

GILSON ROBERTO PIRES MELO

**CARACTERÍSTICAS QUALITATIVAS DE IMPORTÂNCIA NA GORDURA DA
AMÊNDOA EM NOVE HÍBRIDOS DE CACAUEIRO (*Theobroma cacao* L.)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Ciências dos Alimentos, para obtenção do título de "Mestre".

Orientador

Prof. Dr. Adimilson Bosco Chitarra

**LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
1996**

Ficha Catalográfica preparada pela Seção de Classificação e Catalogação da Biblioteca Central da UFLA

Melo, Gilson Roberto Pires.

Características qualitativas de importância na gordura da amêndoa em nove híbridos de cacauero (*Theobroma cacao* L.) / Gilson Roberto Pires Melo.-- Lavras : UFLA, 1996.

41.p. : il.

Orientador : Adimilson Bosco Chitarra.

Disseertação (mestrado) - UFLA.

Bibliografia.

1. Cacau. - Qualidade - Gordura. 2. Acido graxo - Teor. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-665.354

GILSON ROBERTO PIRES MELO

CARACTERÍSTICAS QUALITATIVAS DE IMPORTÂNCIA NA GORDURA DA
AMÊNDOA EM NOVE HÍBRIDOS DE CACAUEIRO (*Theobroma cacao* L.)

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Ciências dos Alimentos, para obtenção do título de "Mestre".

APROVADA em 30 de agosto de 1996



Dr. Luiz Ronaldo de Abreu



Dr.ª Maria Isabel Fernandes Chitarra



Dr. Adimilson Bosco Chitarra
(Orientador)

Aos meus pais, Gerinaldo e Silda Melo.

A minha esposa, Vera Melo

Aos meus filhos, Vinícius, Tarcísio e Jéssica

Aos meus irmãos Gilvan Gilmar e Sônia

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus por todas as graças alcançadas

À Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira - CEPLAC

À Universidade Federal de Lavras

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico CNPq.

Ao orientador Prof. Dr. Adimilson Bosco Chitarra

Aos Conselheiros: Prof. Dr. Luiz Ronaldo de Abreu

Profa. Dra. Maria Isabel Fernandes Chitarra

Prof. Dr. Daniel Furtado Ferreira

Aos professores e funcionários do Departamento de Ciências dos Alimentos da UFLA.

Aos amigos Wilson Monteiro, André e Júlia Pereira pelo apoio e colaboração neste trabalho.

Aos colegas do curso de Ciência dos Alimentos em especial a Luiz Carlos, Eduardo e Josivan pela colaboração

A todos aqueles que ajudaram anonimamente para a concretização deste trabalho.

SUMÁRIO

	Páginas
LISTA DE TABELAS.....	iv
LISTA DE FIGURAS.....	v
RESUMO.....	vi
SUMMARY.....	vii
1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1 Aspectos gerais	3
2.2 Flavor	6
2.3 Fermentação	8
2.4 Manteiga do cacau.....	11
3 MATERIAL E MÉTODOS	19
3.1 Material	19
3.1.1 Local de obtenção das amostras.....	19
3.1.2 Obtenção e preparo das amostras.....	20
3.2 Métodos	21
3.2.1 Gordura	21
3.2.2 Ácidos graxos	23
3.2.3 Determinação e quantificação	23
3.2.4 Delineamento experimental e análise dos resultados	24
3.2.5 Dialelo parcial.....	24
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
4.1 Teor de gordura	26
4.2 Ácidos graxos	28
4.3 Percentual de ácidos graxos saturados, insaturados, relação saturados insaturados e ponto de fusão	31

	Páginas
4.4 Análise de correlação simples entre ácidos graxos saturados, insaturados e relação saturados/insaturados com o ponto de fusão	32
4.5 Análise do dialelo parcial formado pelos progenitores	34
5 CONCLUSÕES	36
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	37

LISTA DE TABELAS

Tabela		Página
1	Percentual de triglicerídeos e nível de gordura sólida na manteiga de cacau, do Brasil, da África e da Malásia.....	15
2	Fracionamento da manteiga do cacau africano em estearina e oleína em comparação com a manteiga do cacau africano.....	16
3	Esquema balanceado em dialelo com nove híbridos, e seis parentais	20
4	Esquema de um dialelo resultante do cruzamento entre p progenitores do grupo 1 e q progenitores do grupo 2	25
5	Valores médios do teor de gordura das amêndoas F ₂ em nove híbridos de cacau.....	27
6	Valores médios do percentual de ácidos graxos na gordura da amêndoa de cacau dos nove híbridos estudados.....	30
7	Variação do percentual de ácidos graxos em amêndoas de cacau em trabalhos diversos.....	30
8	Percentual de ácidos graxos saturados, insaturados, relação saturados/insaturados e ponto de fusão da gordura dos híbridos estudados	32
9	Coefficiente de correlação simples entre ácidos graxos saturados, insaturados e relação saturados/insaturados com o ponto de fusão da gordura.....	33
10	Análise de Variância do Percentual de Gordura das Combinações Híbridas Resultantes do Cruzamento Dialélico entre Progenitores do Grupo 1, e Grupo 2	34
11	Estimativa dos efeitos da capacidade específica (dados internos da tabela), e geral de combinação entre progenitores dos grupos 1 e 2	35

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Valores médios do teor de gordura das amêndoas F 2 em nove híbridos de cacau.....	27

RESUMO

MELO, G.R.P. **Características qualitativas de importância na gordura da amêndoa em nove híbridos de cacaueteiro**(*Theobroma cacao* L.). Lavras: UFLA, 1996. 41p. (Dissertação - Mestrado em Ciências dos Alimentos).*

Foram avaliados nove híbridos de cacaueteiros para as características químicas da gordura da amêndoa, teor de gordura, ponto de fusão e ácidos graxos, foi feita correlações entre o total de ácidos graxos saturados, insaturados, e o índice saturados/insaturados com o ponto de fusão. Os parentais formadores dos híbridos foram analisados, em um esquema em dialelo parcial de Griffing (1956) modelo 4, para teor de gordura. Não foi encontrado diferença significativa entre os nove híbridos estudados para as variáveis teor de gordura e a porcentagem de ácidos graxos, devido a pequena variabilidade apresentada por estes híbridos para estes caracteres. Porém observou-se uma variação do teor de gordura de 5,85% (variando de 48,51% para o híbrido ICS 6 X EEG 65 a 54,36% para híbrido SPA 17 X SIAL 244). Os percentuais dos ácidos graxos encontrados neste trabalho, estão semelhantes aos encontrados por outros autores. As correlações não foram significativas, porém, foram positivas para ácidos graxos saturados e para o índice saturado/insaturado, e negativa para ácidos graxos

* Orientador: Admilson Bosco Chitarra. Membros da Banca: Maria Isabel Fernandes Chitarra e Luiz Ronaldo de Abreu.

insaturados. Estes resultados estão coerentes com a literatura que aponta os ácidos graxos saturados como o principal fator responsável pela consistência da manteiga do cacau. A análise estatística do dialelo parcial para os parentais formadores dos híbridos, encontrou diferença significativa para C.G.C. (capacidade geral de combinação) para os parentais do grupo 1, com destaque para o parental SPA 17, o que indica que este é um bom progenitor para o caráter teor de gordura, e que sempre que usado em combinações híbridas contribuirá de forma positiva para a expressão deste caráter.

SUMMARY

QUALITATIVE CHARACTERISTICS OF IMPORTANCE IN FAT OF ALMOND OF NINE HYBRIDS OF THE CACAO TREE NUT (*Theobroma cacao* L.).

Nine hybrids were evaluated for the chemical characteristics of fat, fat content, melting point and fatty acids and correlations between the total of saturated, unsaturated fatty acids and the saturated/unsaturated index with melting point. The hybrid forming parents were analysed, in a scheme in Griffing's partial diallel (1956) model 4, for content of fats. No significant differences were found among the new hybrids investigated for the variables: fat content and percentage of fatty acids, due to the small variability shown by these hybrids for these characters. But a maximum variation for content of fats of 5.85% was found (48.51% for the hybrid ICS 6 x EEG 65 to 54.36% for the hybrid SPA 17 x SIAL 244). The percents of fatty acids found in this work, were similar to those found by other authors. The correlations were not significant, but, were positive for saturated fatty acids and saturated/unsaturated index and negative for unsaturated fatty acids. These results were consistent with the literature which pointed to saturated fatty acids as the principal factor responsible for the consistency of cocoa butter. The statistical analysis of partial diallel, for the parents, forming hybrids, showed a significant difference in G.C.C.(general combining capacity) for group 1 pointing out to the

parental SPA 17, which pointed out that this was a good parent for the character fat content, and whenever was used in hybrid combination, it contributed in a positive way for the expression of this character.

1 INTRODUÇÃO

A expansão mundial da cultura do cacauero nos últimos anos ocorreu de forma bastante significativa ocasionando com isso uma baixa no preço do produto. Países como a Malásia, a Indonésia e alguns do continente africano, têm modernizado suas lavouras, tornando-as mais competitivas e obtendo um cacau com melhores características qualitativas. Atualmente, a baixa qualidade do cacau brasileiro deve-se a vários fatores, dentre os quais destacam-se as variedades plantadas que não apresentam boas características qualitativas, pois, a prioridade do programa de melhoramento genético brasileiro, até então, visava a produtividade e resistência à doenças; bem como a utilização de uma mistura com um grande número de híbridos com características bastantes distintas e variáveis que causavam uma desuniformidade nos padrões de amêndoas exigidos pelas indústrias; a fermentação e processos de secagem inadequados ocasionando desuniformidade no teor de umidade, presença de mofo, cheiro de fumaça, etc.

A recomendação de variedades com propriedades qualitativas mais interessantes seria, sem dúvida, um grande passo para melhorar a competitividade do nosso produto e a obtenção de um melhor preço no mercado internacional. Além do mais, a grande preocupação da maioria das companhias chocolateiras do mundo tem sido a busca da qualidade das amêndoas, encorajando assim, os países produtores a desenvolverem cultivares com melhores atributos qualitativos.

Dentre os vários elementos que compõem a amêndoa do cacau, a gordura é o constituinte de maior valor comercial e que mais interfere na qualidade do produto. Desta forma, a sua composição química e física influencia a qualidade e a preservação do produto final, o chocolate. Além disso, a proporção entre os teores de ácidos graxos saturados e insaturados também é de fundamental importância na consistência do produto.

Assim sendo, o presente trabalho teve como objetivos:

- ❶ Estudar algumas características de maior importância na qualidade da gordura da amêndoa, (teor de gordura, ponto de fusão da gordura e teor de ácidos graxos) em nove híbridos de cacauzeiro,

- ❷ Avaliar os parentais formadores destes híbridos quanto a capacidade geral e específica de combinação do teor de gordura

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Aspectos gerais

O cacaueteiro é uma planta da família das Sterculiaceae. Foi citado pela primeira vez na literatura botânica quando Charles de L'Écluse o descreveu com o nome de *Cacao fructus*. Em 1737 foi classificado por Linnaeus com a designação de *Theobroma frutus*, sendo modificado mais tarde (1753), para *Theobroma cacao*, designação que permanece até hoje (Gramacho et al., 1992).

O cacaueteiro (*Theobroma cacao* L.) é uma espécie nativa da floresta tropical úmida americana, sendo seu centro de origem, provavelmente, as nascentes dos rios Amazonas e Orinoco. A partir do seu centro natural, o cacaueteiro ultrapassou os Andes, formando as populações da Venezuela, Colômbia, Equador, países da América Central e México, como também se dispersou ao longo do rio Amazonas, originando as populações encontradas no Brasil e nas Guianas. Do Brasil, o cacaueteiro foi introduzido na África, sendo que as primeiras plantações ocorreram na ilha de São Tomé, e posteriormente, foi introduzido em Gana, expandindo-se por diversos países como Nigéria, Costa do Marfim, Camarões e Malásia, de onde provêm hoje cerca de 70% da produção mundial. No Brasil, o cultivo do cacaueteiro se estende por nove estados, sendo que o da Bahia participa com cerca de 81% da produção nacional (Gramacho et al., 1992).

As variedades cultivadas de cacau estão agrupadas em três complexos: Criollo, Forasteiro e Trinitário. Nas variedades do grupo Criollo, os frutos são grandes, geralmente apresentam a casca fina e rugosa, coloração verde-escuro quando imaturos, passando para amarelo ou alaranjado quando amadurecem. Possuem sementes grandes, de cor branca a violeta-pálida, com muita polpa, dando um produto de superior qualidade conhecido comercialmente como “cacau fino”. As plantas e os frutos são menos resistentes ao ataque de pragas e infecção. Estas variedades são cultivadas nos países da América Central. Na América do Sul existem plantações na Venezuela, Colômbia, Equador e Peru. O grupo Forasteiro apresenta frutos que variam da forma de cabaça ao amelonado, possuem sementes achatadas de cor violeta-intenso, produzindo um cacau conhecido como tipo “básico”. É a variedade mais difundida, dominando 80% da produção mundial. Predomina nas plantações da Bahia, Amazônia, e nos países produtores da África. As variedades do grupo Trinitário produzem sementes de coloração que varia desde o amarelo pálido até o roxo-escuro, e apresentam um produto de qualidade comercial intermediária. Seus principais representantes possuem características distintas, por serem variedades obtidas do cruzamento entre os Criollos e Forasteiros (Gramacho et al., 1992).

Atualmente, a maior parte do cacau produzido no mundo é originário do grupo forasteiro amazônico, tipo amelonado, que apesar de ter sabor e aroma de chocolate, não é considerado de sabor fino, como aqueles originários do grupo crioulo produzidos em alguns países. Este tipo de cacau fino normalmente é usado em formulações especiais por algumas indústrias chocolateiras, devido às características peculiares de sabor e de aroma (Powell, 1981).

Com o crescente aumento da produção mundial de cacau, os fabricantes de chocolate têm se tornado cada vez mais seletivos com a matéria prima que adquirem, pagando, inclusive, preços diferenciados por produtos que apresentem características desejadas. A

consistência da manteiga do cacau é uma característica necessária em países de clima quente. Devido a estas exigências, as grandes companhias chocolateiras têm incentivado os centros de pesquisa a desenvolverem variedades que possuam não somente atributos qualitativos superiores, mas também aos produtores a ampliarem suas áreas de cultivos com estas variedades. A avaliação do sabor e de aroma do cacau é extremamente subjetiva, o que leva muitas indústrias ou fabricantes a estabelecerem suas próprias características. Isto ocorre devido às diferentes formulações nos processos industriais para suprir o mercado de acordo com a preferência do consumidor de cada país ou região.

Para se obter um excelente chocolate, deve-se utilizar de 8 a 10 tipos de cacau diferentes. Esta diversidade permite manter uma qualidade constante e um sabor próprio de cada produto. Entretanto quando se deseja fabricar chocolates muito finos, deve-se utilizar unicamente cacau de alta qualidade como o “Criolo” (1972?).

Segundo The Cocoa, chocolate and Confectionery Alliance (1968), os principais requisitos esperados para a amêndoa de cacau pelas indústrias chocolateiras são: o tamanho médio da semente seca e fermentada superior a um grama e uniforme; percentagem de tegumento inferior a 12% do peso da semente; conteúdo de gordura superior a 55%; ausência de sabores e odores estranhos; fermentação adequada; e sementes secas, tendo 8% de umidade como limite crítico para armazenamento e ausência de mofo.

A amêndoa de cacau consiste de casca, embrião e cotilédone. A casca (tegumento) não tem valor para a manufatura. Já o cotilédone é totalmente aproveitável, devendo, conter entre 55 a 57% de manteiga de cacau (Powell, 1981).

O processo de industrialização para obtenção de produtos semi-industrializados de cacau e de chocolate, pode ser descrito do seguinte modo: a amêndoa, após passar pelos

processos de torrefação, quebra, eliminação da casca e de impurezas, é moída e refinada (através do processo de alcalinização), dando origem à massa de chocolate, também conhecida como “chocolate liquor”. Posteriormente, fazendo-se a prensagem da massa, obtém-se, simultaneamente, a manteiga e a torta de cacau que, depois de moída e refinada novamente, dá origem ao pó de cacau, matéria-prima utilizada na fabricação de bebidas à base de chocolate. Para a fabricação de determinados tipos de chocolate, a quantidade de gordura existente na amêndoa nem sempre é suficiente, havendo necessidade de quantidade adicional de gordura originária do próprio cacau (Barroco e Menezes, 1987).

2.2 “Flavor”

O “flavor” do chocolate é resultante de uma complexa mistura de mais de 300 componentes que contribuem para a sua formação (Lopez, 1974). Este potencial de sabor/aroma está geneticamente determinado na semente, mas, a liberação depende não só do processo fermentativo (Lopez, 1984), mas também das práticas culturais, secagem, torrefação e cuidados com armazenamento e transporte (Powell, 1981).

A amêndoa de cacau deve produzir um chocolate de bom “flavor”. No entanto, o “flavor” potencial como outras características, só pode ser avaliado de maneira subjetiva, não podendo ser descrito de forma analiticamente numérica, sendo impraticável sua avaliação em larga escala. A fabricação de chocolate em pequena escala em laboratório é um guia de “flavor”, mas, tem desvantagens, principalmente devido ao alto custo. A alternativa usual é o Teste de corte (Power, 1981).

O teste de corte recomendado pela F.A.O. (Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura) é adotado por muitos países, baseando-se na aparência interior da semente, que avalia a qualidade, o grau de fermentação e o processo de secagem. Neste teste observa-se a predominância de 50% ou mais de sementes bem fermentadas, com cotilédones marrons cor de chocolate, juntamente com uma proporção de 20% ou mais das amêndoas com parte de cor púrpura. As amêndoas totalmente púrpuras, não devem estar presentes, pois, indicam que não foram bem fermentadas e são a base do sabor pobre. As amêndoas com mofo visível devem ser eliminadas, porque provocam “flavor” desagradável. O mofo é um dos mais sérios problemas em cacau, pois, persiste na manufatura. A presença de cheiro de fumaça também não deve existir por não ser possível a sua futura remoção (Powell, 1981). O beneficiamento conveniente deve fixar um limite máximo de 30% de sementes parcialmente marrons e violetas e 70% de sementes totalmente marrons (Kleinert, 1965).

O teste de corte não oferece qualquer indicação em relação a qualidade do chocolate no que diz respeito ao sabor/aroma do produto, porém, amêndoas de cacau bem fermentadas, livres de defeitos grosseiros (ardósea, insetos, mofos, etc.) possuem sabor e aroma característicos do cacau da região de origem (International Standardization Organization, 1973).

2.3 Fermentação

A fermentação é a fase mais importante do beneficiamento de cacau, pois é nela que se desenvolvem os precursores do sabor e do aroma do chocolate. Para se obter uma boa fermentação é necessário que as amêndoas sejam originárias de frutos maduros, uma vez que, as amêndoas de frutos imaturos não apresentam uma fermentação adequada.

Na fermentação do cacau a polpa serve não somente como nutriente para os microrganismos, mas, também, para governar a aeração da fermentação (Quesnel, 1968). A remoção de parte da polpa, a princípio, não afeta a fermentação, não exercendo efeitos no “flavor” do chocolate (Lopez, 1979). A acidez é um fator limitante no uso de amêndoas de cacau para a manufatura, ela deve ser a menor possível. Estudo preliminar realizado por Lopez (1981), indicou que sementes parcialmente despulpadas são menos ácidas. O cotilédone não é naturalmente ácido, porém, durante a fermentação, ele absorve a acidez dos ácidos produzidos pelos microrganismos que promovem a fermentação da polpa. A absorção de ácidos durante a fermentação é essencial para o desenvolvimento dos precursores do “flavor” (Lopez, 1983).

Segundo Lopez (1983) os ácidos combinados têm pouca influência na acidez do cacau quando comparados com os ácidos livres, cujo conteúdo mostrou correlação com as mudanças de pH dos cotilédones durante o período de fermentação ($r = -0,9514$). O ácido acético foi considerado como o principal ácido volátil contido na amêndoa fermentada. Os ácidos cítrico, láctico e fosfórico são os ácidos não-voláteis mais importantes. Os ácidos acético e láctico são provenientes da atividade microbiana da fermentação, enquanto, o ácido cítrico é inerente à semente do cacau. Nas amêndoas fermentadas por 6 dias, o ácido acético é o principal ácido,

sendo que os ácidos não voláteis exercem funções secundárias. No caso de cacau subfermentado, (3 a 5 dias de fermentação), poderá ocorrer o contrário.

Há diferentes opiniões quanto a natureza da acidez em cacau. Vários estudos mostraram que tanto os ácidos voláteis, como os não voláteis são os possíveis causadores da acidez. Biehl (1965) e Quesnel (1966) afirmaram, contudo, que o ácido acético é o principal responsável pela acidez. Lopez (1974), associando aeração e acidez, observou que havia melhor correlação entre acidez e pH, do que com o total de ácidos voláteis (ácido acético). Liao (1980), observou também que a acidez do cacau da Malásia é devido ao excesso de ácido acético. Chong, Shepherd e Poon (1980) citam que, ácidos voláteis e não voláteis contribuem para acidez da amêndoa. Carr, Davies e Dougan (1979), verificaram que não há relação direta entre o pH e a concentração de ácido láctico na fermentação de cacau na Malásia e em Gana.

Weisberg, Kavanagh e Keeney (1977), analisaram os ácidos não voláteis em amêndoas de cacau em diferentes países e verificaram a presença de ácidos cítrico, láctico, fosfórico, oxálico, málico e succínico em ordem decrescente de concentração. Lopez (1983), observou diminuição da acidez com o aumento no tempo de fermentação das amêndoas de cacau, e que a maneira de melhorar a qualidade do ponto de vista da acidez, é a fermentação por 6 ou 7 dias. Essa medida, isoladamente, poderá reduzir a quantidade de ácido láctico e possivelmente de outros não voláteis, porém, não se pode resolver o problema da acidez com a eliminação do ácido acético, pois, ele é um agente importante na fermentação e no desenvolvimento do “flavor” do chocolate.

A fermentação é caracterizada por uma fase inicial anaeróbica, extendendo-se por aproximadamente 12 horas, durante as quais o açúcar da polpa é metabolizado pelos microrganismos em ácido láctico, etanol, dióxido de carbono e água. Após este tempo, oxigênio se

difunde no centro da massa com o aumento da permeabilidade do sistema através da maceração das células da polpa e da drenagem durante a fase inicial. O ácido acético aumenta rapidamente, fato este que coincide com o aumento da temperatura no centro da massa, atingindo de 28 a 47°C. Esta temperatura aumenta com a acetilação exotérmica provocada pela bactéria que produz ácido acético (Dougan, 1981).

Dias e Ávila (1993a) encontraram uma fermentação mais acelerada, quando iniciada cinco dias pós-colheita e, quando a massa em fermentação era revolvida a cada 24 horas, obteve-se também o menor teor médio de ácido láctico nos cotilédones. Dias e Ávila (1993b) observaram que o cacau que apresentou menor teor de ácido láctico (0,62%) e ácidos livres totais (30,59 meq de NaOH. 100g⁻¹ de cotilédones) foi o obtido pela secagem ao sol.

Em Gana, constatou-se que o cacau amelonado tem baixa concentração de polpa, e produz menos ácido láctico durante a fermentação (Dougan, 1979). Embora o cacau de Gana tenha estas características que contribuem para a diminuição da acidez, recomendou-se mudanças nas práticas culturais, visando a diminuição da acidez, dentre elas, a estocagem de frutos de cacau pós-colheita, pequeno período de fermentação, e revolvimentos mais frequentes (Duncan et al., 1989).

De acordo com Cross, Villeneuve e Vicent (1984), o aumento do tempo de fermentação contribui para a diminuição da adstringência com a conseqüente melhora do sabor. A adstringência é devida a presença de componentes polifenólicos das amêndoas. São expressão do metabolismo secundário das plantas, sendo de importância econômica considerável, uma vez que são também responsáveis pela cor (antocianinas). No cacau, a natureza e o papel desses compostos são pouco conhecidos, e em particular durante a fermentação, na qual se observam as principais modificações bioquímicas internas dos cotilédones.

2.4 Manteiga do cacau

A amêndoa é o produto de maior valor comercial no fruto do cacau, e o teor de gordura é o atributo de maior importância para a indústria de chocolate, pois, da sua quantidade e composição química dependerá a qualidade e a preservação do produto final, ou seja, o chocolate. A manteiga do cacau é de natureza gordurosa e consistente à temperatura ambiente. A manufatura do chocolate tem preferência por uma matéria prima (amêndoas), com maior teor de gordura e com gordura consistente, sendo estas características determinadas pelo material genético e pelas condições climáticas. Pardo e Enriquez (1984), afirmam que os fatores genéticos da gordura do cacau, parecem ser de efeito aditivo e muito influenciados pelo ambiente.

Pires et al. (1994), estudaram 276 cultivares de cacau e verificaram que o conteúdo de gordura variou de 45,6 % para o CC 57 a 59,8% para o SPA 17. Os genótipos com alto teor de gordura foram SPA 9, NA 727, CSUL 7, POUND 7, SPA 17, CAS 9, PA 51, PA 150, RB 47, CA 1, CJ 7, PA 81, CEPEC 525, CSUL 5, CEPEC 69, POUND 12, PA 13, UF 666 ,UF 296 e CJ 8 . Na coleção amazônica foram identificados como de alto teor, acima de 55%, as cultivares CAS, CJ, CSUL, RB, PA, POUND e SPA. As seleções trinitário (CC, OC, ICS e SGU), Equador (EET) e Bahia (SIC, SIAL e EEG) foram consideradas de baixo teor de gordura. Estes resultados mostram que há uma grande variabilidade, para o teor de gordura, o que possibilita ganhos em trabalhos de melhoramento genéticos.

O peso da semente após fermentada e seca deve ser acima de 1,0 grama, por ter influência direta na diminuição do percentual de tegumento e no aumento do teor de gordura

(Powell, 1981). Esteves et al. (1991) compararam três métodos de extração da gordura em quatro cultivares de cacau e constataram que o método de Soxhlet foi o mais eficiente.

Em avaliações com sementes de cacau de várias regiões brasileiras, constatou-se que os menores índices de percentual de gordura ocorreram em amêndoas de cacau produzidas no município de Santa Inês (Maranhão) e no Acre (50%), e os maiores (64,0 e 59,3 %) na Transamazônica (Pará) e Rondônia, respectivamente. Os pontos de fusão da gordura do cacau foram elevados em toda a região amazônica, quando comparados com valores obtidos na Bahia. A temperatura mínima (33,7^oC) ocorreu no Acre, Rondônia e Mato Grosso e a máxima (35^oC) foi predominante nos demais locais (Ribeiro, 1984). Estes resultados evidenciam a influência climática sobre o percentual de gordura e o ponto de fusão, caracterizando a boa qualidade do cacau da Amazônia. Ávila e Dias (1991) verificaram que o teor de gordura dos cotilédones, variou de 55,3% em Rondônia à 56,6%, no Amazonas e no Pará. Observaram também diferenças sazonais, ou seja 55,6% em abril, a 56,6% em junho.

Ambos os progenitores, feminino e masculino influenciam significativamente o teor de gordura da semente F_1 , há também correlação positiva e significativa ($r = 0,56$ a $0,66$) entre peso de semente e conteúdo de gordura, em sementes, para clones femininos (Beek, Esky e Toxopeus 1977).

O principal problema para a conservação do chocolate é decorrente do seu alto conteúdo de gordura e do seu baixo ponto de fusão. Um maior percentual de ácidos graxos saturados, em relação aos insaturados, contribui positivamente para a elevação da consistência da gordura do cacau e da elevação do ponto de fusão, e conseqüentemente, da estabilidade do chocolate em barra, o que eleva a sua qualidade e aumenta a manutenção de suas características originais. Segundo Berbert (1976), a temperatura é o fator climático decisivo para a formação de

valor máximo de ácidos graxos saturados, os quais são responsáveis pelo maior grau de solidificação das gorduras. Powell (1984), sugere que as condições climáticas podem ser decisivas nas propriedades químicas e físicas da gordura do cacau.

Ao comparar as características da gordura do cupuaçu (*Theobroma grandiflora* L.) e cacau tigre (*T. bicolor* L.), com a gordura do cacau comum (*T. cacao* L. variedade comum), verificou-se que as manteigas daquelas duas espécies, apesar de possuírem ponto de fusão respectivamente igual e superior à manteiga do cacau comum, são bem mais macias que esta última, fato que as torna inadequadas para o fabrico de chocolate em barra, porém, podem ser utilizadas na fabricação de margarinas. A maciez destas duas espécies, além de estar relacionada com o tipo e disposição dos ácidos graxos que constituem os triglicerídeos, parece estar relacionada também, com a presença de outras substâncias, provavelmente álcoois e ésteres (Berbert, 1981).

Os híbridos de cacauzeiros em número de dez, representando as famílias do tipo UPA x TRINITÁRIOS ou UPA x AMELONADO, criados na Costa do Marfim têm um elevado índice de dureza. O Índice de solidificação da gordura (SFI), que corresponde à percentagem da parte sólida presente na manteiga a uma dada temperatura, varia de 80 a 82%, enquanto que em outras amostras de origem da Costa do Marfim, o SFI varia de 70 a 73%. Tais amostras possuem uma dureza ligeiramente superior a da manteiga do cacau proveniente da Malásia, e claramente superior a de origem brasileira ou dominicana. Estas manteigas são ricas em ácidos graxos saturados e a relação ácido graxo saturado/ácido graxo insaturado varia de 1,77 a 1,83, segundo os respectivos híbridos. Para as outras manteiga da Costa do Marfim esta relação é de 1,55 a 1,60 (Guyot et al., 1984).

. Esteves, et al. (1994) identificaram os ácidos graxos C14:0, C16:0, C16:1, C17:0, C18:0, C18:1, C18:2, C18:3 e C20:0 em quatro cultivares de cacau brasileiro, havendo predominância dos ácidos graxos C18:1 (32,64 a 34,74 %) C18:0 (29,69 e 37,24%) e C16:0 (25,65 a 35,33%).

A gordura do cacau da Malásia, é mais dura do que a de Gana, porque tem o percentual de ácido graxo C 18:0 mais alto, e o percentual de C 18:1 e C 18:2 mais baixo do que a gordura do cacau de Gana, o que resultaria também em um maior ponto de fusão (Chin e Zainuddin, 1984).

A manteiga do cacau é quase a única gordura vegetal que tem, em quantidade, um tipo de triglicerídeo chamado de mono-insaturado, com um ácido oléico (insaturado) na posição 2 e com dois ácidos saturados nas posições 1 e 3, designado como SOS onde “S” é saturado e “O” oléico. Os níveis de SOS em diferentes manteigas de cacau estão na Tabela 1, onde pode-se ver a percentagem de gordura sólida presente em manteigas de cacau em uma determinada temperatura. Observa-se, também, que a consistência da manteiga do cacau é diretamente relacionada com o nível de SOS na amostra. A manteiga de cacau da Malásia é mais consistente do que a brasileira devido ao seu maior conteúdo de SOS, sendo que, a africana tem consistência intermediária (Weyland, 1992).

TABELA 1: Percentual de triglicerídeos e nível de gordura sólida na manteiga de cacau, do Brasil, da África e da Malásia (Weyland 1992).

Triglicerídeos %	Brasil	África	Malásia
SSS	1,0	1,4	2,3
SOS	63,7	76,8	84,0
SLnS + SOO	26,8	15,3	11,9
OOO + SOLn	8,0	6,1	1,3
>3 INSAT	0,4	0,3	0,2
S = Saturado	O = Oléico	Ln = Linoléico	
Nível de Gord Sólida (%)	Brasil	África	Malásia
20	66,3	76,2	81,2
25	60,1	70,4	76,2
30	36,9	45,1	54,8
35	0,0	0,0	0,1

temperatura das amostras estabilizada a 26^oC

O uso de sucedâneos da manteiga de cacau depende de suas similaridades com as propriedades físico-químicas e funcionais da manteiga do cacau pura, para que quando adicionadas à mesma, não formem misturas que baixem o ponto de fusão do produto. Todas essas gorduras são compostas de triglicerídeos, as quais são submetidas a hidrogenação e fracionamento técnicas comerciais para modificar e manufaturar as gorduras de óleos, visando o seu uso como sucedâneos da manteiga de cacau. O fracionamento é um processo utilizado em óleos e gorduras, onde os componentes dos triglicerídeos são separados com base no seu ponto de fusão. O óleo na fase líquida é resfriado na presença de um solvente orgânico até ocorrer a cristalização. A medida que a temperatura decresce mais triglicerídeos se cristalizam até obter um material sólido ou estearina. Neste ponto a estearina pode ser separada do líquido (oleína) e do solvente, por filtração a vácuo. Ambas estearina e oleína, podem ser purificadas por solventes e refinados, obtendo-se produtos finais (fracionamentos da gordura de cacau). O nível de triglicerídeo SOS na

estearina é concentrado, acima de 90%, o que a torna mais consistente do que a manteiga do cacau, enquanto que a oleina é mais macia do que a manteiga do cacau (Weyland 1992) (Tabela 2).

TABELA: 2 Fracionamento da manteiga do cacau africano em estearina e oleina em comparação com a manteiga do cacau africano (Weyland, 1992).

Triglicerídeo	Estearina%	Oleina %	manteiga do cacau africano %
SSS	3,9	1,2	1,4
SOS	92,4	64,9	76,8
SLnS + SOO	3,1	27,5	15,3
OOO + SOLn	0,1	2,6	6,1
>3 INSAT	0,1	3,0	0,3
S = saturado	O = Oléico	Ln = Linoléico	
gordura sólida (%)	Estearina %	Oleina %	mantanteiga do cacau africano %
20	95,0	48,3	76,2
25	91,2	36,0	70,4
30	73,5	0,0	45,1
35	15,9	0,0	0,0

temperatura das amostras estabilizadas a 26°C.

Devido ao fato do fracionamento da manteiga do cacau ser produzido apartir da própria manteiga de cacau e conter os mesmos triglicerídeos, não há incompatibilidade em mistura-los. Isto tornará possível a obtenção de manteiga de cacau brasileiro com as mesmas características da manteiga do cacau africano (mais consistente), bastando, para tal, adicionar-se à primeira, uma quantidade correta de estearina (Weyland, 1992).

Um sucedâneo pode ser derivado de um único óleo ou gordura, ou da combinação de vários óleos e gorduras. Os principais sucedâneos são conhecidos como “CBS” (Cocoa Butter Substitut) ou “CBE” (Cocoa Butter Equivalent), que segundo Candy & Snack Industry (1981) correspondem aos seguintes tipos:

- a. “CBS” láuricos: gorduras incompatíveis com a manteiga de cacau, mas com propriedades físico-químicas semelhantes;
- b. “CBS” não láuricos: gorduras parcialmente compatíveis com a manteiga do cacau;
- c. “CBE” gorduras totalmente compatíveis com a manteiga de cacau e similares nas propriedades físico-químicas.

Uma das características da alta qualidade da manteiga do cacau é conter triglicerídeos com ácidos saturados nas posições 1 e 3 e insaturado na posição 2, com 23 a 30 % de ácido palmítico (C16:0), 32 a 37% de esteárico (C18:0) e 30 a 37% de oléico (C18:1) (Fincke, 1965). A enzima responsável pela inserção de uma dupla ligação no C18:0, e convertendo-o a C18:1 é a Δ^9 dessaturase. Entretanto, para se obter uma alta qualidade em CBEs, existe a expectativa de se usar um mutante com a particularidade de inibir a Δ^9 dessaturase (Baker e Lynen, 1971).

Algumas Oleaginosas anuais, tais como *Apiotrichum curvatum*, quando se desenvolvem em meio de cultura sob condições limitadas de nitrogênio, acumulam lipídeos acima de 60% do seu peso seco (Rantledge 1982), os quais podem ser constituídos de até 90 % de triglicerídeos que podem ser usados em sucedâneos da gordura do cacau (Rolph, Moreton e Harkood, 1989). Avanços recentes têm incluído a produção de ácido graxo insaturado mutante (UfaMs) da *Apiotrichum curvatum*, e feito a transformação de oléico (C18:1) em esteárico (C18:0) através de tratamento mutagênico. O mutante UfaM3, bloqueia a conversão do ácido

graxo esteárico para oléico, quando cultivado em meio limitado de nitrogênio (Ykema et al., 1989) e (Hassan et al., 1993).

Segundo alguns autores, (Are e Atanda 1972 e Atanda e Jacob 1973), há uma ampla variabilidade para caracteres genéticos ligados as amêndoas de cacau, o que evidencia a importância da pesquisa destes fatores, pois, a variabilidade genética é a base de qualquer programa de melhoramento, e conseqüentemente, a exploração desta diversidade tornará possível um ganho em qualidade.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Material

3.1.1 Local de obtenção das amostras

As amostras de amêndoas de cacau, foram procedentes, de progênies existentes no experimento 37, instalado em 1982, na Estação Experimental Medeiros Neto, no CEPEC (Centro de Pesquisa do Cacau) em Ilhéus-Ba, a 22km do litoral em um clima de floresta tropical quente e úmido, sem estação seca definida, precipitação total anual acima de 1300 mm. Este experimento onde as amostras foram obtidas foi instalado em blocos casualizados com 18 cruzamentos, onde cada cruzamento biclinal encontra-se repetido oito vezes em parcelas retangulares com 10 plantas, em espaçamento de 3x3 metros. O objetivo original do referido ensaio foi melhorar variedades de cacau com relação ao tamanho das amêndoas e produtividade.

3.1.2 Obtenção e preparo das amostras

Foram utilizadas amêndoas F_2 procedentes de nove híbridos formando um esquema balanceado em dialelo parcial (tabela 3), selecionadas dentre as 18 constantes do ensaio 37, envolvendo parentais contrastantes para o teor de gordura.

TABELA 3. Esquema balanceado em dialelo parcial com nove híbridos, e seis parentais.

PARENTAIS $G_1 \backslash G_2$	EEG 65	SIC 18	SIAL 244
UF 296	X	X	X
SPA 17	X	X	X
ICS 6	X	X	X

Os parentais utilizados neste trabalho, foram selecionados com base nos resultados obtidos por Pires et al (1994), que trabalharam com 276 clones, indicando parentais de alto e baixo teor de gordura. Dentre eles, utilizou-se, como parentais de elevado teor de gordura os ICS 6, SPA 17, e UF 296, cujos percentuais de gordura na amêndoa foram respectivamente (53,90; 59,80; 56,67)⊙. Como parentais de baixo teor, utilizou-se os SIC 18, EEG 65, SIAL 244, cujos percentuais foram respectivamente (50,26; 51,39; 53,85)⊙. ⊙ comunicação pessoal

As amostras de amêndoas, foram obtidas de frutos autofecundados e por intercruzamentos de plantas dentro da mesma progênie, e algumas amostras de polinização livre. Utilizou-se como parcela para as amostras de polinização controlada, amêndoas de três a quatro frutos por planta, Para as amostras de polinização livre, utilizou-se de 3 a 7 frutos de plantas diferentes, porém, da mesma parcela de campo.

Após a colheita dos frutos de cacau no estágio maduro, (as amêndoas não foram fermentadas) foi feita a retirada da mucilagem das amêndoas com pó de serra, em seguida as amêndoas foram destegumentadas, secas em estufa a 105⁰C até peso constante e, posteriormente trituradas até ficarem em forma de pó de cacau. Após este processo, foram transportadas para o laboratório de Fisiologia e Bioquímica Pós Colheita de Frutos e Hortaliças do DCA - UFLA, Lavras-M.G., onde foram realizadas as análises de laboratório.

3.2 Métodos

3.2.1 Gordura

a) Extração e quantificação

A gordura foi extraída pelo método recomendado pelo Office International du Cacao et du Chocolat (1963), que utiliza o extrator de soxhlet, por um período de 4 horas sob refluxo, e éter de petróleo 30-60⁰C como solvente, após a digestão da amostra com ácido clorídrico 4N.

A quantificação da gordura foi realizada por diferença de peso entre as amostras iniciais e a gordura extraída, expressando-se o resultado em percentagem.

b) Ponto de fusão

Efetuada pelo método capilar preconizado pela Association of Official Agricultural Chemists (1965) cujo procedimento é o seguinte:

Tomar aproximadamente 10mm da gordura fundida e filtrada dentro de um tubo capilar de paredes delgadas e diâmetro interno de 1mm, selar a parede terminal do tubo contendo a amostra numa pequena chama, e colocar os tubos contendo a gordura num refrigerador, 4 a 10°C, por aproximadamente 16 horas, para solidificar a gordura.

Após retirar do refrigerador prende-se o tubo a um termômetro de precisão, com graduação de 0,2°C, toma-se um becker de 500 ml, instalar na chapa do agitador magnético, e abastecer com 300 ml de água destilada fria. Submergir o conjunto constituído pelo tubo capilar mais termômetro na água do becker, aproximadamente 3 cm, iniciar com a temperatura da água entre 8 a 10°C, e aplicar calor de forma a aumentar a temperatura da água de 0,5°C por minuto agitando lentamente a água do banho. Tomar como ponto de fusão a temperatura na qual a gordura se torna transparente, considerando como resultado a média de 3 determinações, com variações não superiores a 0,5°C.

3.2.2 Ácidos graxos

a) Metilação

A preparação dos ácidos graxos para a cromatografia gasosa, foi feita através da transformação dos ácidos graxos livres em ésteres metílicos, de acordo com o método da Analytical Methods of the Office International du Cacao et du Chocolat (1973). Este método é baseado na esterificação dos ácidos graxos com metanol, após saponificação, usando como catalisador o trifluoreto de boro (BF_3). Após a metilação os ésteres metílicos foram conservados a 4°C , até a sua análise.

3.2.3 Determinação e quantificação

Foi usado para a determinação da composição dos ácidos graxos um cromatógrafo a gás modelo 1400 Varian, com detector de ionização de chama (DIC), acoplado a um integrador intralab 4290, trabalhando nas seguintes condições: A temperatura do injetor e do detector foram mantidas a 220°C ; a temperatura da coluna, foi programada em um gradiente de 150 a 200°C , com elevação constante de $\beta = 2^\circ\text{C}/\text{min}$; o gás de arraste utilizado foi o nitrogênio, com um fluxo de $30\text{ml}/\text{mim}$, atenuação 32×10^{-11} ; o fluxo do hidrogênio foi de $30\text{ml}/\text{mim}$, e do oxigênio de $350\text{ml}/\text{mim}$. Os componentes dos ésteres metílicos dos ácidos graxos foram separados em um coluna de aço inox ($1/8'' \times 1/8$ m) de 6 pés de comprimento e $1/8$ de polegada de diâmetro interno, tendo como fase estacionária succinato de dietileno glicol (DEGS) a 10% em Cromosorb W, como suporte sólido. Para a determinação dos ácidos graxos, foi injetado $1\mu\text{l}$ da solução dos ésteres metílicos.

3.2.4 Delineamento experimental e análise dos resultados

O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado (DIC), com 4 repetições, consistindo de 9 híbridos oriundos de seis parentais contrastantes, para teor de gordura em forma de dialelo parcial, . A decomposição dos efeitos maternos (G_1), paternais (G_2), e interação ($G_1 \times G_2$), permitiu avaliar os parentais quanto a sua capacidade geral e específica de combinação para as características estudadas e dar uma idéia razoável sobre o modo de herança destes componentes da amêndoa do cacau.

Os resultados foram submetidos a análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade, com auxílio do programa SANEST-Sistema de Análise Estatística, de autoria de Elio Paulo Zonta e Amauri Almeida Machado, do instituto Agrônômico de Campinas.

Foram feitas análises de correlação linear entre os resultados de ácidos graxos saturados, insaturados, e da relação saturados/insaturados com o ponto de fusão.

3.2.5 Dialelo Parcial

As análises estatísticas dos progenitores foram realizadas usando-se o programa MAPGEN, de autoria do Dr Daniel Furtado Ferreira, professor do departamento de estatística da UFLA, utilizando o modelo de Dialelo método 4 de Griffing (1956).

Foram avaliados p e q combinações híbridas, resultantes do cruzamento entre p progenitores do (grupo 1) e q progenitores do outro grupo (grupo 2). O esquema dialélico é apresentado na (Tabela 4).

TABELA 4. Esquema de um dialelo resultante do cruzamento entre p progenitores do grupo 1 e q progenitores do grupo 2

Grupo1\Grupo2	1	2	---	q
1	Y_{11}	Y_{12}	---	Y_{1q}
2	Y_{21}	Y_{22}	---	Y_{2q}
---	---	---	---	---
p	Y_{p1}	Y_{p2}	---	Y_{pq}

O modelo proposto por Griffing (1956) para descrever as observações experimentais, tem a caracterização apresentada a seguir:

$$Y_{ij} = \mu + g_i + g_j + s_{ij} + \varepsilon_{ij}$$

$$i = 1, 2, \dots, p \text{ e } j = 1, 2, \dots, q$$

onde:

Y_{ij} : Valor médio da combinação híbrida entre o i-ésimo progenitor do grupo 1 e j-ésimo progenitor do grupo 2;

μ : Média geral

g_i : Efeito da capacidade geral de combinação do i-ésimo progenitor do grupo 1;

g_j : Efeito da capacidade geral de combinação do j-ésimo progenitor do grupo 2;

s_{ij} : Efeito da capacidade específica de combinação entre progenitores de ordem i e j, dos grupos 1 e 2 respectivamente;

ε_{ij} : Erro experimental médio.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

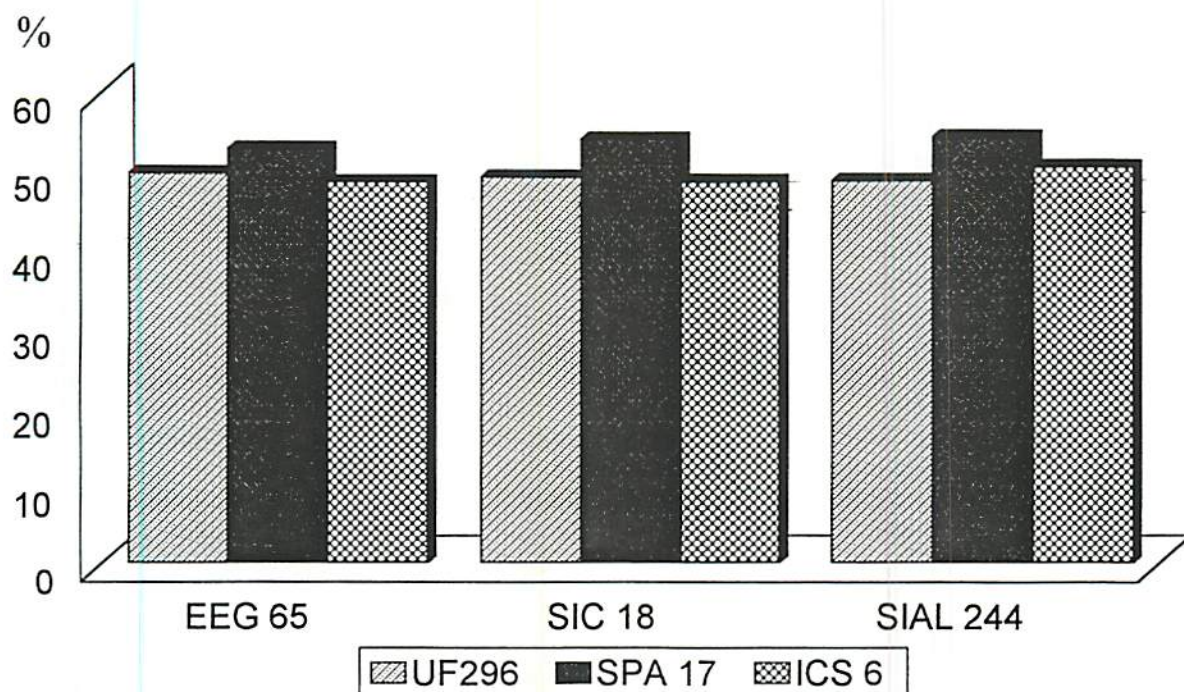
4.1 Teor de Gordura

A análise de variância não apresentou diferença estatística significativa entre os nove híbridos estudados para o teor de gordura, provavelmente devido a pouca variabilidade destes híbridos para este caráter. Entretanto, os teores de gordura variaram entre 48,51% (híbrido ICS 6 x EEG 65), e 54,36% (híbrido SPA 17 x SIAL 244), mostrando um diferencial de 5,85% entre os híbridos, em relação ao peso da amêndoa. Em termos industriais, este é um valor representativo quanto ao rendimento da matéria prima, pois, o teor de gordura é um dos aspectos de maior importância na comercialização, uma vez que a gordura participa com até 30% dos ingredientes do chocolate em barra. Observa-se que os híbridos com o parental SPA 17, apresentaram teores de gordura mais elevados (Tabela 5 e Figura 1), o que mostra que estes híbridos têm uma melhor qualidade em relação aos demais híbridos, avaliados neste trabalho. Os demais híbridos estão com o teor de gordura próximos ou acima dos 50%, considerados como necessários para obter a classificação de boa qualidade, em relação ao teor de gordura.

TABELA 5. Valores médios do teor de gordura das amêndoas F₂ em nove híbridos de cacau.

HÍBRIDOS	TEOR DE GORDURA %
UF296 x EEG65	49,65
UF296 x SIC 18	49,11
UF 296 x SIAL 244	48,71
SPA 17 x EEG 65	52,76
SPA 17 x SIC 18	54,03
SPA 17 x SIAL 244	54,36
ICS 6 x EEG 65	48,51
ICS 6 x SIC 18	48,61
ICS 6 x SIAL 244	50,51
VARIAÇÃO	48,51-54,36
MÉDIA= 50.95	
CV (%) = 6.373	

NS - As médias não diferem entre si pelo teste tukey com $P < 0,05$.

FIGURA 1. Valores médios do teor de gordura das amêndoas F₂ em nove híbridos de cacau.

4.2 Ácidos Graxos

Dentre os diversos ácidos graxos detectados, optou-se por aqueles mais representativos, não se discutindo os detectados em quantidades mínimas. Assim sendo, determinou-se, os cinco ácidos graxos principais (palmítico, esteárico, oléico, linoléico e araquídico), que, juntos, representam em média 98,87% do total de ácidos dos híbridos estudados. A análise de variância mostrou não haver diferença estatística significativa para esta variável, provavelmente devido a pequena variabilidade entre os híbridos estudados para este caráter. Observa-se que os ácidos graxos que apresentaram maior percentual foram: palmítico variando de 24,50 % (híbrido ICS 6 x EEG 65) a 27,66% (UF 296 x SIAL 244), esteárico de 30,81% (ICS 6 x SIAL 244) a 34,69% (SPA17 x EEG 65), oléico de 33,83% (SPA 17 x EEG 65) a 37,57% (ICS 6 x EEG 65) (Tabela 6). Estes resultados estão de acordo com os dados apresentados por Esteves et al. (1994), que encontrou os maiores percentuais para os ácidos graxos palmítico esteárico, e oléico.

Observa-se que as amêndoas do híbrido SPA 17 x EEG 65 contiveram os maiores percentuais dos ácidos graxos saturados esteárico e araquídico, e um dos maiores percentuais do ácido graxo palmítico. Também contiveram os menores teores de ácidos graxos insaturados oléico e linoléico (Tabela 6). Isto refletiu na elevação do ponto de fusão e na consistência da gordura das suas amêndoas (Tabela 8), o que confere uma melhor qualidade ao chocolate produzido com este híbrido no que se refere a manutenção das características do produto comercial. Segundo Berbet (1976), um valor máximo de ácidos graxos saturados, é responsável pelo maior grau de solidificação da gordura.

A variação dos percentuais de ácidos graxos encontrada neste trabalho está semelhante a citada por outros autores (Almeida, Badolato e Nakano, 1976; Branco, Rostagno e Egli, 1970; Van Wijngaarden, Thyssen e Ossinga, 1968), onde foram utilizados materiais de diferentes origens. Isto demonstra que estas proporções dos ácidos graxos são características da espécie *Theobroma cacao* (Tabela 7).

TABELA 6. Valores médios do percentual de ácidos graxos na gordura da amêndoa de cacau dos nove híbridos estudados.

HÍBRIDOS	ÁCIDOS GRAXOS %					TOTAL
	PALMÍTICO	ESTEÁRICO	OLÉICO	LINOLÉICO	ARAQUÍDICO	
	C16:0	C18:0	C18:1 ⁹	C18:2 ^{9,12}	C20:0	
UF296 x EEG65	26,245	31,803	36,230	3,620	1,020	98,92
UF296 x SIC18	27,143	32,482	34,135	2,898	1,183	97,47
UF296 x SIAL244	27,660	31,140	35,945	3,030	1,070	98,85
SPA17 x EEG65	26,098	34,692	33,827	2,810	1,233	98,66
SPA17 x SIC18	26,768	33,815	34,128	2,978	1,135	98,82
SPA17xSIAL244	24,838	31,708	36,995	4,588	1,178	99,31
ICS 6 x EEG 65	24,495	32,320	37,570	3,670	1,175	99,23
ICS 6 x SIC 18	25,575	32,028	37,067	3,483	1,185	99,34
ICS 6x SIAL 244	25,710	30,805	37,452	4,058	1,165	99,19
VARIAÇÃO	24,50-27,66	30,81-34,69	33,83-37,57	2,81-4,59	1,02-1,23	
MÉDIA	26,057	32,383	35,824	3,473	1,153	98,89
CV (%)	7,158	5,256	5,892	38,499	8,654	

NS -Médias não significativas pelo teste de Tukey com $P < 0,05$.

TABELA 7. Variação do percentual de ácidos graxos em amêndoas de cacau em trabalhos diversos.

AUTORES	ÁCIDOS GRAXOS %				
	PALMÍTICO	ESTEÁRICO	OLÉICO	LINOLÉICO	ARAQUÍDICO
ALMEIDA (1976)	23,30-27,70	32,10-36,40	32,50-37,80	2,50-4,40	0,80-1,50
BRANCO (1970)	24,50-27,80	32,20-35,70	32,30-38,70	2,60-4,90	0,50-1,20
WIJNGAARDEN (1968)	21,90-29,20	32,50-37,00	32,60-35,80	2,60-3,70	0,90-1,40

4.3 Percentual de ácidos graxos saturados, insaturados, relação saturados/insaturados e ponto de fusão

Nos híbridos estudados, o percentual médio de ácidos graxos saturados variou de 57,68 a 62,02%, e a variação dos insaturados foi de 36,64 a 41,58%. O híbrido SPA 17 x EEG 65 apresentou o maior valor de ácidos graxos saturados e o menor de ácidos graxos insaturados, com a maior relação saturados/insaturados, e conseqüentemente, um maior ponto de fusão, conforme resultados apresentados na (Tabela 8). Estes resultados confirmam o fato de que há uma relação entre a maior quantidade de ácidos graxos saturados e a elevação do ponto de fusão, e indicam este híbrido como um bom material no que se refere a qualidade da gordura. Sua utilização poderá contribuir para a melhoria da qualidade do cacau brasileiro.

Quanto ao ponto de fusão, a variação foi de 29⁰C a 31,1⁰C (Tabela 8), o que evidencia o baixo ponto de fusão da gordura das amêndoas do cacaueiro. Este fato mostra também a importância da identificação de materiais genéticos que contribuem para elevar o ponto de fusão.

TABELA 8. Percentual de ácidos graxos saturados, insaturados, relação saturados/ insaturados e ponto de fusão da gordura dos híbridos estudados.

HÍBRIDOS	PERCENTUAL DE ÁCIDOS GRAXOS			PONTO DE FUSÃO °C
	SAT %	INSAT %	SAT/INSAT	
UF 296 x EEG 65	59,07	39,85	1,482	30,00
UF 296 x SIC 18	60,81	37,03	1,642	29,30
UF296 x SIAL244	59,87	38,98	1,536	29,00
SPA 17 x EEG 65	62,02	36,64	1,693	31,10
SPA 17 x SIC 18	61,72	37,11	1,663	29,60
SPA17 x SIAL 244	57,72	41,58	1,388	29,00
ICS 6 x EEG 65	57,99	41,24	1,406	30,00
ICS 6 x SIC 18	58,79	40,55	1,45	30,00
ICS6 x SIAL 244	57,68	41,51	1,390	29,80
VARIAÇÃO	57,68-62,02	36,64-41,58	1.388-1.693	29,00-31,10
MÉDIA	59,52	39,39	1,517	29,76

4.4 Análise de correlação simples entre ácidos graxos saturados, insaturados, e relação saturados/insaturados com o ponto de fusão

A análise de correlação simples mostra que não há significância ao nível de 5% de probabilidade pelo teste t entre as variáveis (o que não implica falta de relação entre duas variáveis, mas apenas reflete a ausência de relação linear entre essas variáveis), porém mostra correlação positiva entre o coeficiente, ácidos graxos saturado/insaturado com o ponto de fusão $r = 0,3352$, e que a correlação positiva entre ácidos graxos saturados com o ponto de fusão é maior com $r = 0,3570$, enquanto que a correlação ácido graxo insaturado com o ponto de fusão foi negativa com $r = -0,3060$ (Tabela 9).

TABELA 9. Coeficiente de correlação simples entre ácidos graxos saturados, insaturados e relação saturados/insaturados com o ponto de fusão da gordura.

VARIAVEL	SATURADOS	INSATURADOS	SAT\INSAT
PONTO DE FUSÃO	$r = 0,3570$ NS	$r = -0,3060$ NS	$r = 0,3352$ NS

NS- não significativo pelo teste t aos níveis significância de 5% .

Estes resultados mostram que a quantidade de ácidos graxos saturados é importante para elevar o ponto de fusão, porém não é o único fator. O tamanho da cadeia carbônica do ácido graxo também influencia, pois quanto maior o número de carbonos maior o ponto de fusão. Neste aspecto, a contribuição do ácido graxo saturado esteárico para a consistência da gordura do cacau é maior que o ácido graxo saturado palmítico, por ter, não só uma cadeia carbônica maior mas também maior percentual relativo, enquanto o ácido graxo araquídico, apesar de ter uma cadeia carbônica maior do que a do esteárico, tem seu percentual relativo baixo, ou seja, menor do que 2%. Outro fator seria a posição do ácido graxo no triglicerídeos. Berbert (1981) sugere que a maciez da gordura do cupuaçu e cacau tigre está relacionada com os tipos e disposição dos ácidos graxos que constituem os triglicerídeo, e com a presença de outras substâncias, provavelmente álcoois e ésteres superiores.

Observar-se que, o híbrido SPA 17 x EEG 65 apresentou os maiores percentuais de ácidos graxos esteárico e araquídico (Tabela 6), apresentando também o maior ponto de fusão (Tabela 8), o que confirma a relação entre o tamanho da cadeia carbônica e o ponto de fusão.

4.5 Análise do dialelo parcial formado pelos progenitores

A análise de variância do dialelo parcial envolvendo as combinações híbridas entre os parentais do grupo 1 (UF 296, SPA 17, ICS 6) e do grupo 2 (EEG 65, SIC 18, SIAL 244) é apresentada na (Tabela 10).

TABELA 10. Análise de variância do percentual de gordura das combinações híbridas resultantes do cruzamento dialélico entre progenitores do grupo 1, e grupo 2.

F de Variação	GL	SQ	QM	F
Híbridos	8	148,9895	18,6237	1,7663
C.G.C. 1	2	134,5497	67,2749	6,3804 **
C.G.C. 2	2	4,0467	2,0234	0,1919
C.E.C.	4	10,3935	2,5984	0,2464
RESIDÚO	23	242,5120	10,5440	

** Significativo, a 1% de probabilidade.

Verifica-se que a variabilidade aditiva expressa pelos quadrados médios da Capacidade Geral de Combinação (C.G.C.), é comparativamente maior que a não-aditiva, ocorrendo diferença significativa ($P < 0,01$) apenas para a capacidade geral de combinação entre os materiais do grupo 1 (Tabela 10), não havendo diferença significativa para Capacidade Específica de Combinação (C.E.C).

A identificação dos progenitores superiores é indicada com base nas estimativas dos efeitos C.G.C., e da C.E.C., entre os Progenitores dos Grupos 1 e 2 (G_1 e G_2) (Tabela 11).

TABELA 11. Estimativa dos efeitos da capacidade específica (dados internos da tabela), e geral de combinação entre progenitores dos grupos 1 e 2.

$G_1 \backslash G_2$	EEG 65	SIC 18	SIAL244	C.G.C
UF 296	0,8792	0,0689	-0,9481	-1,5386
SPA 17	-0,5688	0,4209	0,1479	3,0224
ICS 6	-0,3104	-0,4898	0,8002	-1,4839
C.G.C.	-0,3882	-0,1109	0,4991	

Reforçando o resultado obtido na análise de variância, verifica-se que entre os progenitores do grupo 2 a amplitude de variação na estimativa de C.G.C. foi pequena. Já no caso dos progenitores do grupo 1, a variação foi maior com destaque para o parental SPA 17 que tem maior C.G.C. = 3,0224. Isso indica que em futuros trabalhos visando o aumento do teor de gordura da amêndoa de cacau este é um parental que deve ser utilizado nas hibridações. Esse resultado pode ser também observado quando se compara a média dos três híbridos envolvendo esse parental com os demais híbridos (Tabela 5). A média do teor de gordura desses híbridos foi de 53,717% e dos demais de 49,183% ou seja 9,22 % acima, evidenciando a superioridade desse parental. É importante salientar que o parental SPA 17 apresentou alto teor de gordura em trabalho realizado por Pires et al. (1994), comprovando que ele transmite esse potencial a descendência.

Os resultados apresentados, embora envolvam um pequeno número de parentais, possibilitam inferir que o controle genético do caráter (teor de gordura) é predominantemente aditivo. Esse fato também reforça a observação de que esse progenitor SPA 17 é o mais apropriado entre os estudados para a obtenção de combinações híbridas, não havendo necessidade de se obter todas as combinações híbridas para depois avaliar as progênies.

5 CONCLUSÕES

- ①-O teor de gordura, o ponto de fusão e o teor de ácidos graxos das amêndoas apresentaram pequena variabilidade entre os híbridos analisados.
- ②-Os híbridos formados com o parental SPA 17 apresentaram teor de gordura superior a 52%, e podem ser considerados como de boa qualidade comercial.
- ③-O híbrido SPA 17x EEG 65 apresentou os maiores teores de ácidos graxos esteárico e araquídico e os menores teores de oléico e linoléico, o que lhe conferiu ponto de fusão mais elevado que o dos demais híbridos.
- ④-A análise do dialelo parcial para os parentais mostrou diferença significativa na Capacidade Geral de Combinação para o grupo 1, destacando-se o parental SPA 17, como bom progenitor para o caráter teor de gordura, podendo contribuir de forma positiva quando usado em combinações híbridas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, M.E.W. de; BADOLATO, E.G.; NAKANO, C. Cromatografia em fase gasosa de ácidos graxos de manteiga de cacau do Brasil. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo v.6, n.35-36, p.81-89, 1975-1976.
- ANALYTICAL METHODS OF THE OFFICE INTERNATIONAL DU CACAO ET DU CHOCOLAT. Preparation of methyl esters of fatty acids. **Revista International du Chocolat (RIC)**, n.28, p.230-231, Set 1973.
- ARE, L. A. E ATANDA, O. A. Seazonal influences on some yield factors in four varieties of *Theobroma cacao* L.. **Tropical Agriculture**, Trinidad, v.49, n.2, p.161-170, Fev 1972.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of the ADAC**. 10. ed. Washington, 1965. 957 p.
- ATANDA; O .A. JACOB. V.J. Comparative field-pod value of West African Amelonado and Amazon cacao in Nigeria. **Ghana Journal of Science**, Acra v.13, n.1, p.72-77. June 1973.
- ÁVILA, M. da G.M; DIAS,J.C. Parâmetros relacionados com o rendimento de gordura do cacau comercial da Amazônia. **Agrotropica**, Ilhéus, v.3, n.3, p.139-144, Set 1991.
- BAKER, N. LYNEN, P. Factores involved in fatty acyl CoA de saturation by fungal microsomes. **European Journal of Biochemistry**, New Youk v.19, p.200-210, 1971.
- BARROCO, H.E.; MENEZES, J.A. de S. **Aspectos físicos, econômicos e políticos do chocolate brasileiro 1976-1984**. Brasília:CEPLAC, 1987. 92p. (Série estudos econômicos, 10).
- BEEK, M.A., ESKES, A.B. TOXOPEUS, H. Some factors affecting fat content in cacao beans (*Theobroma cacao* L.), with emphasis on the effect of the pollinator parent. **Turrialba**, Costa Rica, v.27, n.4, p.327-332, Out 1977.

- BERBERT, P.R.F. Influência das condições climáticas na composição química e características físicas da manteiga de cacau, **Revista Theobroma**, Ilhéus, v.6, n.3, p.67-76, set 1976.
- BERBET, P.R.F. Determinação do teor ácidos graxos e características físicas das gorduras das sementes do *Theobroma grandiflora* L. e do *Theobroma bicolor* L. e comparação com a gordura do *Theobroma cacao* L. **Revista Theobroma**, Ilhéus, v.11, n.2, p.91-98, abr 1981.
- BIEHL, B. **Pesquisa com respeito a novos processos na fermentação do cacau, usados na Bahia, em comparação com usual fermentação em cochos, e parecer sobre os mesmo.** Ilhéus: CEPLAC/CEPEC, 1965. 20p. (Comunicado ao Pessoal Técnico, 14).
- BRANCO, V; ROSTAGNO, W.; EGLI, R.H. Etude des mélanges beurre de cacao - beurre d'Illipé (*Shorea stenoptera* L.). **Review International du Chocolat**, (RIC) v.25, p.38-43, Fev 1970.
- CANDY & SNACK INDUSTRY, New York, v. 148, n. 8, Aug. 1981.
- CARR, J. G.; DAVIES, P. A; DOUGAN, J. Cocoa fermentation in Ghana and Malaysia. In: INTERNATIONAL COCOA RESEARCH CONFERENCE, 7, Dovala, 1979. **Actre...** London. J. de Lafflorest and Transla-Inter, 1979. p.553- 576.
- CHIN, A.H.G.; ZAINUDDIN.N. Characteristics of Malaysian Cocoa Butter. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON COCOA AND COCONUTS. Kuala Lumpur: Incorporated Society of Planters.1984. p.1-13.
- CHONG, C.F; SHEPHERD, R.; POON; Y.C. Mitigation of cocoa bean acidity; fermentary investigations. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON COCOA AND COCONUTS, Kuala Lumpur, 1978. **Proceedings...** Kuala Lumpur: The Incorporated Society of Planters. 1980. p.387-414.
- CROSS, E.; VILLE-NEUVE, F.; VICENT, J. C. Evolution des composes polyphenoliques du cacao au cours de la fermentation en relation avec la qualite. In: CONFERENCE INTERNATIONALE SUR LA RECHERCHE CACAOYÈRE, 9, Cartagena 1984. p.651-655.
- DIAS, J.C, ÁVILA, M.G.M. Influência do período de pós-colheita do fruto, sistema de revolvimento da massa e tempo de fermentação sobre a acidez do cacau. **Agrotropica**, Ilhéus, v.5, n.2, p.25-30, maio 1993 a.
- DIAS, J.C, ÁVILA, M.G.M. Influência do sistema de secagem na acidez das amêndoas de cacau (*Theobroma cacao*, L.). **Agrotropica**, Ilhéus, v.5, n.1, p.19-24, jan. 1993 b.
- DOUGAN, J. A comparative study of the fermentation of Amelonado and Amazonas cocoa carried out at the Cocoa Research Institute, Tafo, Ghana 1979. In: COCOA CHOCOLATE AND CONFECTIONARY ALLIANCE, II London: Green Street 1979 p 111-115.

- DOUGAN, J. Methods for monitoring degree of aeration and the production and dissimilation of alcohol, acetic and lactic acids during cocoa fermentation. In: INTERNATIONAL COCOA RESEARCH CONFERENCE, 8, Lagos: Cocoa Producers Alliance, 1981. p.813-816.
- DUNCAN, R.J.E; GODFREY, G; YAP, T.N; PETIPHER, G.L.; THARUMARAJAH, T. Improvement of Malaysian cocoa beans flavour by modification of harvesting, fermentation and drying methods -the Sime-Cadbury process. **Planter**, Kuala Lumpur, v.65, p.157-173, 1989.
- ESTEVEZ W.; BARRERA-ARELLANO, D.; NUNES, M.L.; GALVÃO, M.T.E.L.; CARVALHO, R.V.; ANTONIASSI, R. Teores de componentes lipídicos de amêndoas de quatro cultivares de cacau. **Boletim Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.25, n.1, p.22-26, jan 1991.
- ESTEVEZ W.; BARRERA-ARELLANO, D.; NUNES, M.L.; GALVÃO, M.T.E.L.; ANTONIASSI, R.. Composição de ácidos graxos e triglicérides de quatro cultivares de cacau. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas v.14, n2, p.247-252. jul./dez. 1994.
- FINCKE, H. Chemische und Physikalische Eigenschaften der Kakaobutter. In: FINCKE A., LANGE H., KLEINERT, J. eds. **Handbuch der Kakaoereugnisse**, 2, ed. Springer : Berlin Heidelberg New York, 1965 p 329-351 .
- GRAMACHO, I. da C.P.; MAGNO, A.E. de S.; MANDARINO, E.P.; MATOS, A. **Cultivo e beneficiamento do cacau na Bahia**. Ilhéus: CEPLAC, 1992. 124p.
- GRIFFING, B. Concept of general and specific combining ability in relation to diallel crossing systems. **Australian Journal of Biological Science**, Canberra v.9, n.4, p.463-93, Jun 1956.
- GUYOT, B.; GUELE, D.D.; DAVRIEUX, F.; VINCENT, J.C.. Caracteristiques chimiques des Beurres des Hybrides de cacaoyers du type UPA x Trinitario ou UPA x Amelonado. In: CONFERENCE INTERNATIONALE SUR LA RECHERCHE CACAOYÈRE, 10. 1984. p.775-781.
- INTERNATIONAL STANDARDIZATION ORGANIZATION. Draft ISO recommendation n^o 2451; cocoa beans: specification. In: TRAINING SEMINAR ON COCOA GRADING, Lagos, Nigeria, 1972. **Report. Roma**, FAO, 1973. p.174-181.
- KLEINERT, J. Cocoa beans and chocolate. **International Chocolate Review**, (RIC) v 20, n 3 p 418-428, Out 1965.
- LIAU, H.T.L. The criterial and mechanism for the removal of cocoa bean acidity. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON COCOA AND COCONUTS, Kuala Lumpur, 1978. **Proceedings...** Kuala Lumpur: The Incorporated Society of Planters. 1980. p 425-439.
- LOPEZ, A.S. Organoleptic quality of cacao as affected by partial removal of pulp juices from the beans before curing. **Revista Theobroma**, Ilhéus, v.9, n1 p.27-36, Jan 1979.

- LOPEZ, S.A.F. Factors associated with cocoa bean acidity and the possibility of its reduction by improved fermentation. **Revista Theobroma**, Ilhéus, v.13, n.3, p.233-248, out 1983.
- LOPEZ, S. A. F **to the fla. The contribution of volatile compounds your of chocolate and their developments during processing**. St. Augustine, Trinidad: University of the West Indies, 1974. 172p. (Tese de PhD).
- HASSN, M.; BLANC, P J; GRANGER, L. M; Alain, P; GOMA,G; Lipid production by an unsaturated fatty acid auxotroph of the oleaginous yeas *Apiotrichum curvatum* grown in single-stage continuous culture.**Applied Microbiology Biotechnology**, Eprunger Verlag v.40, p 483-488, jul. 1993.
- NESTEC. **El Cacao del Haba al Chocolate**: Oron-Ville: Imprenta Campiche, (1972?) 60p.
- OFFIDE INTERNATIONAL DU CACAO ET DU CHOCOLAT. **Determination of fat in methods of analysis**. Zurich: Verlag MAX Glattli, 1963. p 8a-E.
- PARDO, J.; ENRIQUEZ, G. A. Herancia de algunos componentes de la calidad industrial en almendras de Cacao (*Theobroma Cacao* L.). In: CONFERENCIA INTERNACIONAL DE INVERTIGA CRON EN CACAO, 10, Costa Rica: Turrialba 1984. p.695-699.
- PIRES, J. L.; CASCARDO, J. C. M.;LAMBERT, S.V.; FIGUEIRA, A. Cacao Germplasm characterization based on fat content. In: INTERNATIONAL WORKSHOP ON COCOA BREEDING STRATEGIES, Malaysia: Kuala Lumpur 1994. **Proceedings...** Malaysia: Kuala Lumpur, 1994. p.148-154.
- POWEL, B.D. Chocolate and cocoa manufactures quality for cocoa bens. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON COCOA AND COCONUTS. Kuala Lumpur,. s.l:s.e.v.2.1984 p.1-11.(papers, 37)
- POWELL, B.D.; The Quality of cocoa Beans - The needs of the manufacturer. INTERNATIONAL COCOA RESEARCH CONFERENCE, 8, Lagos: Cocoa Producers Alliance, 1981. P.755-758.
- QUESNEL, V.C. Aeration and the Tecnology of fermentation. In: INTERNATIONAL CACAO RESEARCH CONFERENCE, 2, Salvador, 1967, **Memórias...** Salvador, CEPLAC, 1968. p.503-508.
- QUESNEL, V. C. Report on a visit to Brasil, 31 St. May - 24 th June, 1965. In: SESSION OF THE TECHNICAL WORKING PARTY ON COCOA PRODUCTION AND PROTECTION, 2nd. Rome: FAO 1966. 16p (Peper presented Rome, PL CO-166/267).
- RANTLEDGE.C Microbial oils and fats: an assessment of their comercial potential. **Progress Industrial Microbiol**, v.16 n2, p.119-206, Jun 1982.
- ROLPH,C.E; MORETON; R.S, HARWOOD, J.L. Acyl lipid metabolism in the oleaginous yeast *Rhodotorula gracilis* CBS 3043) **Lipids**. Champaign v.24, p.715-720, 1989.

- RIBEIRO, N.C.A. Características Físico-Químicas das amêndoas de cacau da Amazônia Brasileira . In: CONFERÊNCIA INTERNACIONAL DE PESQUISA EM CACAU, 10, Costa Rica: Turrialba 1984. p.789-793.
- THE COCOA, CHOCOLATE AND CONFECTIONERY ALLIANCE. **Raw cocoa:** manufacturees' quality requirements. 2.ed.London, 1968. 12p.
- VAN, WIJNGAARDEN. D; THYSSEN. L.A.; OSSINGA, T.D. Fatty acid composition of cocoa butter by gas chromatography. *Z. Lebensmittel. Unters Forsch*, v.137, n.3, p.171-179, 1968 In: CHEMICAL ABSTRACTS, Washington v.69, 1968.(Abst. 58476a).
- WEISBERG, W.; KAVANAGH, T. E. E KEENEY, P. G. Identification and quantification of several non-volatile organic acids of cocoa beans. **Journal of Food Science**, Chicago v.36, p.877-879, 1977.
- YKEMA, A. VERBREE, E.C. NIJKAMP, H.J.J. SMIT.H. Isolation and characterization of fatty acid auxotrophs from the oleaginous yeast *Apiotrichum curvatum*. **Applied Microbiology Biotechnology**, Eprunger Verlag v.32, p.76-84, 1989.
- WEYLAND MARK . Cocoabutter fractions: A novel way of optimizing chocolate performance. **The Manufacturing Confectioner**, Chicago v.72, p.53-57, may 1992.

