13.19) cultivados nas condições pré ou pós-adubação. Os dados foram analisados através de Two-way ANOVA combinado com teste de Tukey. Para cada clone de cacau (PH 16, PH 15, CCN 51, CEPEC 2002, SJ 02 ou PS 13.19), as barras seguidas da mesma letra em maiúsculo, nas diferentes condições de cultivo (pré ou pós-adubação), não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey a $p < 0,05$. Para cada condição de cultivo, barras seguidas da mesma letra em minúsculo, nos diferentes clones de cacau, não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey a $p < 0,05$.

5.4 Atividade antioxidante pelo método de redução do ferro - FRAP

Observou-se que todos os clones tiveram um aumento significativo na expressão de redução do radical Ferro no período pós-adubação, com exceção do clone CCN 51 e PH 16 ($7,14$ para $7,07 \mu\text{Mol Fe}^{++} \cdot \text{g}^{-1}$) que manteve sua expressão de redução do radical Ferro na pré e na pós-adubação, sem diferença estatística (**Figura 4**). A menor expressão de redução do Ferro foi nos clones PH 15 ($2,62 \mu\text{Mol Fe}^{++} \cdot \text{g}^{-1}$), CEPEC 2002 ($2,16 \mu\text{Mol Fe}^{++} \cdot \text{g}^{-1}$), SJ 02 ($2,47 \mu\text{Mol Fe}^{++} \cdot \text{g}^{-1}$) e PS 13.19 ($1,2 \mu\text{Mol Fe}^{++} \cdot \text{g}^{-1}$) pré-adubação, apresentando diferenças estatísticas entre os demais clones.

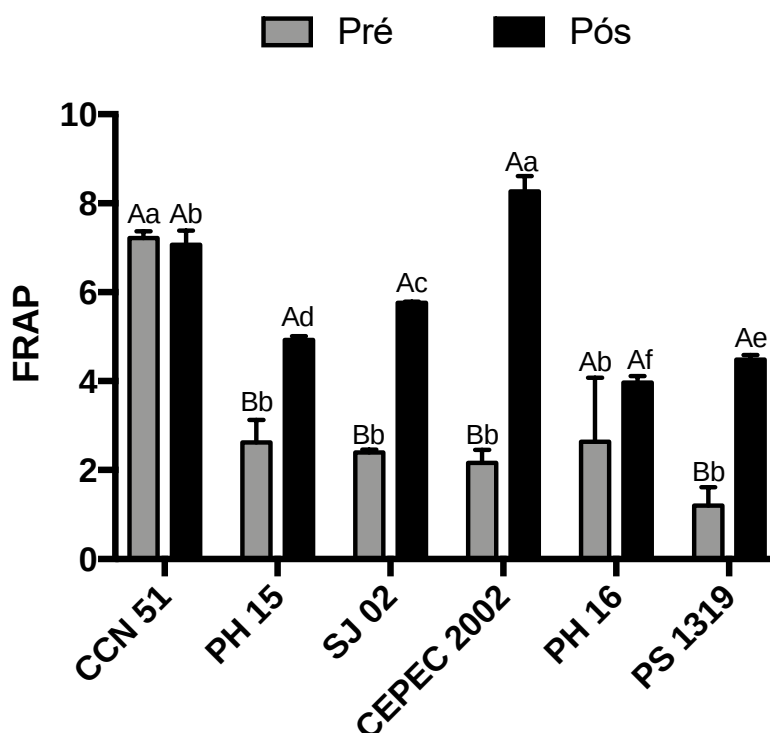


Figura 8. Atividade antioxidante em extratos metanólicos de seis diferentes clones de cacau (PH 16, PH 15, CCN 51, CEPEC 2002, SJ 02 e PS 13.19) cultivados nas condições pré ou pós-adubação. Os dados foram analisados através de Two-way ANOVA combinado com teste de Tukey. Para cada clone de cacau (PH 16, PH 15, CCN 51, CEPEC 2002, SJ 02 ou PS 13.19), as barras seguidas da mesma letra em maiúsculo, nas diferentes condições de cultivo (pré ou pós-adubação), não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey a $p < 0,05$. Para cada condição de cultivo, barras seguidas da mesma letra em minúsculo, nos diferentes clones de cacau, não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey a $p < 0,05$.

5.5 Análises de componentes principais (PCA)

Através da PCA foi possível distinguir, de forma eficiente, a diferença entre os seis diferentes clones de cacau nas condições pré ou pós-adubação, como demonstrando na **Figura 5**. A PC1 e PC2 contêm, respectivamente, 34,80 % e 21,39 % da informação contida na matriz original. Isoladas, as duas primeiras PCs não conseguem discriminar o conjunto de amostras nas condições pré ou pós-adubação, todavia, em conjunto elas carregam maior parte da informação (56,19%) e são capazes de discriminar as amostras. Observou-se também que as amostras nas condição pós-adubação são mais próximas entre si, indicando menor variância em relação ao outro grupo.

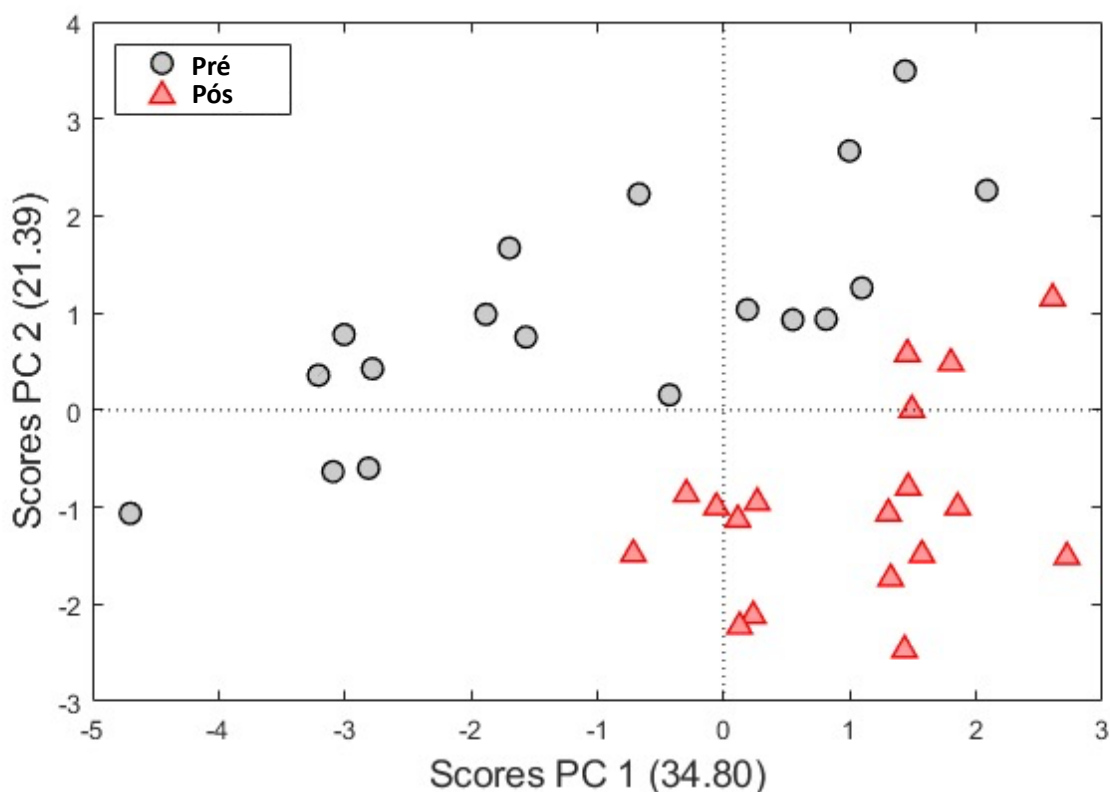


Figura 5. Gráficos dos scores da PCA separando os grupos pelas condições pré ou pós-adubação.

A partir da análise dos *loadings* foi possível correlacionar os seguintes parâmetros com base na sua direção e sentido: antocianina (ant), flavonoides (flav), cinzas (ash), lipídeos (lip), proteínas (prot), calorias (cal), conteúdo de água (wat), umidade (cho) e atividades antioxidantes (DPPH E FRAP) (**Figura 6**). Verificou-se que os parâmetros ant e wat apresentaram uma forte correlação inversa, uma vez que seus vetores estão na mesma direção, mas em sentidos opostos. O mesmo ocorreu entre os parâmetros flav e DPPH. Já os vetores de ant e DPPH estão perpendiculares entre si, mostrando que estas variáveis não estão correlacionadas. Os de flav e FRAP também estão dispostos de maneira quase perpendicular, portanto há pouca correlação entre eles. Além disso, os *loadings* da PC1 mostraram que as variáveis mais importantes são cho, FRAP, prot, wat, cal, lip e ant e na PC2 são ant, cho, prot e wat. Percebe-se que os parâmetros importantes na PC2 são também na PC1, tornando esses parâmetros imprescindíveis para a PCA.

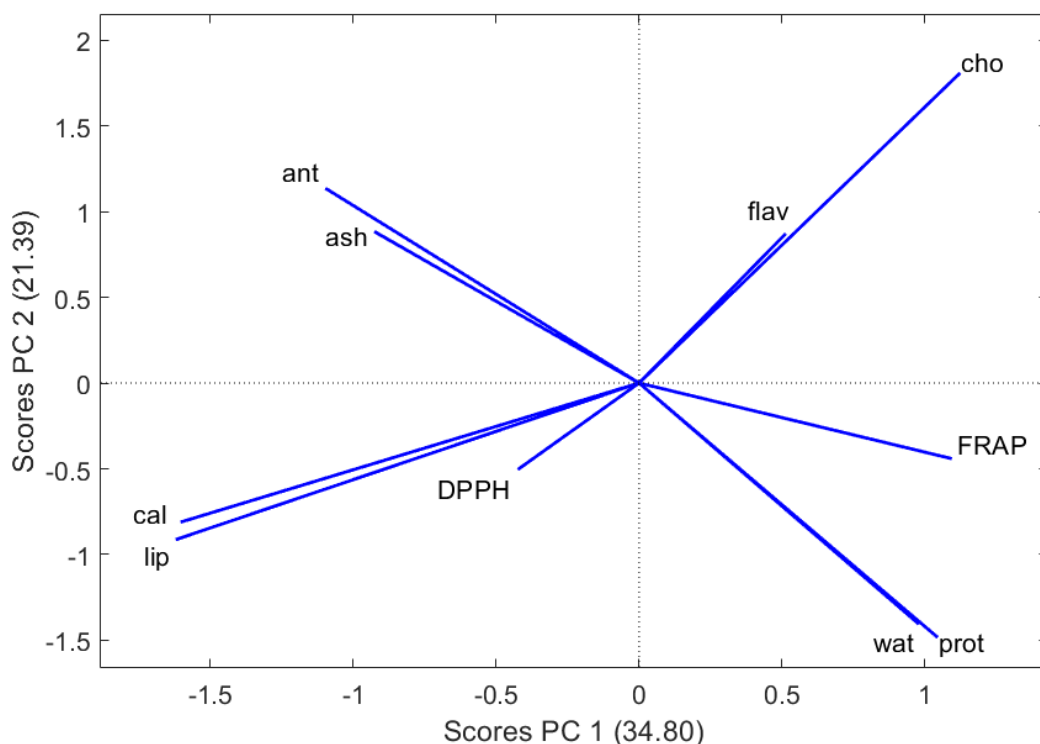


Figura 6. Gráfico dos *loadings* utilizados para construir o modelo PCA (ant: antocianina; flav: flavonoides; ash: cinzas; lip: lipídeos; prot: proteínas; cal: calorias; wat: conteúdo de água, cho: umidade; DPPH e FRAP: atividades antioxidantes).

5.6 Análise nutricional

O teor de nutrientes das amêndoas de cacau observados é mostrado na **Tabela 4**. De maneira geral, o teor de nutrientes nas amêndoas não apresentou diferença significativa entre o período pré e pós-adubação. Entretanto, pode-se observar que os teores de macro e micronutrientes variaram entre os clones estudados, tendo alguns destes apresentado maior capacidade de assimilação de certos nutrientes que os demais. Por exemplo, os clones SJ 02 apresentaram maior capacidade de assimilação de fósforo (P), enquanto os clones PH 15 apresentaram maior capacidade de assimilação de nitrogênio (N) e potássio (K). Logo, estes resultados demonstram que as variações observadas no perfil de nutrientes deveriam-se mais às variações entre os clones do que devido ao processo de adubação em si, indicando baixa eficiência neste processo (**Tabela 4**).

Tabela 4. Teor de macro e micronutrientes das amêndoas dos clones de *Theobroma cacao* L, dos períodos pré e pós-adubação, cultivados em SAF. Os dados foram analisados através de Two-way ANOVA combinado com teste de Tukey. Para cada clone de cacau (PH 16, PH 15, CCN 51, CEPEC 2002, SJ 02 ou PS 13.19), os valores seguidos da mesma letra em maiúsculo, nas diferentes condições de cultivo (pré ou pós-adubação), não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey a $p < 0,05$. Para cada condição de cultivo, os valores seguidos da mesma letra em minúsculo, nos diferentes clones de cacau, não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey a $p < 0,05$.

		CCN51		PH 15		SJ 02		CEPEC 2002		PH 16		PS 1319	
Macronutrientes		Pré	Pós	Pré	Pós	Pré	Pós	Pré	Pós	Pré	Pós	Pré	Pós
	N	1,66 Ac	1,26 Ac	4,69 Aa	2,49 Ba	3,39 Ab	2,94 Aa	2,31 Ac	2,11 Ab	0,32 Ad	1,56 Ac	2,55 Ab	2,20 Ab
	C/N	37,33 Aa	27,33 Ba	21,43 Ad	31,93 Ba	31,2 Ab	30,2 Aa	16,63 Be	28,63 Aa	30,07 Ab	29,07 Aa	26,46 Ac	24,96 Ab
	P	167,5 Ac	169,0 Ac	171,5 Ac	172,0 Ac	241,9 Aa	242,4 Aa	217,9 Ab	218,9 Ab	225,7 Ab	222,7 Ab	217,6 Ab	217,5 Ab
	K	107,1 Ab	107,9 Ab	133,5 Aa	136,5 Aa	108,6 Ab	109,6 Ab	116,8 Ab	115,3 Ab	134,9 Aa	133,9 Aa	116,1 Ab	115,0 Ab
	Ca	36,9 Ab	36,8 Ab	43,6 Aa	44,6 Aa	30,2 Ac	31,2 Ac	47,1 Aa	46,6 Aa	46,26 Aa	45,7 Aa	35,33 Ab	35,8 Ab
	Mg	58,8 Ab	58,3 Ab	67,6 Aa	66,6 Aa	51,4 Ac	51,9 Ac	71,8 Aa	72,8 Aa	74,2 Aa	75,2 Aa	72,5 Aa	71,02 Ab
	S	82,4 Ab	81,4 Ab	76,1 Ab	75,6 Ab	104,3 Aa	105,8 Aa	109,6 Aa	110,6 Aa	106,5 Aa	105,5 Aa	106,2 Aa	105,7 Aa
Micronutrientes	Na	2,1 Ab	2,2 Ab	1,7 Ac	1,8 Ac	1,7 Ac	1,8 Ac	1,7 Ac	1,7 Ac	2,1 Ab	2,1 Ab	2,6 Aa	2,5 Aa
	Al	0,82 Aa	0,72 Ba	0,46 Ac	0,45 Ab	0,44 Bc	0,51 Ab	0,61 Ab	0,33 Bc	0,4 Bc	0,60 Aa	0,35Ac	0,32 Ac
	Cd	0,004 Ad	0,004 Ac	0,006 Ab	0,006 Ab	0,003 Ad	0,004 Ac	0,005 Ac	0,005 Ac	0,008 Aa	0,009 Aa	0,005 Ac	0,006 Ab
	Cu	0,37 Ad	0,4 Ac	0,55 Ab	0,58 Aa	0,68 Aa	0,64 Aa	0,69 Aa	0,67 Aa	0,63 Aa	0,64 Aa	0,46 Ac	0,45 Ab
	Mn	0,52 Ad	0,52 Ad	0,64 Ac	0,63 Ac	0,79 Ab	0,79 Ab	1,38 Aa	1,42 Aa	1,54 Aa	1,59 Aa	0,88 Ab	0,88 Ab
	Zn	0,42 Ac	0,41 Ae	0,65 Ab	0,67 Ac	0,58 Ab	0,59 Ad	1,17 Aa	1,15 Ab	1,31 Aa	1,29 Aa	1,43 Aa	1,40 Aa

6. DISCUSSÃO

O cacau (*Theobroma cacao* L.) é uma árvore nativa da floresta amazônica, cultivado por todo mundo, principalmente devido aos frutos que são produzidos pelas mesmas, onde são encontradas as amêndoas das quais o chocolate é produzido. Em termos agrícolas, a cacauicultura é caracterizada por uma produtividade relativamente baixa, no qual um dos principais fatores preocupantes é o fato de que nem todo cacau produzido apresentar as características ideais para a produção do chocolate (Snoeck et al., 2016). Neste sentido, após cerca de 20 a 30 anos de plantio, as plantações de cacau devem ser replantadas, devido principalmente ao esgotamento da fertilidade do solo e à exposição dos cacaueiros às pragas e doenças (Ruf, 2009).

Apesar de sua produção ocorrer principalmente em países em desenvolvimento, cujo cultivo do cacau ocorre majoritariamente em pequenas propriedades e em condições nem sempre ideais, de acordo com a ICCO (2015), os especialistas estimam que por volta de 2021-2025, um milhão de toneladas extras de cacau será necessário para atender à demanda dos consumidores mundiais, sendo indispensável otimizar não só a produção, mas também a qualidade das amêndoas de cacau produzidas. Diante desse cenário, para garantir o abastecimento e aumentar a sustentabilidade das atuais áreas de cultivo de cacau, estratégias eficazes de cultivo e, acima de tudo, de baixo custo se fazem necessárias (IDH, 2014; Snoeck et al., 2016); com destaque para que tais estratégias atuem de forma a limitar o impacto desta cultura no meio ambiente.

De modo a aumentar a produtividade, produtores brasileiros estão plantando cacau em regiões secas, a pleno sol, com irrigação, fertilização inorgânica pesada e uso de clones de alto rendimento (Boza et al., 2014). Essa recomendação do uso de fertilizantes inorgânicos se aplica na cultura do cacau, pois a maioria dos pequenos produtores não fertiliza suas plantações (Vaast e Somarriba, 2014). No entanto, a intensificação da cultura do cacau pode reduzir a resiliência ecológica dos sistemas de produção e, desta forma, a combinação de árvores de sombra (em Sistema Agroflorestal) com práticas de manejo sustentáveis e de baixo custo (como a adubação orgânica), pode ser essencial para sustentar a produtividade futura do cacau. Neste sentido, este trabalho buscou avaliar o efeito do sistema de cultivo agroflorestal antes e após a

aplicação de fertilizantes de origem orgânica nas amêndoas produzidas por seis genótipos de cacaueiro.

Os resultados deste trabalho evidenciaram diferenças significativas com relação ao teor de carboidratos entre os seis tipos de clones associados aos períodos de adubação, com destaque para os clones PH 15 e PS 13.19, que apresentaram maior teor de carboidrato após o processo de adubação. Sabe-se que a implicação da adubação orgânica apresenta efeitos mais lentos do que os encontrados na adubação mineral. No entanto, a longo prazo o tipo de fertilização orgânica promove benefícios sobre a qualidade do solo, tanto química quanto biológica, uma vez que estimula a propagação de diversos microrganismos que são benéficos ao crescimento das plantas (Hendawy, 2008). Nos resultados deste presente estudo, a maior parte dos clones não apresentou respostas positivas quanto ao teor de carboidratos, isso pode ser explicado pelo tempo de adubação ser relativamente curto, uma vez que as plantas receberam o fertilizante apenas por um período de um ano. Apesar disso, os valores de carboidratos encontrados foram maiores do que os observados em um estudo feito com amêndoas de cacau não fermentados da África Ocidental (Forastero), no qual os valores das amêndoas secas eram de 21,51% e os valores dos materiais livres de gorduras eram de 49,91% (Afoakwa, 2010b). Contudo, os valores de carboidratos analisados neste estudo foram diferentes de um estudo realizado com co-produtos do cacau, localizados em Cone e Taura no Equador. Neste caso, os valores foram inferiores à casca de Cone (17,8g/100g) e Taura (23,7g/100g) e inferiores à mucilagem de cacau de Cone (68,35g/100g) e Taura (67,99g/100g) (Martínez et al., 2012).

A maior parte da produção mundial de cacau é destinada à produção do chocolate, logo, busca-se otimizar a produção destes, tanto para aumentar a produção de forma a atender à demanda, quanto para melhorar a qualidade das amêndoas colhidas. Pois, para se produzir o chocolate adequado, algumas exigências quanto aos atributos físico-químicos das amêndoas devem ser cumpridas (Saltini et al., 2013). Nenhum dos clones analisados apresentou teor de lipídeos sugeridos pela indústria de alimento para produção de chocolate, cujo valor deve ser superior a 56g/100g (Vázquez-Ovando et al., 2015). Estas características físico-químicas, que não são comparáveis com qualquer outra gordura vegetal comestível, são muito úteis na fabricação de uma grande variedade de produtos na indústria de alimentos, cosméticos e farmacêuticos

(Torres-Moreno et al., 2015). Contudo, estes clones cultivados em SAF podem atender vários critérios para serem classificados como orgânicos e podem ser destinados à produção de outros produtos à base de cacau, tais como doces, nibs, líquido e cacau cru. Em geral, os teores de proteínas foram semelhantes ao encontrado em amêndoas variadas de cacau da República Dominicana (11,8g/100g) e do Equador (12g/100g) (Bertazzo et al., 2011).

Os teores de proteínas, dos seis diferentes clones de cacau analisados neste estudo, foram baixos quando comparados ao grupo Forastero, cujos valores reportados são de 16%. Estes dados demonstram que a maioria dos indivíduos analisados tem pouca correspondência com o genótipo Forastero e, maior conexão com as variedades Criollo ou Trinitario ou, pelo menos, com variedades das Américas que compartilham desta característica (Vázquez-Ovando et al., 2015).

O aumento da umidade observado na condição pós-adubação pode estar relacionado à superioridade do solo adubado no que diz respeito ao pH, à capacidade de troca de cátions, ao teor de argila, à porosidade e à umidade (Araujo et al., 2014). A umidade significativa pode ser atribuída também aos níveis mais altos dessa variável das amostras de amêndoas não fermentadas (Afoakwa et al., 2013).

Na análise geral, os teores de carboidrato, proteínas e lipídeos encontrados neste estudo centesimal são diferentes aos encontrados em um outro estudo com amêndoas ganenses e equatorianas, mas apresentam semelhanças nos teores de umidades e cinzas com as amêndoas equatorianas, no qual estas diferenças podem ser explicadas pela variabilidade geográfica existente (Torres-Moreno et al., 2015). Por outro lado, mudanças nas concentrações de macronutrientes e micronutrientes na planta podem conferir melhores condições de sobrevivência das plantas sob condições de estresse (Santos et al., 2014).

Os valores de antocianinas em todos os clones do presente estudo foram superiores aos encontrados em um estudo realizado com amêndoas de cacau Forastero do Brasil (0,66 a 1,83mg/g), Nacional do Equador (0,08 a 0,64mg/g) e Trinitario da Venezuela (0,06 a 0,69mg/g), sob condições diferentes de temperatura e umidade (Oracz et al., 2015a). Isto é mais um indicativo de que, embora os clones do presente estudo não apresentaram valores de lipídios dentro do esperado para a produção de chocolate e manteiga de cacau, estes

clones possuem outras características para a produção de alimentos à base de cacau como nibs e produtos crus.

Os resultados do teor de flavonoides encontrados no presente estudo foram semelhantes aos encontrados em um estudo realizado com amêndoas de cacau Forastero do Brasil (164 a 270µg/g) e Trinitario da Venezuela (168 a 251µg/g), e superiores ao Nacional do Equador (70 a 140µg/g), sobre condições diferentes de temperatura e umidade (Oracz et al., 2015a). Variáveis externas, como a intensidade da luz solar e a irrigação, estimulam o aumento do conteúdo de antocianinas e glicosídeos de quercetina na parte externa da fruta, a fim de proteger as plantas. A temperatura, umidade, disponibilidade de nutrientes e uso de fertilizantes também afetam o acúmulo de polifenóis nas plantas. Percebe-se que a fertilização do solo pode levar a uma redução significativa no teor de polifenóis totais, flavan-3-ols e antocianinas (Oracz et al., 2015b).

Um estudo relatou que os flavonoides e as antocianinas regulam a inflamação associada à obesidade e apresentam inúmeras propriedades que beneficiam a saúde, devido às suas funções antioxidantes (Ali et al., 2014). O conteúdo alto destes compostos fenólicos nas amêndoas de cacau e seus produtos, os tornam especialmente importantes para a indústria farmacêutica, alimentícia e cosmética (Oracz et al., 2015b).

A atividade antioxidante foi baixa em amêndoas de cacau cultivadas em Gana e Malásia (1,3 mg/ml) e amêndoas da Costa do Marfim (1,5 mg/ml). No entanto, para estes estudos não foi calculado o AAI, somente sendo determinados a CI_{50} (Hii et al., 2009). A atividade antioxidante avaliada pelo método DPPH apresenta baixa correlação com o teor de flavonoides e antocianinas.

Em um estudo comparativo, observou-se que híbridos tinham capacidades antioxidantes maiores do que nas amêndoas tradicionais de cacau. Assim, a introdução destas novas variedades dificilmente teria um impacto negativo sobre os componentes nutricionais das amêndoas (Jonfia-Essien et al., 2008).

Um estudo feito com amêndoas de cacau cruas, torradas e desengorduradas apresentou diferenças significativas nas atividades antioxidantes pelos métodos DPPH e FRAP. À medida que a temperatura e a pressão aumentam no processo de torra, a capacidade antioxidante das amêndoas de cacau diminui. Provavelmente, isto se dá devido a diminuição dos

compostos fenólicos pelo aumento da pressão e da temperatura. Porém, a maior capacidade antioxidante se deu em amêndoas desengorduradas, devido a retirada do componente lipídico pobre em antioxidantes e, assim os antioxidantes foram essencialmente concentrados. Esta correlação sugere que o conteúdo total de flavonoides pode contribuir com uma grande parte da capacidade antioxidante das amêndoas de cacau (Hu et al., 2016).

Com relação ao teor de nutrientes das amêndoas de cacau, não foi possível observar diferenças significativas entre o período pré e pós-adubação. Segundo Isaac e Borden (2019), plantas cultivadas em sistemas agroflorestais apresentam padrões de distribuição de raízes diferenciados, em que as características funcionais das raízes das culturas revelam compensações mecanísticas para estratégias de aquisição de nutrientes, em relação às plantas cultivadas em sistema de monoculturas. Logo, o resultado encontrado neste estudo pode ser explicado devido ao cultivo em SAF prover uma complexidade vegetal que, por consequência, possibilita uma maior diversidade microbiana, que resulta em uma facilitação na captação de nutrientes específicos para as espécies vegetais (Pérez-Flores et al., 2018). Logo, apesar de não haver diferenças entre o teor de nutrientes das amêndoas de cacau nas condições pré e pós-adubação, é possível que este resultado deve-se aos benefícios do cultivo em SAF e não necessariamente ao fato de o composto orgânico não ter sido efetivo.

Uma outra possível explicação poderia ser o fato de as plantas serem adubadas com o composto orgânico por um período de apenas um ano. Sabe-se que fertilizantes de origem orgânica, apesar de muito ricos em nutrientes, nem sempre promovem respostas nutricionais rápidas para as plantas (Ding et al., 2019). A matéria orgânica apresenta estrutura complexa, dificultando a aquisição dos nutrientes presentes na mesma pelas plantas, desta forma, a adubação com compostos orgânicos pode demorar mais tempo para que as respostas nutricionais sejam, de fato, observadas nas plantas (Wang et al., 2017; Ding et al., 2019). Neste sentido, experimentos com plantas de café demonstraram que a longo prazo, a fertilização orgânica em SAF aumenta a diversidade de microrganismos no solo, que porventura promovem efeitos benéficos com relação à disponibilidade de nutrientes e carbono para as plantas (Sauvadet et al., 2019).

7. CONCLUSÃO

Por meio de análise quimiométrica, conclui-se que é possível diferenciar os clones pré e pós-adubação. As alterações na composição químico-centesimal influenciaram na capacidade antioxidante dos clones, observada principalmente pelos métodos ABTS e FRAP.

O processo de adubação do solo promoveu alterações relevantes na composição centesimal das amêndoas dos clones de cacau, cultivadas mediante SAF. Os teores proteicos apresentaram um aumento em todos os seis clones avaliados, seguido dos teores de umidade em quatro clones (PH 16, CEPEC 2002 e PS 13.19) e dos teores de lipídeos para o clone CEPEC 2002. Em contrapartida, uma redução nos teores de antocianinas e flavonoides ocorreu na maioria dos clones (PH 15, CCN 51, CEPEC 2002, SJ 02 e PS 13.19) após a adubação.

Todos os clones (pré e pós-adubação) apresentaram atividade antioxidante alta segundo o método DPPH. Através do método FRAP, percebeu-se que todos os clones tiveram um aumento significativo na expressão de redução do radical Ferro na pós-adubação, com exceção do clone CCN 51 e PH 16, que mantiveram sua expressão de redução do radical Ferro na pré e pós-adubação.

Quanto à análise nutricional, não foram observadas mudanças significativas nos teores de macro e micronutrientes das amêndoas de cacau durante os períodos pré e pós-adubação, sendo esta diferença observada apenas entre os clones, indicando que com relação a este parâmetro, o processo de adubação não apresentou eficácia.

8. REFERÊNCIAS

- Afoakwa, E. O. (2010a). Sensory Character and Flavour Perception of Chocolates. *Chocolate Science and Technology*, 73-90. <https://doi.org/10.1002/9781444319880.ch5>
- Afoakwa, E. O. (2010b). Cocoa Cultivation, Bean Composition and Chocolate Flavour Precursor Formation and Character. *Chocolate Science Technology*, 12-34. <https://doi.org/10.1002/9781444319880.ch2>
- Afoakwa, E. O.; Quao, J.; Takrama, J.; Budu, A. S.; Saalia, F. K. (2013). Chemical composition and physical quality characteristics of Ghanaian cocoa beans as affected by pulp pre-conditioning and fermentation. *Journal of Food Science and Technology*, 50: 1097-1105. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0446-5>
- Aguiar, P. C. B.; Pires, M. M. (2019). A região cacauueira do sul do estado da Bahia (Brasil): crise e transformação. *Cuadernos de Geografía: Revista Colombiana de Geografía*, 28(1): 192. <https://doi.org/10.15446/rcdg.v28n1.67437>
- AIPC. (2018). Associação Nacional das Indústrias Processadoras de Cacau. Apresentação na Câmara Setorial do Cacau.
- Albertini, B.; Schoubben, A.; Guarnaccia, D.; Pinelli, F.; Della Vecchia, M.; Ricci, M.; Di Renzo, G. C.; Blasi, P. (2015). Effect of Fermentation and Drying on Cocoa Polyphenols. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63: 9948-9953. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b01062>
- Ali, F.; Ismail, A.; Kersten, S. (2014). Molecular mechanisms underlying the potential antiobesity-related diseases effect of cocoa polyphenols. *Molecular Nutrition & Food Research*, 58: 33-48. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201300277>
- Almeida, A. A. F. D.; Valle, R. R. (2007). Ecophysiology of the cacao tree. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 19(4): 425-448. <https://doi.org/10.1590/S1677-04202007000400011>
- Alverson, W. S.; Whitlock, B. A.; Nyffeler, R.; Bayer, C.; Baum, D. A. (1999). Phylogeny of the core Malvales: evidence from ndhF sequence data. *American Journal of Botany*, 86: 1474-1486. <https://doi.org/10.2307/2656928>
- Amaro, G. C. (2010). Modelagem e simulação econômica de sistemas

- agroflorestais na Amazônia brasileira. Dissertação (Mestrado em Economia), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre-RS, 119p.
- Anderson, M. J. (2006). Distance-based tests for homogeneity of multivariate dispersions. *Biometrics*, 62: 245-253. <https://doi.org/10.1111/j.1541-0420.2005.00440.x>
- Anim-Kwapong, G. J.; Osei-Bonsu, K. (2009). Potential of natural and improved fallow using indigenous trees to facilitate cacao replanting in Ghana. *Agroforestry System*, 76(3): 533-542. <https://doi.org/10.1007/s10457-008-9196-4>
- Antônio, J. (2012). Sistemas agroflorestais como estratégia de desenvolvimento rural em diferentes biomas brasileiros. *Revista Brasileira de Agroecologia*, 7: 63-76.
- Araujo, Q. R.; Fernandes, C. A. F.; Ribeiro, D. O.; Efraim, P.; Steinmacher, D.; Lieberei, R.; Bastide, P.; Araujo, T. G. (2014). Cocoa Quality Index - A proposal. *Food Control*, 46: 49-54. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.05.003>
- Badrie, N.; Bekele, F.; Sikora, E.; Sikora, M. (2015). Cocoa Agronomy, Quality, Nutritional, and Health Aspects. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55: 620-659. <https://doi.org/10.1080/10408398.2012.669428>
- Barrios, E.; Sileshi, G. W.; Shepherd, K.; Sinclair, F. (2012). Agroforestry and soil health: trees, soil biota and ecosystem services. In: Wall, D. H. (Ed). *The oxford handbook of soil ecology and ecosystem services*. Oxford: Oxford University Press, pp315-329.
- Bartley, B. G. D. (2005). *The genetic diversity of cacao and its utilization*. Wallingford, UK: CABI Publishing.
- Batalha, P. G. (2009). Caracterização do cacau catongo de São Tomé e Príncipe, Lisboa. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos), Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa-Portugal, 94p.
- Benassi, V. L. R. M.; Souza, C. A.; Valente, F. I.; Lenzi, J. C. (2013). *Carmenta foraseminis* (Lepidoptera: Sesiidae), nova broca de frutos de cacau no Brasil. *Brazilian Journal of Agriculture*, 88(1): 70-75. <https://doi.org/10.37856/bja.v88i1.42>
- Benzie, I. F.; Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*,

- 239(1): 70-76. <https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>
- Benzie, I. F. F.; Strain, J. J. (1999). Ferric reducing (antioxidant) power as a measure of antioxidant capacity: the FRAP assay. *Methods in Enzymology*, 299: 15-36.
- Bertazzo, A.; Comai, S.; Brunato, I.; Zancato, M.; Costa, C. V. L. (2011). The content of protein and non-protein (free and protein-bound) tryptophan in *Theobroma cacao* beans. *Food Chemistry*, 124: 93-96. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.05.110>
- Boza, E. J.; Motamayor, J. C.; Amores, F. M.; Cedeno-Amador, S.; Tondo, C. L.; Livingstone, D. S. & Gutiérrez, O. A. (2014). Genetic characterization of the cacao cultivar CCN 51: its impact and significance on global cacao improvement and production. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 139(2): 219-229. <https://doi.org/10.21273/JASHS.139.2.219>
- Brainer, M. S. C. P. (2021). Produção de cacau. *Caderno Setorial ETENE*, 6(149): 1-23.
- BRASIL. (2010). *Farmacopéia Brasileira*, vol. 2. Brasília: Anvisa, 546p.
- BRASIL. (2020). Brasil quer ganhar posições na produção mundial de cacau e chocolate. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/noticias/brasil-quer-retomar-protagonismo-no-cenario-global-de-cacau-e-chocolate>. Acesso em: 10 nov. 2020.
- Brito, E. S.; García, N. H. P.; Gallão, M. I.; Cortelazzo, A. L.; Fevereiro, P. S.; Braga, M. R. (2001). Structural and chemical changes in cocoa (*Theobroma cacao* L) during fermentation, drying and roasting. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81(2): 281-288. [https://doi.org/10.1002/1097-0010\(20010115\)81:2<281::AID-JSFA808>3.0.CO;2-B](https://doi.org/10.1002/1097-0010(20010115)81:2<281::AID-JSFA808>3.0.CO;2-B)
- Bueno, A. S. (2001). A new method for non-parametric multivariate analysis of variance. *Austral Ecology*, 26: 32-46. <https://doi.org/10.1111/j.1442-9993.2001.01070.pp.x>
- Bulluck, I. R.; Bosius, M. G.; Evanylo, K.; Ristaino, J. B. (2002). Organic and synthetic fertility amendments influence soil microbial, physical and chemical properties on organic and conventional farms. *Applied Soil Ecology*, 19(2): 147-160. [https://doi.org/10.1016/S0929-1393\(01\)00187-1](https://doi.org/10.1016/S0929-1393(01)00187-1)
- Burton, B. T. (1979). *Nutrição humana*. São Paulo: McGraw-Hill do Brasil.

- Businesswire. (2020). Chocolate market in europe analysis highlights the impact of COVID-19 (2020-2024). Demand for Seasonal Chocolates to boost the Market Growth, Technavio. Disponível em: <https://www.businesswire.com/news/home/20200709005654/en/Chocolate-Market-Europe-Analysis-Highlights-Impact-COVID-19>. Acesso em: 20 nov. 2020.
- Cádiz-Gurrea, M. D. L. L.; Borrás-Linares, I.; Lozano-Sanchez, J.; Joven, J.; Fernández-Arroyo, S.; Segura-Carretero, A. (2017). Cocoa and grape seed byproducts as a source of antioxidant and anti-inflammatory proanthocyanidins. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(2): 376. <https://doi.org/10.3390/ijms18020376>
- CBI. (2020). Centre for The Promotion of imports from developing countries. What is the demand for cocoa on the European market? Disponível em: <https://www.cbi.eu/market-information/cocoa/trade-statistics>. Acesso em: 10 dez. 2020.
- CEPLAC. (2018). Cacau História e Evolução. Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira. Disponível em: http://www.ceplac.gov.br/radar/radar_cacau.htm. Acesso em: 03 out. 2020.
- Cerda, R.; Deheuvels, O.; Calvache, D.; Niehaus, L.; Saenz, Y.; Kent, J.; Vilchez, S.; Villota, A.; Martinez, C.; Somarriba, E. (2014). Contribution of cocoa agroforestry systems to family income and domestic consumption: looking towards intensification. *Agroforestry Systems*, 88: 957-981. <https://doi.org/10.1007/s10457-014-9691-8>
- Chepote, R. E. (2003). Efeito do composto da casca do fruto do cacau no crescimento e produção do cacaueiro. *Agrotrópica*, 15(1): 1-8.
- Chepote, R. E.; Sodré, G. A.; Reis, E. L.; Pacheco, R. G.; Marrocos, P. C. L.; Valle, R. R. (2013). Recomendações de corretivos e fertilizantes na cultura do cacaueiro no sul da Bahia. CEPLAC/CEPEC. Boletim Técnico, n. 203, 44p.
- Clough, Y.; Barkmann, J.; Juhrendt, J.; Kessler, M.; Wanger, T. C.; Anshary, A.; Buchori, D.; Cicuzza, D.; Darras, K.; Putra, D.; Erasmi, S.; Pitopang, R.; Schmidt, C.; Schulze, C. H.; Seidel, D.; Steffan-Dewenter, I.; Stenchly, K.; Vidal, S.; Weist, M.; Wielgoss, A. C.; Tschardt, T. (2009). Combining high biodiversity with high yields in tropical agroforests. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108: 8311-8316.

<https://doi.org/10.1073/pnas.1016799108>

- Corrales, A. V. D.; Leiva, Y. M. C.; Lazo, Z. M. M. (2015). Evaluación y determinación de la producción de vino y alcohol a partir de exudado de cacao, cooperativa multifuncional cacaotera la campesina R.L, del municipio de Matiguás en el departamento de Matagalpa. A Revista Científica Hel Higo, 5(1): 2-16. <https://doi.org/10.5377/elhigo.v5i1.8625>
- Deheuvels, O.; Xavier-Rousseau, G.; Decker-Franck, M.; Cerda, R.; Vichez-Mendoza, S. J.; Somarriba, E. (2014). Biodiversity is affected by changes in management intensity of cocoabased agroforests. Agroforestry Systems, 88: 1081-1099. <https://doi.org/10.1007/s10457-014-9710-9>
- Ding, J.; Zhu, D.; Hong, B.; Wang, H. T.; Li, G.; Ma, Y. B.; Chen, Q. L. (2019). Long-term application of organic fertilization causes the accumulation of antibiotic resistome in earthworm gut microbiota. Environment international, 124, 145-152. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.01.017>
- Diniz, D. D. M.; Druzian, J. I.; Audibert, S. (2012). Produção de goma xantana por cepas nativas de *Xanthomonas campestris* a partir de casca de cacau ou soro de leite. Polímeros, 22(3): 278-281. <https://doi.org/10.1590/S0104-14282012005000032>
- Dollinger, J.; Jose, S. (2018). Agroforestry for soil health. Agroforestry Systems, 92: 213-219. <https://doi.org/10.1007/s10457-018-0223-9>
- Duguma, B.; Gockowski, J.; Bakala, J. (2001). Smallholder cacao (*Theobroma cacao*) cultivation in agroforestry systems of West and Central Africa: challenges and opportunities. Agroforestry Systems 51: 177-188. <https://doi.org/10.1023/A:1010747224249>
- Efraim, P.; Pezoa-García, N. H.; Jardim, D. C. P.; Nishikawa, A.; Haddad, R.; Eberlin, M. N. (2010). Influência da fermentação e secagem de amêndoas de cacau no teor de compostos fenólicos e na aceitação sensorial. Ciência e Tecnol. Aliment., 30: 142-150. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612010000500022>
- Efraim, P.; Alves, A. B.; Jardim, D. C. P. (2011). Revisão: Polifenóis em cacau e derivados: teores, fatores de variação e efeitos na saúde. Brazilian Journal of Food Technology, 14: 181-201. <https://doi.org/10.4260/BJFT2011140300023>
- Embrapa. (2019). Lodo de esgoto é ótimo adubo para reflorestamento. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/44370852/lodo-de->

- esgoto-e-otimo-adubo-para-reflorestamento. Acesso em: 10 dez. 2020.
- Engelbrecht, C. J. B.; Harrington, T. C. (2005). Intersterility, morphology and taxonomy of *Ceratocystis fimbriata* on sweet potato, cacao and sycamore. *Mycologia*, 97: 57-69. <https://doi.org/10.3852/mycologia.97.1.57>
- Estival, K. G. S.; Teixeira, L. R.; Teotonio, A. N. A.; Correa, S. R. S. (2014). Da Política dos Coronéis do Cacau aos Espaços de Participação Política: Estudo de Caso da Câmara Setorial do Cacau no Brasil. *Revista de Ciências Gerenciais*, 18(27): 43-52. <http://dx.doi.org/10.17921/1415-6571.2014v18n27p%25p>
- EXAME. (2018). Nesta Páscoa, conheça as maiores empresas de chocolate do mundo. Disponível em: <exame.abril.com.br>. Acesso em 10 set. 2020.
- Fanton, S.; Cardozo, L. F. M. F.; Combet, E.; Shiels, P. G.; Stenvinkel, P.; Vieira, I. O.; Narciso, H. R.; Schmitz, J.; Mafra, D. (2021). The sweet side of dark chocolate for chronic kidney disease patients. *Clinical Nutrition*, 40(1): 15-26. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2020.06.039>
- FAOSTAT. (2020). Data Production and Trade. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/>. Acesso em: 31 dez. 2020.
- Farfán, J. A. (1994). Química de proteínas aplicada à ciência e tecnologia dos alimentos. 2ª ed. Campinas: Editora da UNICAMP, 134p.
- Ferreira, A. C. R. F.; Ahnert, D.; Melo Neto, B. A.; Mello, D. L. N. (2003). Guia de beneficiamento de cacau de qualidade. Ilhéus, BA: Instituto Cabruca.
- Figueira, A.; Lambert, S.; Carpenter, D.; Pires, J. L.; Cascardo, J. C. M.; Romanczyk, L. (1997). The similarity of cocoa flavour of fermented seeds from fingerprinted genotypes of *Theobroma cacao* L. from Brazil and Malaysia. *Tropical Agriculture*, 74: 132-139.
- FINANCIAL TIMES. (2018). Global chocolate sales hit a sweet spot. Disponível em: <<https://www.ft.com>>. Acesso em: 10 nov. 2020.
- García, S. V.; Moreta, F. A. (2013). Optimización y aprovechamiento del residuo (exudado del mucílago) de la almendra fresca del cacao (*Theobroma cacao* L.) Ccn51 en la elaboración de vinagre. *Revista de Investigación Científica*, 4(4): 7-19. <https://doi.org/10.29019/tsafiqui.v0i4.256>
- Giusti, M. M.; Wrolstad, R. E. (2001). Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV - Visible Spectroscopy Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy. *Current*

- Protocols in Food Analytical Chemistry, 1: 0-13.
<https://doi.org/10.1002/0471142913.faf0102s00>
- Gockowski, J.; Afari-Sefa, V.; Sarpong, D. B.; Osei-Asare, Y. B.; Agyeman, N. F. (2013). Improving the productivity and income of *Ghanaian cocoa* farmers while maintaining environmental services: what role for certification? International Journal of Agricultural Sustainability, 11(4): 331-346.
<https://doi.org/10.1080/14735903.2013.772714>
- Gonçalves, M. F.; Carneiro, W. M. A.; Sena, J. V. C. (2010). A cadeia produtiva do cacau na Bahia: uma análise à luz da nova economia institucional. Revista Fortaleza, 2(2): 55-68.
- Gonzales, A. D. F.; Vital, A. V. D.; Lima, J. M.; Rodrigues, M. B. S. (2013). Desenvolvimento sustentável para o resgate da cultura do cacau baseado no aproveitamento de resíduos. Interfaces Científicas, 1(2): 41-52.
<https://doi.org/10.17564/2316-3798.2013v1n2p41-52>
- Guirlanda, C. P.; Silva, G. G.; Takahashi, J. A. (2021). Caracterização, atributos e potencial de mercado do mel de cacau. Research, Society and Development, 10(4): e41410413994-e41410413994.
<http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i4.13994>
- Guyton, B. (2003). Commodities – Cocoa Review Issues, trends and performance of the chocolate and confectionery industries, New York, 40p.
- Hansen, C. E.; del Olmo, M.; Burri, C. 1998. Enzyme activities in cocoa beans during fermentation. Journal of the Science of Food and Agriculture, 77(2): 273-281. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(199806\)77:2<273::AID-JSFA40>3.0.CO;2-M](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(199806)77:2<273::AID-JSFA40>3.0.CO;2-M)
- Hendawy, S. F. (2008). Comparative study of organic and mineral fertilization on Plantago arenaria plant. Journal of Applied Sciences Research, 4(5): 500-506.
- Henderson, J. S.; Joyce, R. A.; Hall, G. R.; Hurst, W. J.; McGovern, P. E. (2007). Chemical and archeological evidence for the earliest cacao beverages. Proceedings of the National Academy of Sciences, 104: 18937-18940.
<https://doi.org/10.1073/pnas.0708815104>
- Hernández-Hernández, C.; Viera-Alcaide, I.; Morales-Sillero, A. M.; Fernández-Bolaños, J.; Rodríguez-Gutiérrez, G. (2018). Bioactive compounds in Mexican genotypes of cocoa cotyledon and husk. Food Chemistry, 240: 831-839. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.08.018>

- Hii, C.; Law, C.; Suzannah, S.; Cloke, M. (2009). Polyphenols in cocoa (*Theobroma cacao* L.). Asian Journal of Food and Agro-Industry, 2: 702-722. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822000000400003>
- Hinojosa, V.; Stoian, D.; Somarriba, E. (2003). Los volúmenes de negocio y las tendencias de precios en los mercados internacionales de cacao (*Theobroma cacao*) y banano orgánico (*Musa AAA*). Agroforestería en las Américas, 10(37/38): 63-68.
- Homen, G. A.; Reis, Q.; Valle, R. R.; Andrade, G.; Moreira, S. M. (2017). Influencia de factores agroambientales sobre la calidad del clon de cacao (*Theobroma cacao* L.) PH-16 en la región cacaotera de Bahia, Brasil. Ecosistemas y Recursos Agropecuarios, 4: 579-587. <https://doi.org/10.19136/era.a4n12.1274>
- Hu, S. J.; Kim, B. Y.; Baik, M. Y. (2016). Physicochemical properties and antioxidant capacity of raw, roasted and puffed cacao beans. Food Chemistry, 194: 1089-1094. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.08.126>
- IBGE. (2021). Produção Agrícola Municipal - PAM. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/>>. Acesso em: 20 dez. 2020.
- ICCO. (2014). Organização Internacional do Cacau. Disponível em: <http://www.icco.org/about-us/icco-news/253-zurich-certification-workshop-finds-common-ground.html>. Acesso em: 10. set. 2020.
- ICCO. (2015). ICCO: Quaterly bulletin of cocoa statistics. vol 41, London: ICCO, 120 p.
- ICCO. (2020). Organização Internacional do Cacau. Quarterly bulletin of cocoa statistics, year 2019/2020. Disponível em: <https://www.icco.org/wpcontent/uploads/Production-QBCS-XLVI-No-4.pdf>. Acesso em: 10 dez. 2020.
- IDH. (2014). Restoring soil fertility in West Africa, for a rejuvenated and economically viable cocoa sector. IDH, The sustainable trade initiative. Disponível em: <http://www.idhsustainabletrade.com/Fertilizer>. Acesso em: 05 nov. 2020.
- Isaac, M. E.; Borden, K. A. (2019). Nutrient acquisition strategies in agroforestry systems. Plant and Soil, 444(1): 1-19. <https://doi.org/10.1007/s11104-019-04232-5>
- Jonfia-Essien, W. A.; West, G.; Alderson, P. G.; Tucker, G. (2008). Phenolic

- content and antioxidant capacity of hybrid variety cocoa beans. *Food Chemistry*, 108: 1155-1159. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.12.001>
- Kongor, J. E.; Hinneh, M.; Walle, D. Van; Afoakwa, E. O.; Boeckx, P.; Dewettinck, K. (2016). Factors influencing quality variation in cocoa (*Theobroma cacao*) bean flavour profile - A review. *Food Research International*, 82: 44-52. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.01.012>
- Krepesky, P. B.; Isidório, R. G.; Souza Filho, J. D.; Côrtes, S. F.; Braga, F. C. (2012). Chemical composition and vasodilatation induced by *Cuphea carthagenensis* preparations. *Phytomedicine*, 19: 953-957. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2012.05.011>
- Lachenaud, P.; Motamayor, J. C. (2017). The Criollo cacao tree (*Theobroma cacao* L.): a review. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 64: 1807-1820. <https://doi.org/10.1007/s10722-017-0563-8>
- Lachenaud, P.; Mooleedhar, V.; Couturier, C. (1997). Les cacaoyers spontanés de Guyane. Nouvelles prospections. *Plantations, Recherche, Développement*, 4(1): 25-30.
- Legendre, P.; Legendre, L. (1998). *Numerical Ecology*. 2^a ed., Amsterdam: Elsevier, 853p.
- Lehrian, D. W.; Patterson, G. R. (1983). Cocoa fermentation. In: Reed, G. (Ed.), *Biotechnology: A Comprehensive Treatise*, vol. 5. Verlag Chemie, Basel, Switzerland, pp.529-575.
- Leite, L. R. C. (2018). *Estudo de Competitividade do Cacau e Chocolate no Brasil: desafios para aumentar a produção e participação no comércio global*. Brasília, DF: MICES, 128p.
- Leite, P. B.; Maciel, L. F.; Opretzka, L. C. F.; Soares, S. E.; Bispo, E. D. (2013). Phenolic Compounds, Methylxanthines and Antioxidant Activity in Cocoa Mass and Chocolates Produced from “Witch Broom Disease” Resistant and Non Resistant Cocoa Cultivars. *Ciencia e Agrotecnologia*, 37: 244-250. <https://doi.org/10.1590/S1413-70542013000300007>
- Leiter, J.; Harding, S. (2004). Trinidad, Brazil, and Ghana: three melting moments in the history of cocoa. *Journal of Rural Studies*, 20(1): 113-130. [https://doi.org/10.1016/S0743-0167\(03\)00034-2](https://doi.org/10.1016/S0743-0167(03)00034-2)
- Levis, C.; Costa, F. R. C.; Bongers, F.; Peña-Claros, M.; Clement, C. R.; Junqueira, A. B. et al. (2017). Persistent effects of pre-Columbian plant domestication on Amazonian forest composition. *Science*, 355(6328): 925-

931. <https://doi.org/10.1126/science.aal0157>
- Lima, C. A. A. (2001). Tratamento de esgoto sanitário em reator horizontal de leito fixo (rahlf) - escala piloto. Tese (Doutorado em Engenharia Hidráulica e Saneamento), Universidade Federal de São Carlos, São Carlos-SP, 165p.
- Lobão, D. E.; Setenta, W. C.; Lobão, E. S. P.; Curvelo, K.; Valle, R. R. (2007). Cacau cabruca: sistema agrossilvicultural tropical. In: Valle, R. R. (Ed.), Ciência, Tecnologia e Manejo do Cacaueiro, Ilhéus: Gráfica e Editora Vital Ltda, pp.290-323.
- Lopes, U. V.; Monteiro, W. R.; Pires, J. L.; Clement, D.; Yamada, M.; Gramacho, K. P. (2011). Cacao breeding in Bahia, Brazil - strategies and results. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 11: 73-81. <https://doi.org/10.1590/S1984-70332011000500011>
- Lutz, A. (2008). Métodos físico-químicos para análise de alimentos. 4ª ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz.
- Marita, J. M.; Nienhuis, J.; Pires, J. L.; Aitken, W. M. (2001). Analysis of genetic diversity in *Theobroma cacao* with emphasis on witches' broom disease resistance. *Crop Science*, 41: 1305-1316. <https://doi.org/10.2135/cropsci2001.4141305x>
- Martini, M. H. (2004). Caracterização das sementes de seis espécies de *Theobroma* em relação ao *Theobroma cacao* L. Tese (Doutorado em Alimentos e Nutrição), Universidade Estadual de Campinas, Campinas-SP, 86p.
- Martínez, R.; Torres, P.; Meneses, M. A.; Figueroa, J. G.; Pérez-Álvarez, J. A.; Viuda-Martos, M. (2012). Chemical, technological and in vitro antioxidant properties of cocoa (*Theobroma cacao* L.) co-products. *Food Research International*, 49: 39-45. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.08.005>
- Mendes, F. A. T. (2018). Agronegócio cacau no estado do Pará: origem e desenvolvimento. 1ª ed., Belém, Pará: [s.n.], 200p.
- Mercado do Cacau. (2020). Mais de 90% dos brasileiros compraram chocolate para consumo dentro de casa em 2020. Disponível em: <http://mercadodocacau.com/artigo/mais-de-90-dos-brasileiros-compraram-chocolate-para-consumo-dentro-de-casa-em-2020>. Acesso em: 01 dez. 2020.
- Meursing, E. H. (1983). Cocoa powders for industrial processing: applications, quality characteristics, specifications, methods of analysis, miscellaneous

- data and tables. 3. ed. Dezaen B.V.: The Netherlands Cocoa Fabriek, 126p.
- Misnawi, S. J.; Jamilah, B.; Nazamid, S. (2002). Effects of cocoa liquor roasting on polyphenols content, their hydrophobicity and relation to astringency. *ASEAN Food Journal*, 12: 25-35. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.06.005>
- Monteiro, W. R.; Ahnert, D. (2012). Melhoramento Genético do Cacaueiro. In: *Ciência, tecnologia e manejo do cacaueiro*. 2ed. Brasília, pp.11-30.
- Mororó, R. C. (2012). Aproveitamento dos subprodutos, derivados e resíduos do cacau. *Anais do III Congresso Brasileiro do Cacau*. Ilhéus, Bahia.
- Motamayor, J. C. (2001). Etude de la diversité génétique et de la domestication des cacaoyers du groupe Criollo (*Theobroma cacao* L.) à l'aide de marqueurs moléculaires. PhD thesis, Université Paris XI, Paris.
- Müller, M. W.; Gama-Rodrigues, A. C. (2007). Sistemas agroflorestais com cacaueiro. In: Valle, R. R. (Ed.), *Ciência Tecnologia e Manejo do Cacaueiro*. Ilhéus: Gráfica e Editora Vital Ltda, pp.246-271.
- Nair, K. P. P. (2010). *The Agronomy and Economy of Important Tree Crops of the Developing World*. Elsevier, 368p.
- Niketlc-Aleksic, G. K.; Hrazdlna, G. (1972). Quantitative analysis of the anthocyanin, content in grape juices and wines. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie*, 5: 163-165.
- Oliveira, M. L.; Luz, E. D. M. N. (2005). Identificação e manejo das principais doenças do cacaueiro no Brasil. Ilhéus: CEPLAC/CEPEC/SEFIT, 132p.
- Oracz, J.; Nebesny, E.; Żyżelewicz, D. (2015a). Changes in the flavan-3-ols, anthocyanins, and flavanols composition of cocoa beans of different *Theobroma cacao* L. groups affected by roasting conditions. *European Food Research and Technology*, 241: 663-681. <https://doi.org/10.1007/s00217-015-2494-y>
- Oracz, J.; Zyzelewicz, D.; Nebesny, E. (2015b). The Content of Polyphenolic Compounds in Cocoa Beans (*Theobroma cacao* L.), Depending on Variety, Growing Region, and Processing Operations: A Review. *Food Science and Nutrition*, 55: 1176-1192. <https://doi.org/10.1080/10408398.2012.686934>
- Padi, B.; Owusu, J. K. (1998). Towards an Integrated Pest Management for Sustainable Cocoa production in Ghana. Paper from workshop held in Panama, 3/30-4/2. Washington, D.C.: Smithsonian Institution.
- Pérez-Flores, J.; Pérez, A. A.; Suárez, Y. P.; Bolaina, V. C.; Quiroga, A. L. (2018).

- Leaf litter and its nutrient contribution in the cacao agroforestry system. *Agroforestry Systems*, 92(2); 365-374. <https://doi.org/10.1007/s10457-017-0096-3>
- Piasentin, F. B.; Saito, C. H.; Sambuichi, R. H. R. (2014). Preferências locais quanto às árvores do sistema cacau-cabruca no sudeste da Bahia. *Ambiente & Sociedade*, 17: 55-78. <https://doi.org/10.1590/S1414-753X2014000300005>
- Pierre, E. O.; Nicolas, N.; Pierre, F. ois D.; Martine, L. O.; Denis, O. N. (2015). Heritability of polyphenols, anthocyanins and antioxidant capacity of Cameroonian cocoa (*Theobroma cacao* L.) beans. *African Journal of Biotechnology*, 14: 2672-2682. <https://doi.org/10.5897/AJB2015.14715>
- Puerari, C.; Magalhães, K. T.; Schwan, R. F. (2012). New cocoa pulp-based kefir beverages: microbiological, chemical composition and sensory analysis. *Food Research International*, 48: 634-640. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.06.005>
- R Core Team. (2015). A Language and Environment for Statistical Computing. Vienna: R Foundation for Statistical Computing,
- Ramirez-Sanchez, I.; Maya, L.; Ceballos, G.; Villarreal, F. (2010). Fluorescent detection of (-)-epicatechin in microsamples from cacao seeds and cocoa products: Comparison with Folin-Ciocalteu method. *Journal of Food Composition and Analysis*, 23(8): 790-793. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfca.2010.03.014>
- Ramos, D. C.; Silva, E. N.; Su, F.; Silva, M. V.; Lannes, S. C. S. (2013). Composições alimentícias de chocolate e de gelado comestível contendo mel e cacau. Rio de Janeiro: República Federativa do Brasil - Ministério do Desenvolvimento, Indústria e do Comércio Exterior - Instituto Nacional da Propriedade Industrial.
- Repórter Brasil. (2020). Trabalho escravo no cacau da Bahia. Monitor n. 6. São Paulo: Repórter Brasil, 20p.
- Rice, R.; Greenberg, R. (2000). Cacao cultivation and the conservation of biological diversity. *Ambio*, 29: 167-173.
- Robinson, D. S.; Eskin, N. A. M. (1991). *Oxidative Enzymes in Foods*. New York: Elsevier Applied Science.
- Rolim, S. G.; Sambuichi, R. H. R.; Schroth, G.; Nascimento, M. T.; Gomes, J. M. L. (2017). Recovery of forest and phylogenetic structure in abandoned cocoa

- agroforestry in the Atlantic Forest of Brazil. *Environmental Management*, 59(3): 410-418. <https://doi.org/10.1007/s00267-016-0800-5>
- Ruesgas-Ramón, M.; Suárez-Quiroz, M. L.; González-Ríos, O.; Baréa, B.; Cazals, G.; Figueroa-Espinoza, M. C.; Durand, E. (2020). Biomolecules extraction from coffee and cocoa by-and co-products using deep eutectic solvents. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 100(1): 81-91. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9996>.
- Ruf, F. (2009). Libéralisation, cycles politiques et cycles du cacao: le décalage historique Côte d'Ivoire-Ghana. *Cahiers Agricultures*, 18(4): 343-349. <https://doi.org/10.1684/agr.2009.0317>
- Salles, B. P. A.; David, A. M. S. S.; Figueiredo, J. C.; Maia, V. M.; Santos Prudêncio, J. R.; Pereira, K. K. G. (2019). Viabilidade de Sementes de Cacau e Limitações no Armazenamento. *Revista de Ciências Agrárias*, 42(4): 1010-1014. <https://doi.org/10.19084/rca.18166>
- Saltini, R.; Akkerman, R.; Frosch, S. (2013). Optimizing chocolate production through traceability: A review of the influence of farming practices on cocoa bean quality. *Food Control*, 29(1): 167-187. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.05.054>
- Sanches, G. C. S. (2019). Análise de viabilidade econômica dos principais modais de produção de cacau no Sul da Bahia: Cabruca e SAF-Cacau Seringueira. Dissertação (Mestrado em em Desenvolvimento Econômico), Universidade Estadual de Campinas, Campinas-SP, 94p.
- Santos, C. O. (2012). Aproveitamento industrial de mel de cacau (*Theobroma cacao* L) na produção de geleia sem adição de açúcar. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos), Universidade Federal da Bahia. Salvador-BA, 92p.
- Santos, A. C. (2019a). Resíduo de cogumelo no crescimento e nutrição de mudas de cacau. Monografia (Graduação em Engenharia Agrônoma), Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas-BA, 26p.
- Santos, G.A. (2019b). Análise econômica da produção de amêndoas de cacau (*Theobroma cacao*) face à variação do preço do mercado: Um estudo aplicado no município de Ouro Preto do Oeste-RO. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Produção), Universidade Federal do Amazonas, Manaus-AM, 101p.
- Santos, F. C. G.; Kalid, R. A. (2020). Prospecção tecnológica: um estudo de

- tecnologias aplicadas ao processamento e derivados de cacau. Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento, 9(3): e56932354. : <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v9i3.2354>
- Santos, I. C.; Almeida, A.-A.F.; Anhert, D.; Conceição, A. S.; Pirovani, C. P.; Pires, J. L.; Valle, R. R.; Baligar, V. C. (2014). Molecular, Physiological and Biochemical Responses of *Theobroma cacao* L. Genotypes to Soil Water Deficit. PLoS One, 9: e115746. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0115746>
- Santos, G. B. M.; Santos, P. B. M.; Santos, A. M. (2019). Mercado de cacau fino no Brasil e no mundo. Disponível em: <http://www.ceplac.gov.br/radar/MERCADO%20DE%20CACAU%20FINO%20NO%20BRASIL%20E%20NO%20MUNDO.pdf>. Acesso em: 23 out. 2020.
- Sauvadet, M.; Van den Meersche, K.; Allinne, C.; Gay, F.; Melo Virginio Filho, E.; Chauvat, M.; Harmand, J. M. (2019). Shade trees have higher impact on soil nutrient availability and food web in organic than conventional coffee agroforestry. Science of the Total Environment, 649: 1065-1074. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.08.291>
- Scherer, R.; Wagner, R.; Duarte, M. C. T.; Godoy, H. T. (2009). Composição e atividades antioxidante e antimicrobiana dos óleos essenciais de cravo-da-índia, citronela e palmarosa. Revista Brasileira de Plantas Medicinais, 11: 442-449. <https://doi.org/10.1590/S1516-05722009000400013>
- Schoeneberger, M.M. (2009). Agroforestry: working trees for sequestering carbon on agricultural lands. Agroforestry Systems, 75: 27-37. <https://doi.org/10.1007/s10457-008-9123-8>
- Schroth, G.; Jeusset, A.; Silva-Gomes, A.; Florence, C. T.; Coelho, N. A. P.; Faria, D.; Läderach, P. (2014). Climate friendliness of cocoa agroforests is compatible with productivity increases. Mitig Adapt Strateg Glob Change, 21:67-80. <https://doi.org/10.1007/s11027-014-9570-7>
- Schroth, G.; Garcia, E.; Griscom, B. W.; Teixeira, W. G.; Barros, L. P. (2016). Commodity production as restoration driver in the Brazilian Amazon? Pasture re-agro-forestation with cocoa (*Theobroma cacao*) in southern Pará. Sustainability Science, 11: 277-293. <https://doi.org/10.1007/s11625-015-0330-8>.
- Silva, A. F; Fachinello, A. L; Boteon, M; Castro, N. R; Gilio, L. (2017). Estrutura e Renda da Cadeia Produtiva do Cacau e Chocolate no Brasil. Revista de

- Silva-Neto, P. J.; Matos, P. G. G.; Martins, A. C. S.; Silva, A. P. (2001). Sistema de produção para a Amazônia brasileira. Belém: CEPLAC.
- Snoeck, D.; Koko, L.; Joffre, J.; Bastide, P.; Jagoret, P. (2016). Cacao nutrition and fertilization. In: Lichtfouse, E. Sustainable Agriculture Reviews. Cham: Springer International Publishing, pp.55-202.
- Sodré, G. A. (2017). Cultivo do Cacaueiro no estado da Bahia. Ilhéus, BA: MAPA/CEPLCAC/CEPEC, 126p.
- Sodré, G. A.; Venturini, M. T.; Ribeiro, D. O.; Marrocos, P. C. L. (2012). Extrato da casca do fruto do cacaueiro como fertilizante potássico no crescimento de mudas de cacaueiro. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 34(3): 881-887. <https://doi.org/10.1590/S0100-29452012000300030>
- Somarriba, E.; Beer, J.; Orihuela, J. A.; Andrade, H.; Cerda, R.; DeClerck, F.; Detlefsen, G.; Escalante, M.; Giraldo, L. A.; Ibrahim, M.; Krishnamurthy, L.; Mena, V. E.; Mora-Delgado, J.; Orozco, L.; Scheelje, M.; Campos, J. J. (2012). Mainstreaming agroforestry in Latin America. In: Nair, P. K. R.; Garrity, D. P. (Eds), *Agroforestry: the way forward. Advances in agroforestry* 9. New York: Springer, pp429-453.
- Souza-Jr, J. O.; Mello, J. W. V.; Alvarez, V. H.; Neves, J. C. L. (1999). Produtividade do cacaueiro em função de características do solo. I. Características Químicas. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 23(4): 863-872. <https://doi.org/10.1590/S0100-06831999000400013>
- Taiz, L.; Zeiger, E.; Moller, I. M.; Murphy, A. (2017). *Fisiologia e desenvolvimento vegetal*. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 858p.
- Ten Hoopen, G. M.; Krauss, U. (2016). Biological control of cacao diseases. In: Bailey, B.; Meinhardt, L. (Eds.). *Cacao Diseases*. Basel: Springer Nature, pp.511-566.
- Torres-Moreno, M.; Torrecasana, E.; Salas-Salvadó, J.; Blanch, C. (2015). Nutritional composition and fatty acids profile in cocoa beans and chocolates with different geographical origin and processing conditions. *Food Chemistry*, 166: 125-132. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.05.141>
- Touzard, J. M. (1993). *L'économie coloniale du cacao en Amérique centrale*. France: CIRAD, 95p.
- Tscharntke, T.; Clough, Y.; Bhagwat, S. A.; Buchori, D.; Faust, H.; Hertel, D.;

- Ischer, D. H.; Juhrendt, J.; Kessler, M.; Perfecto, I.; Scherber, C.; Schroth, G.; Veldkamp, E. & Wanger, T. C. (2011). Multifunctional shade-tree management in tropical agroforestry landscapes. *Journal of Applied Ecology*, 48(3): 619-629. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2664.2010.01939.x>
- Tscharntke, T.; Milder, J. C.; Schroth, G.; Clough, Y. T.; DeClerck, F.; Waldron, A.; Rice, R.; Ghazoul, J. (2014). Conserving biodiversity through certification of tropical agroforestry crops at local and landscape scales. *Conservation Letters*, 8(1): 14-23. <https://doi.org/10.1111/conl.12110>
- Vaast, P.; Somarriba, E. (2014). Trade-offs between crop intensification and ecosystem services: the role of agroforestry in cocoa cultivation. *Agroforestry Systems*, 88(6): 947-956. <https://doi.org/10.1007/s10457-014-9762-x>
- Vandermeer, J. H. (2011). *The ecology of agroecosystems*. Boston: Jones and Bartlett, 387p.
- Vázquez-Ovando, A.; Molina-Freaner, F.; Nuñez-Farfán, J.; Betancur-Ancona, D.; Salvador-Figueroa, M. (2015). Classification of cacao beans (*Theobroma cacao* L.) of southern Mexico based on chemometric analysis with multivariate approach. *Eur. Food Res. Technol.*, 240: 1117-1128. <https://doi.org/10.1007/s00217-015-2415-0>
- Wang, J.; Song, Y.; Ma, T.; Raza, W.; Li, J.; Howland, J. G.; Huang, Q.; Shen, Q. (2017). Impacts of inorganic and organic fertilization treatments on bacterial and fungal communities in a paddy soil. *Applied Soil Ecology*, 112: 42-50. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2017.01.005>
- Warton, D. I.; Wright, S. T.; Wang, Y. (2012). Distance-based multivariate analyses confound location and dispersion effects. *Methods in Ecology and Evolution*, 3: 89-101. <https://doi.org/10.1111/j.2041-210X.2011.00127.x>
- WORLD COCOA FOUNDATION. (2014). Cocoa market update. Disponível em: <http://www.worldcocoafoundation.org>. Acesso em: 10 nov. 2020.
- Zempo, H.; Suzuki, J. I.; Watanabe, R.; Wakayama, K.; Kumagai, H.; Ikeda, Y.; Akazawa, H.; Komuro, I.; Isobe, M. (2016). Cacao polyphenols ameliorate autoimmune myocarditis in mice. *Hypertension Research*, 39: 203-209. <https://doi.org/10.1038/hr.2015.136>
- Zoumas, B. L.; Kreiser, W. R.; Martin, R. A. (1980). Theobromine and caffeine content of chocolate products. *Journal of Food Science*, 45: 314-316. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1980.tb02603.x>