

Recebido em 30 de Maio de 2003

Efeito da tecnologia pós-colheita na fracção volátil do *flavour* a cacau. Estudo de uma fermentação em São Tomé e Príncipe

M. HELENA GUIMARÃES DE ALMEIDA ⁽¹⁾

RESUMO

O objectivo principal deste trabalho é estudar o efeito da fermentação e do tipo de secagem, praticadas durante a tecnologia pós-colheita, na formação de compostos responsáveis pelo *flavour* a cacau, com particular destaque para as pirazinas.

Com base em amostras de sementes colhidas durante uma fermentação que a autora acompanhou em São Tomé e Príncipe, procedeu-se ao estudo dos compostos voláteis por cromatografia gás-líquido associada à espectrometria de massa.

Quantificaram-se 33 compostos voláteis (entre os quais 13 pirazinas e 8 compostos odoríferos principais) no cacau fermentado e torrado. Reconheceu-se a importância das pirazinas no *flavour* a cacau e o efeito determinante da fermentação na formação dos respectivos precursores. Algumas pirazinas, bem como outros compostos voláteis estudados, poderão servir como indicadores de qualidade do cacau comercial e como auxiliares do estudo das transformações químicas ocorridas nos cotilédones durante a tecnologia pós-colheita.

Palavras-chave: Cacau; Tecnologia pós-colheita; Compostos voláteis; Pirazinas; Cromatografia gás-líquido.

ABSTRACT

The objective of the work is to study the effect of the fermentation and the type of the drying on the cocoa flavour formation, mainly on the pyrazine compounds.

The work is based on samples of cocoa beans collected during the fermentation process followed in São Tomé e Príncipe by the author.

By gas chromatography-mass spectrometry 33 volatiles were identified in fermented and roasted cocoa beans. Among them, 13 are pyrazines and 8 are key odorants. Several pyrazines are recognized to be very important constituents of the volatile fraction of the cocoa flavour. Fermentation plays a determinant role in the development of its precursors. Some pyrazines, as well as other volatile

⁽¹⁾ Departamento de Agro-Indústrias e Agronomia Tropical, Secção de Agronomia Tropical, Instituto Superior de Agronomia, 1349-017 Lisboa, Portugal.

compounds studied, could be used as quality indicators. They could also help to study the chemical-transformations of the beans during cocoa post-harvest technology.

Keywords: Cocoa; Post-harvest technology; Volatile compounds; Pyrazines; Gas chromatography.

1. Introdução

O *flavour* que se desenvolve durante a torra das sementes de cacau comercial (“*flavour* a cacau”) é um dos parâmetros de qualidade mais valorizados pelos industriais do cacau e do chocolate.

A formação e as características do *flavour* a cacau dependem de múltiplos factores mas a torra e a tecnologia pós-colheita são os mais determinantes (Almeida, 1990, 1999; Cros & Jeanjean, 1998; Ziegler & Biehl, 1988). As operações tecnológicas mais importantes para as características do *flavour* a cacau são a fermentação e a secagem. Durante a primeira ocorrem modificações acentuadas no interior da semente que provocam não só a formação de compostos precursores do *flavour* desenvolvido durante a torra mas também a formação de compostos voláteis e não voláteis de grande importância nas características finais do *flavour* das sementes torradas. A importância da secagem transcende a de uma mera desidratação do produto, pois provoca a transformação de alguns compostos e a libertação de outros mais voláteis, com consideráveis consequências nas características do *flavour* das sementes.

O *flavour* a cacau resulta do efeito conjunto de numerosos compostos, voláteis e não voláteis, existentes na semente de cacau comercial torrada, que conduzem a um conjunto complexo de sensações durante a prova do cacau ou do chocolate.

De acordo com Nijssen *et al.* (1996), foram já identificados mais de 500 compostos voláteis no cacau que podem ser distribuídos por 22 grupos químicos. As pirazinas dominam nitidamente, correspondendo a cerca de 17% do número total de compostos, seguindo-se os ésteres, os ácidos e os hidrocarbonetos (12, 11 e 9%, respectivamente).

Silwar (1988) quantificou, em cacau comercial torrado do Gana, teores de compostos voláteis entre 85 a 110 ppm. Por sua vez, Gill *et al.* (1984) obtiveram 65 ppm de compostos voláteis em cacau comercial torrado do Sri Lanka, dos quais cerca de 26 ppm correspondiam a 14 pirazinas e 15 ppm a 5 aldeídos. Os álcoois e os ésteres também foram quantificados em consideráveis concentrações, embora inferiores às dos anteriores.

Dos compostos identificados, só uma parte foi quantificada por não existirem ainda técnicas analíticas suficientemente sensíveis para permitir o doseamento dos compostos presentes em quantidades mínimas (Almeida, 1999). Alguns destes, porém, são particularmente importantes pois trata-se de “compostos odoríferos

principais” ou seja, compostos que, por existirem em quantidades superiores ao seu limiar de detecção, contribuem mais directamente para o odor do cacau (Schieberle, 1995). Tal é o caso do ácido 3-metilbutanóico, do 3-metilbutanal, do fenilacetaldéido, do 2-feniletanol e da trimetilpirazina, entre outros (Chanliau, 1995; Schnermann & Schieberle, 1997).

O objectivo deste trabalho é estudar o efeito da fermentação e da secagem na formação e nas características da fracção volátil do *flavour* a cacau. Face à heterogeneidade do *flavour* do cacau comercial que circula no mercado internacional, particularizou-se o estudo a uma situação concreta de tecnologia pós-colheita dentro uma região tradicionalmente produtora, São Tomé e Príncipe.

Com uma longa história ligada ao cacau (Ferrão, 1963), este país tem ainda neste produto a sua principal fonte de divisas. Por outro lado, são reconhecidas as potenciais características de qualidade do cacau aqui produzido, comprovadas pelas elevadas cotações com que outrora foi premiado e por estudos prévios por nós realizados (Almeida *et al.*, 1998). Este conjunto de factores constitui um aliciente para a realização deste estudo que esperamos venha a contribuir para a recuperação da qualidade do cacau daquele país.

O estudo incidiu sobre amostras da Empresa Bela Vista, em São Tomé e Príncipe (Silva, 1999), que colhemos ao longo da fermentação e que foram estabilizadas por dois tipos de secagem (sol directo e secador “Tromag”).

Os compostos voláteis, estudados em material torrado e não torrado, foram analisados através de cromatografia gás-líquido (GC) e espectrometria de massa acoplada à cromatografia gás-Líquido (GC-MS). Deu-se particular ênfase às pirazinas, atenta a sua especial importância no *flavour* a cacau.

2. Material e métodos

2.1. Material

O material foi constituído por amostras de cacau colhidas na Empresa Estatal Agro-pecuária (EEA) Bela Vista, República de São Tomé e Príncipe, no período compreendido entre 24 de Outubro e 2 de Novembro de 1994.

A colheita das amostras foi realizada de forma a minimizar, tanto quanto possível, o efeito de outros factores que pudessem provocar variações nos resultados. As sementes estudadas foram provenientes das “dependências” Vale Flor e Prado, onde as características edafo-climáticas e de produção se apresentam mais homogéneas.

O material (Quadro 1) foi recolhido durante uma mesma fermentação realizada em caixas de madeira com a capacidade de cerca de 4 200kg de cacau em goma.

Quadro 1
Caracterização do material

Origem	EEA Bela Vista (São Tomé e Príncipe), dependências Vale Flor e Prado						
Tipo de plantas	Amelonado de SãoTomé e híbridos selecções do IRCC provenientes de Nigéria, Costa do Marfim e Camarões (Silva, 1994)						
Data da colheita	Entre 2 a 5 dias antes da quebra						
Data da quebra	24 de Outubro de 1994						
Fermentação	<table style="border: none;"> <tr> <td style="border: none; padding-right: 10px;"> <i>Início</i></td> <td style="border: none;">16 horas de 24 de Outubro</td> </tr> <tr> <td style="border: none; padding-right: 10px;"> <i>Fim</i></td> <td style="border: none;">8 horas de 30 de Outubro</td> </tr> <tr> <td style="border: none; padding-right: 10px;"> <i>Duração</i></td> <td style="border: none;">136 horas</td> </tr> </table>	<i>Início</i>	16 horas de 24 de Outubro	<i>Fim</i>	8 horas de 30 de Outubro	<i>Duração</i>	136 horas
<i>Início</i>	16 horas de 24 de Outubro						
<i>Fim</i>	8 horas de 30 de Outubro						
<i>Duração</i>	136 horas						
Remeximentos	Ao fim das primeiras 48 e 96 horas						
Amostragem (horas de fermentação)	0, 24, 48, 72, 96, 112 e 136h						
Estabilização das amostras	Secagem em secador "Tromag" Secagem directa ao sol						

Diariamente, à mesma hora, foram colhidos cerca de 3kg de sementes, sempre retiradas da zona central da caixa e a uma profundidade de cerca de 0,5m, medida a partir da superfície da massa em fermentação. Cada amostra diária foi dividida em duas subamostras que, mal colhidas, foram imediatamente lavadas em água corrente que as arrefeceu e as libertou da polpa. Logo a seguir, uma subamostra foi introduzida num secador de túnel de ar quente ("Tromag"), regulado de modo a que houvesse uma sequência de temperaturas de 70 (entrada)-80-90°C (saida). A duração da secagem foi cerca de 24 horas. A outra foi exposta a sol directo até atingir a humidade de segurança exigida ao cacau comercial. A duração variou entre 4 e 7 dias. As subamostras já secas foram acondicionadas em sacos de plástico e assim transportadas para Portugal por via aérea. Logo que chegaram ao laboratório, em Lisboa, foram introduzidas em frascos de vidro com tampa de rosca de vedação hermética.

2.2. Preparação da amostra

A preparação do material para análise constou na torra e moenda de sementes dos dois conjuntos de subamostras (Quadro 1). Procedeu-se igualmente à moenda de material não torrado colhido no início e no fim da fermentação (0 e 136h).

A torra foi realizada a 156°C durante 27min, de acordo com os resultados obtidos num estudo prévio de optimização das condições desta operação (Almeida, 1999). Os cotilédones das sementes torradas e não torradas (obtidos após descasque

e remoção do germe) foram arrefecidos em azoto líquido e moídos em moinho de facas de forma a que todo o material passasse em crivos de malha 500 μ m, sendo depois conservado a -40°C.

2.3. Aparelhos e utensílios

1. Isolamento e concentração

Aparelho de destilação de Kjeldahl por corrente de vapor; Banho de água termostaticado com refrigeração e sistema de circulação de água (Lauda mod. RM6); Coluna Vigreux com 55cm de comprimento e 20mm de diâmetro; Cabeça de aquecimento de água com circulação (Lauda MT).

2. Análise por GC e GC-MS

(1) Cromatógrafo Hewlett Packard (HP) 5890 série II, Injector *split/splitless*, Detector FID, Integrador HP 3396 série II acoplado a computador com programa Peak96, Coluna: CP-Wax-52 CB de 30m, 0,32mm de \varnothing interno e 0,25 μ m de espessura de filme.

(2) Cromatógrafo HP 5890 serie II; Detector FID; Injector *split/splitless*; Espectrómetro de Massa HP5070, de impacto electrónico (70eV) e interface GC-MS directa; Programa de tratamento e identificação de espectros (livraria NBS GERAL); Coluna CP-Wax 52 CB de 30m, 0,25mm de \varnothing interno e 0,25 μ m de espessura de filme.

2.4. Reagentes

Todos os reagentes utilizados são de qualidade analítica (*p.a.*): 4-picolina, 2,5-dimetil- e 2,3,5,6-tetrametilpirazina (Fluka); acetato de etilo, diacetil, 3-metilbutanal, 3-metil-1-butanol (=isovaleraldeído), hexanal, 2-metil-, 2,6-dimetil-, 2,3-dimetil- 2,3,5-trimetilpirazina, benzaldeído, (\pm)-linalol, fenilacetaldéido e 2-feniletanol (Aldrich); etil-, 2-etil-5-metil-, 2-etil-6-metil-, 2-etil-3,6-dimetil-, 2-etil-3,5-dimetil- e 2,3-dietil-5-metilpirazina, pirrolo e 2-acetil pirrolo (Pyrazines specialties); éter dietílico (Pronalab); NaCl e Na₂SO₄ anidro (Merck).

2.5. Modo operatório

A determinação dos compostos voláteis foi realizada através da metodologia descrita e avaliada em Almeida *et al.* (1999) e Rodrigues *et al.* (1999).

2.5.1. Isolamento e concentração

Pesaram-se 20,0g de cacau que se introduziram no balão de um aparelho de destilação de Kjeldahl. Adicionaram-se 100µl de padrão interno 4-picolina (20mg/100ml) e 100ml de água. Procedeu-se à destilação, com condensação a 0°C, recolhendo-se 200ml de destilado. Saturou-se o destilado com 10g de NaCl e ajustou-se a pH8. Extraiu-se o destilado com 2 porções de 50ml de éter dietílico. A fase etérea foi, em seguida, desidratada com Na₂SO₄ anidro e filtrada.

A concentração foi feita por destilação, a 40°C, em coluna Vigreux até se obterem cerca de 5ml de extracto, que foi, em seguida, concentrado em corrente de azoto até 100µl e conservado a -18°C.

2.5.2. Cromatografia gás-liquido

A separação, a identificação e a quantificação dos compostos voláteis foram realizadas utilizando as seguintes condições de trabalho:

Condições	GC	GC-MS
Coluna	CP-Wax 52 CB 30mx0,32mmx0,25µm	CP-Wax 52 CB 30mx0,25mmx0,25µm
Temp. injector	250°C	250°C
Temp. detector/linha transferência	250°C	280°C
Temp. forno	40°C-2°C/min-180°C	40°C-2°C/min-180°C
Pressão gás de arraste (He)	12psi	20psi
Velocidade linear gás de arraste	42,2cm/s	42,0cm/s
Razão de <i>split</i>	1:20	1:20
Volume de injeção	0,5µl	2µl

A identificação foi realizada através dos métodos de adição de padrões, índice de retenção e GC-MS.

A quantificação foi realizada pelo método de padronização interna, utilizando a 4-picolina como padrão interno (PI), considerando que todos os compostos tinham o mesmo factor de resposta que o PI. Antes da destilação foi adicionado ao material preparado uma quantidade de PI correspondente a 1ppm da massa de cacau utilizado. As curvas de calibração foram estabelecidas com cinco níveis de concentração em triplicado.

3. Resultados e discussão

Os resultados apresentados referem-se ao estudo de sementes colhidas ao longo de uma fermentação (0, 24, 48, 72, 96, 112 e 136h) e posteriormente secas ao sol e em secador “Tromag”. Estas duas séries de sementes foram, depois, torradas e sujeitas a análise cromatográfica. Fez-se, igualmente, a quantificação dos compostos voláteis em sementes não torradas colhidas no início e no fim da fermentação (0 e 136h).

A Figura 1 mostra, a título de exemplo, o cromatograma de um extracto obtido com sementes fermentadas e torradas. Os gráficos das Figuras 2 e 3, construídos a partir dos resultados obtidos nas amostras colhidas no início e no fim da fermentação, permitem comparar os teores dos diferentes compostos, para os dois tipos de secagem estudados, bem como a forma como estes são afectados pela fermentação e pela torra.

A partir destes resultados foi possível elaborar um esquema-síntese (Figura 4) que resume as conclusões deste estudo e em que assentam as considerações a seguir apresentadas.

3.1. Compostos voláteis da semente de cacau

O estudo da composição da fracção volátil das sementes de cacau “frescas”, fermentadas e secas, e torradas permitiu quantificar 33 compostos.

Nas sementes “frescas” foram quantificados 15 compostos, cujo total correspondeu a cerca de 8ppm nos cotilédones da semente.

Nas sementes fermentadas e secas foi possível quantificar 21 compostos (cerca de 60 a 70ppm dos cotilédones), 6 dos quais se terão formado de novo durante a fermentação.

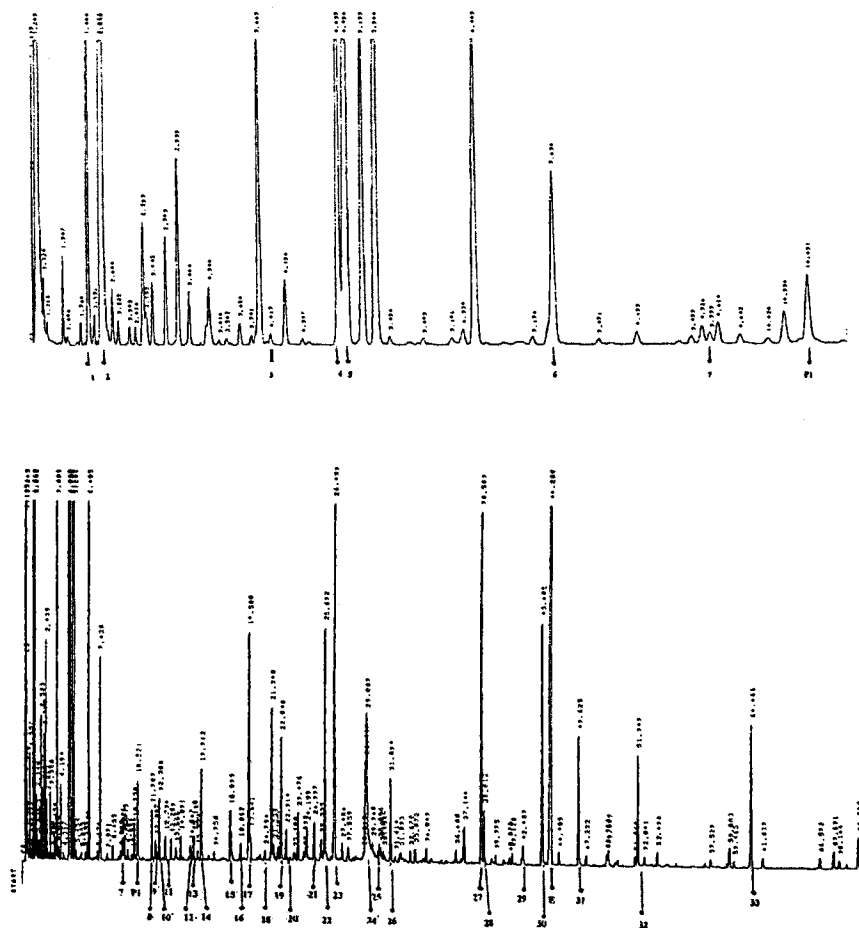
Já nas sementes torradas foram 33 os compostos voláteis quantificados, o que corresponde a cerca de 75 a 90ppm dos cotilédones. Os 15 compostos formados exclusivamente durante a torra, a partir de precursores existentes na semente “fresca” e produzidos durante a fermentação, são as pirazinas e o pirrolo. A torra provocou a formação de muitos compostos mas também a libertação e a degradação de outros já existentes antes das sementes serem torradas. As sensações olfactivas provocadas pelo cacau torrado devem-se a um equilíbrio, proporcionado pela torra, entre todos os compostos voláteis da semente. As pirazinas desempenharão certamente um papel importante no *flavour* a cacau.

3.2. Efeito da fermentação na formação dos compostos voláteis

Fez-se sentir por duas vias diferentes: directamente e através da formação de precursores dos compostos voláteis que se produzem durante a torra, como se observa no esquema-síntese.

Figura 1

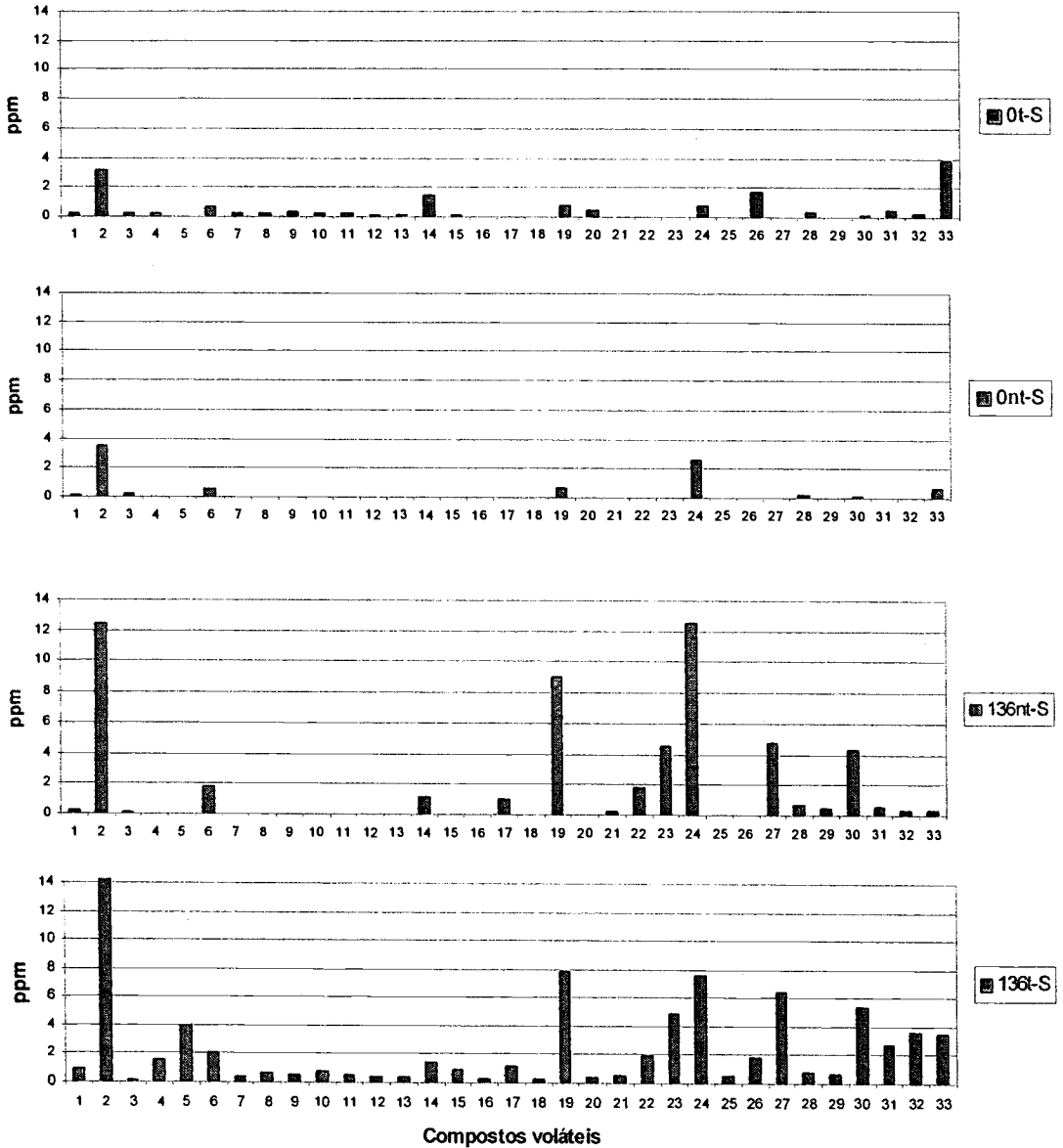
Cromatograma de um extracto de sementes fermentadas e torradas



Identificação dos compostos: 1=Acetato de etilo e/ou diacetil; 2=3-Metilbutanal; 3=Hexanal; 4=3-Metil-2-butanol ou 2-pentanol; 5=Acetato de 3-metil-butanol; 6=3-Metil-1-butanol; 7=2-Metilpirazina; PI=Padrão Interno (4-Picolina); 8=2,5-Dimetilpirazina; 9=2,6-Dimetilpirazina; 10=Etilpirazina + 2-heptanol; 11=2,3-Dimetilpirazina; 12=2-Etil-5-metilpirazina; 13=2-Etil-6-metilpirazina; 14=2,3,5-trimetilpirazina+lauraldeído ou nonanal; 15=2-Etil-3,6-dimetilpirazina; 16=2-Etil-3,5-dimetilpirazina; 17=2,3,5,6-Tetrametilpirazina; 18=2,3-Dietil-5-metilpirazina; 19=Benzaldeído; 20=Pirrolo; 21=(±)-linalol+outros; 22=Não identificado 25.6; 23=Não identificado 26.4; 24=Fenilacetaldéido+1-feniletanona; 25=2,5-Dimetil-3(3-metilbutil)pirazina; 26=Álcool furfurílico; 27=Acetato de 2-feniletilo; 28=1-Feniletanol; 29=Álcool benzílico; 30=2-Feniletanol; E=Estabilizador do éter; 31=2-acetilpirrolo; 32=Não identificado 51.5; 33=Hexadecanoato de etilo.

Figura 2

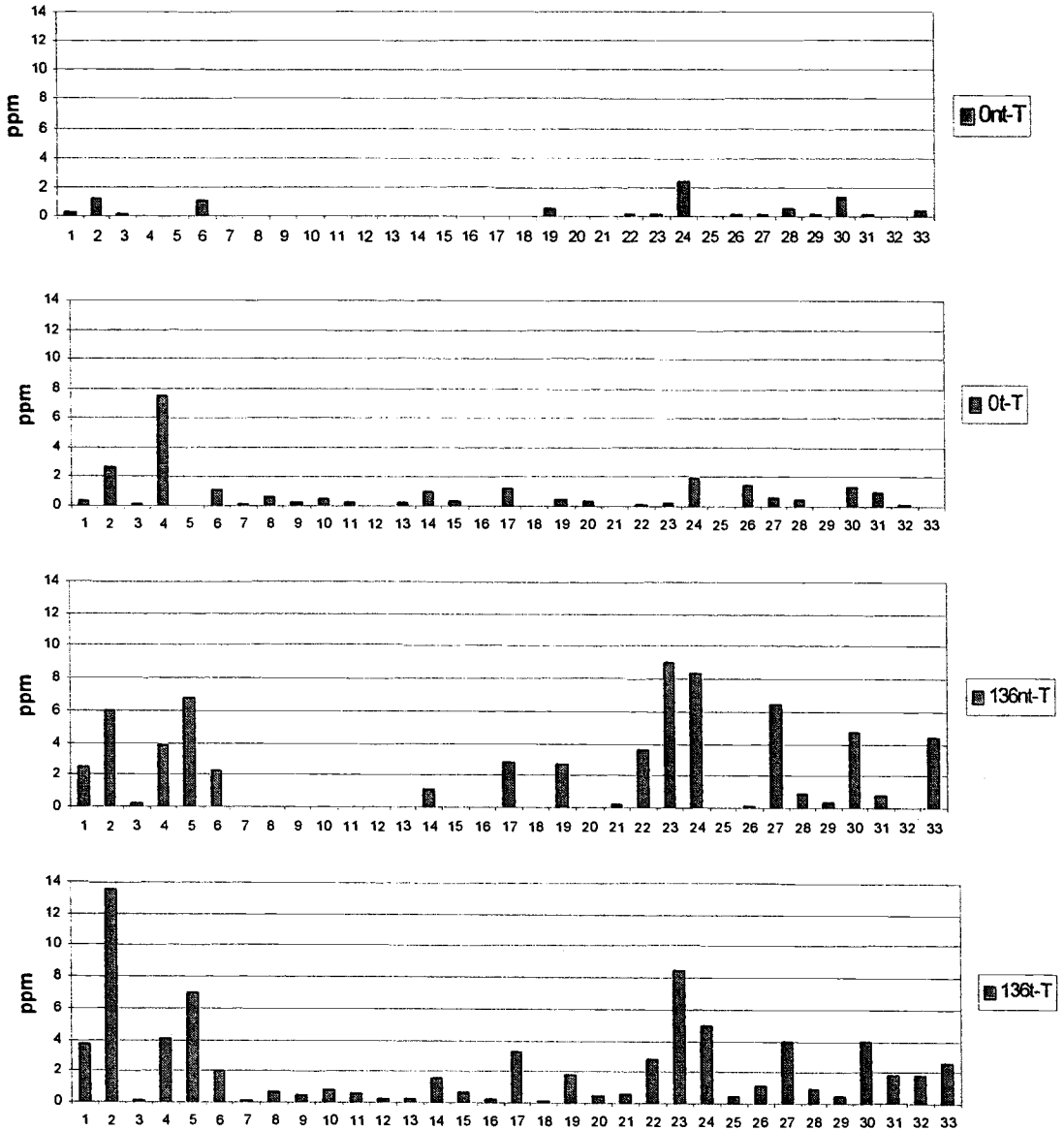
Comparação dos teores dos compostos doseados nas amostras secas ao sol, não fermentadas (0h) e fermentadas (136h), torradas e não torradas



Legenda: S=secagem ao sol; t=torrado; nt=não torrado; 0, 136=tempo de fermentação (horas); Compostos: cf. figura 1.

Figura 3

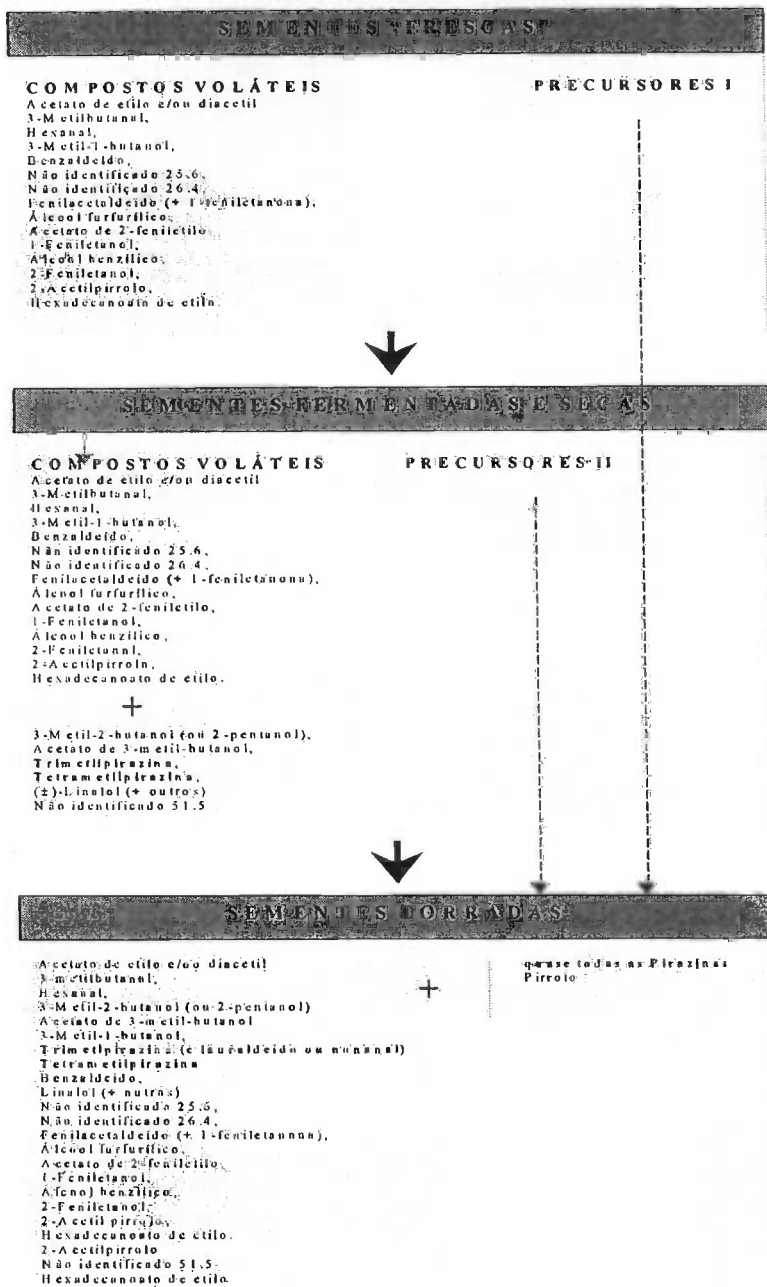
Comparação dos teores dos compostos doseados nas amostras secas em secador "Tromag", não fermentadas (0h) e fermentadas (136h), torradas e não torradas



Legenda: T=secagem em secador "Tromag"; t=torrado; nt=não torrado; 0, 136=tempo de fermentação (horas); Compostos: cf. figura 1

Figura 4

Esquema-síntese dos compostos voláteis estudados nas amostras "frescas", fermentadas e secas e torradas



- (a) Formação de compostos voláteis durante a fermentação
- Durante a fermentação formaram-se os seguintes novos compostos: 3-metil-2-butanol (ou 2-pentanol), acetato de 3-metil-butanol, trimetilpirazina, tetrametilpirazina, (\pm)-linalol (+ outros), não identificado 51.5;
 - Dos compostos que já existiam na semente “fresca” mas que aumentaram durante a fermentação destacam-se os seguintes: compostos não identificados 25.6 e 26.4, 3-metilbutanal, benzaldeído e acetato de 2-feniletilo;
- (b) Formação de precursores de compostos voláteis durante a fermentação
- Os seguintes compostos formaram-se durante a torra a partir de precursores que se produziram durante a fermentação: todas as pirazinas, o composto não identificado 51.5, o 3-metilbutanal e os pirróis. O estudo da evolução dos compostos voláteis nas sementes colhidas ao logo da fermentação e que foram torradas, mostrou que o teor destes precursores parece ter aumentado consideravelmente entre as 24 e 48 horas de fermentação, o que permite apontar este período como crítico para a formação destes compostos. Este assunto encontra-se desenvolvido em Almeida (1999).

3.3. Os compostos voláteis como índices de fermentação e como auxiliares do estudo da fermentação.

- (a) Alguns compostos (o acetato de 2-feniletilo, os compostos não identificados 26.4 e 25.6, o benzaldeído, o fenilacetaldeído, a tri- e a tetrametilpirazina) poderão servir como índices de fermentação, por se terem formado durante a fermentação em quantidades consideráveis. As duas pirazinas podem ser particularmente úteis pois, não existindo nas sementes “frescas”, permitirão facilmente indicar a ocorrência de fermentação. Parece-nos mais correcto utilizar os compostos voláteis como índices de qualidade na fermentação do que o índice R de Gourieva e Tserevitinov, que evidenciou algumas limitações em estudos por nós realizados (Almeida & Leitão, 1995; Leitão & Almeida, 1998; Almeida, 1999);
- (b) Todas as pirazinas, pirróis e o composto não identificado 51.5 poderão ser utilizados para estudar os precursores do odor a cacau torrado. Trata-se de compostos surgidos essencialmente por acção da torra a partir de precursores que se formaram durante a fermentação. Particularmente interessantes são o acetilpirrolo, a 2-etil-3,6-dimetil-; a 2,3-dietil-5-metil- e a 2,5-dimetil-3-(metilbutil)pirazina, por apresentarem perfis de curvas de evolução semelhantes à da intensidade de odor a cacau (Almeida, 1999).

3.4. Efeito do tipo de secagem nos compostos voláteis

Deste estudo ressalta que:

- Maior duração, temperaturas inferiores e maior arejamento (condições da secagem solar) provocaram maiores perdas dos compostos mais voláteis (caso de alguns álcoois);
- Temperaturas mais elevadas (secagem em secador “Tromag”) parece terem provocado a destruição de alguns compostos (o benzaldeído e, provavelmente, o fenilacetaldéido, o acetato de 2-feniletilo e o 2-feniletanol). Como alguns destes compostos estão incluídos entre os odoriferamente mais importantes no *flavour* a cacau, verifica-se, mais uma vez, a desvantagem da secagem a altas temperaturas.

3.5. Compostos odoríferos principais

A formação dos compostos odoríferos principais por nós quantificados (3-metilbutanal; hexanal; trimetilpirazina, 2-etil-3,5-dimetilpirazina; 2-etil-3,6-dimetilpirazina; 2,3-dietil-5-metilpirazina; fenilacetaldéido e 2-feniletanol) depende de factores muito diversos (Almeida, 1996; Almeida & Pires, 1999).

Uns foram favorecidos pela torra (pirazinas), outros pela fermentação (fenilacetaldéido e 2-feniletanol), outros pelas duas operações (pirazinas e 3-metilbutanal) e um não é favorecido por nenhuma delas, sendo um composto característico da semente “fresca” (hexanal).

Concluiu-se, em suma, que o odor do cacau torrado resulta de factores muito diversos que é preciso saber conjugar, sendo que a tecnologia pós-colheita e a torra são factores determinantes na formação daquele odor.

AGRADECIMENTOS

À firma Mantero-Agricultura e Comércio Internacional AS, em particular aos senhores eng. Lobet da Silva, Fernando Roncon e Justino, pelas facilidades proporcionadas durante o trabalho desenvolvido na EEA Bela Vista (São Tomé e Príncipe), onde foram colhidas as amostras de sementes de cacau.

Ao professor Mendes Ferrão, pelos ensinamentos sobre o cacau de São Tomé e Príncipe e que incentivaram a realização deste estudo.

À Dr^a. Maria da Graça Lourenço, pelo precioso apoio na análise cromatográfica.

BIBLIOGRAFIA

- ALMEIDA, M. H. G. (1990) — *A tecnologia do cacau. Influência na formação do "flavour"*, ISA, Lisboa.
- ALMEIDA, M. H. G. (1996) — *Relatório do estágio realizado no Institut für Lebensmittelchemie da Technische Universität München. 17 de Junho a 12 de Julho de 1996. Estudo preliminar dos "compostos odorantes chave" ("key odorants") do cacau por GCO*, ISA, Lisboa.
- ALMEIDA, M. H. G. (1999) — *Cacau. Tecnologia pós-colheita. A fracção volátil do "flavour"*, Dissert. Dout. Eng. Agro-industrial, ISA, Lisboa.
- ALMEIDA, M. H. G.; LEITÃO, M. C. A. (1995) — Influência da tecnologia nas características do cacau comercial. Estudo de parâmetros de qualidade do cacau de São Tomé e Príncipe. 1^{as}. Jornadas sobre a Agricultura de São Tomé e Príncipe, Lisboa 9-11 Dezembro de 1993. *Comunicações IICT, série de Ciências Agrárias* nº 19, 169-180.
- ALMEIDA, M.H.G.; PIRES, A.M. (1999) - *Flavour a cacau: identificação de compostos odoríferos principais, 1º Encontro de Cromatografia*, Lisboa.
- ALMEIDA, M. H. G.; ROCHA, A. R.; LEITÃO, M. C. A. (1998) - A tecnologia do cacau praticada em São Tomé e Príncipe e seus reflexos na qualidade do cacau comercial. 5^{as} *Jornadas de Engenharia, Lisboa, APORJEL/AIJE*, Lisboa. (em impressão)
- ALMEIDA, M. H. G.; RODRIGUES, S. M. B.; LOURENÇO, M. G. (1999) — Determinação de compostos voláteis em cacau por cromatografia gás-líquido, *Livro de Actas do 4º Encontro de Química dos Alimentos*, Sociedade Portuguesa de Química e Universidade de Coimbra, Coimbra, 180-182.
- CHANLIAU, S. (1995) — *Influence du traitement post-récolte et de la torréfaction sur le développement de l'arôme cacao. Essais préliminaires de caractérisation des composés odorants*, Diplôme d'études approfondies, Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Montpellier, Montpellier.
- CROS, E.; JEANJEAN, N. (1998) — Formation de l'arôme cacao, in: "Cacao et chocolat. Production, utilisation, caractéristiques" (J. PONTILLON, Coord.), Technique et Documentation Lavoisier, Paris, pp. 188-206.
- FERRÃO, J. E. M. (1963) — Cacaos de S. Tomé e Príncipe. Dos polifenóis durante a fermentação. *Anais do Instituto Superior de Agronomia*, 25: 17-222.
- GILL, M. S.; MCLEOD, A. J.; MOREAU, M. (1984) — Volatile components of cocoa with particular reference to glucosinolate products. *Phytochemistry*, 23 (9): 1937-1942.
- LEITÃO, M. C.; ALMEIDA, M. H. G. (1998) — *Relatório da missão realizada à República de S. Tomé e Príncipe (4 a 12 de Novembro de 1997). 2ª Parte: Avaliação da qualidade em amostras de cacau comercial*, CIAT, Lisboa, 9pp.

- NIJSSEN, L.M.; VISSCHER, C.A.; MAARSE, H.; WILLEMSSENS, L.C.; BOELENS, M.H. (1996) — Cocoa, in: *Volatile compounds in food. Qualitative and quantitative data*, Zeist, TNO Nutrition and Food Research Institute, 71.1-71.16.
- RODRIGUES, S.M.B.; LOURENÇO, M.G.; ALMEIDA, M.H.G. (1999) — Intralaboratory validation of a method for determination of cocoa volatiles. *9th. Jornadas de Análisis Instrumental, Barcelona, 1999*, 52.
- SCHIEBERLE, P. (1995) — New developments in methods for analysis of volatile flavor compounds and their precursors, in: “Characterization of food: emerging methods” (A. G. Gaonkar, Ed.), Elsevier Publishers, 403-436.
- SCHNERMANN, P.; SCHIEBERLE, P. (1997) — Evaluation of key odorants in milk chocolate and cocoa mass by aroma extract dilution analyses. *J. Agric. Food Chem.*, 45 (3): 867-872.
- SILVA, L. (1994) — A recuperação de uma empresa estatal agrícola em S. Tomé e Príncipe. *1st. Jornadas sobre a Agricultura de São Tomé e Príncipe, Lisboa, 9-11 de Dezembro de 1993. Comunicações IICT, série de Ciências Agrárias n° 19*: 249-260.
- SILWAR, R. (1988) — Gaschromatographic-mass spectrometric investigation of cocoa aroma. Quantitative determination of steam- volatile aroma constituents. *Café Cacao Thé*, 32 (3): 243-250.
- ZIEGLEDER, G.; BIEHL, B. (1988) — Analysis of cocoa flavour components and flavour precursors, in: *Methods of Plant Analysis*, vol. 8, new series (H. Linskens, e J. F. Jackson, Eds.), Springer-Verlag, Berlin, pp.321-393.