

Reservas das sementes de sete espécies de *Theobroma*: revisão

Seed reserves from seven species of the genus *Theobroma*: a review

RIALA6/1010

Maria Helena MARTINI^{1*}; Débora de Queiroz TAVARES²

* Endereço para correspondência: ¹Seção de Bromatologia e Química, Instituto Adolfo Lutz, Laboratório Regional de Campinas, R. São Carlos, 720, Campinas/SP, CEP 13035-420, e-mail: mhmartini@ial.sp.gov.br

² Laboratório de Microestrutura de Alimentos, FEA/UNICAMP, SP, e-mail: debora@fea.unicamp.br.

Recebido: 07/12/2004 – Aceito para publicação: 30/06/2005.

RESUMO

Os estudos sobre as reservas das sementes do gênero *Theobroma* referem-se sobretudo de *T. cacao* L, até hoje a única fonte da matéria prima do chocolate. Essas pesquisas abordaram as mudanças bioquímicas ocorridas na semente durante a fermentação, secagem, torração ou seja das etapas de produção do chocolate. Mais recentes são os trabalhos com sementes de *T. grandiflorum* (cupuaçu), utilizadas na elaboração do cupulate, produto com algumas características do chocolate. Por esse motivo, os especialistas em *Theobroma* estão ampliando as análises com as reservas das sementes para as espécies *T. grandiflorum* (Willd. Ex Spreng.) Schum, *T. subincanum* Mart, *T. obovatum* Bern., *T. bicolor* H. & B., *T. microcarpum* Mart e *T. speciosum* Mart. Como o interesse é voltado à possibilidade de ampliar as fontes de chocolate, as características estudadas nesta revisão são comparadas com *T. cacao* L. O mesofilo cotiledonar é semelhante em todas as espécies aqui estudadas devido a predominância de reserva lipídica e protéica. As células do cotilédone imaturo demonstram capacidade para sintetizar todas as reservas; na maturidade demonstram predominância de reservas lipídicas, protéicas ou de mucilagem ou de polifenóis.

Palavras-chaves. semente, *Theobroma*, compostos de reserva da semente, cacau.

ABSTRACT

Many investigations on the cellular reserves within the cotyledon mesophyll of genus *Theobroma* have been carried out in *Theobroma cacao* seeds, which is the raw material source for chocolate production. These studies demonstrated the structural cellular changes due to fermentation, drying, and roasting processes during chocolate production. Recently, the seeds from *T. grandiflorum* (“cupuaçu”) have been analyzed owing to their importance in the production of “cupulate”, a new product similar to chocolate. The present work presents a review on lipid-protein, carbohydrate and polyphenolic reserves derived from *T. cacao*, *T. grandiflorum* (Willd. Ex Spreng.) Schum, *T. subincanum* Mart, *T. obovatum* Bern., *T. bicolor* H. & B., *T. microcarpum* Mart and *T. speciosum* Mart. Cotyledon mesophyll tissue is similar in all of the studied species with respect to lipid-protein reserve. Immature cotyledonary cells show a capacity to synthesize all the reserves, however in the mature stage, these cells demonstrate predominance of lipid-protein or mucilage, or polyphenolics reserves.

Key words. seeds, *Theobroma*, reserves in seeds, cacao.

SUMÁRIO

Introdução	11
1. O Gênero <i>Theobroma</i> , as seções e o comportamento recalcitrante de suas sementes	11
2. Cacau – <i>Theobroma cacao</i> L.	11
2.1. Fruto e semente do cacau	12
3. Cupuaçu – <i>Theobroma grandiflorum</i> (Willd. Ex Spreng.) Schum	12
3.1. Fruto e semente do cupuaçu	14
4. Cacau Tigre – <i>Theobroma bicolor</i> H. & B	14

4.1. Fruto e semente do cacau tigre	14
5. Espécies de <i>Theobroma</i> menos estudadas	14
5.1. Cupui – <i>Theobroma subincanum</i> Mart.	14
5.2. Cacaui – <i>Theobroma speciosum</i> Mart.	14
5.3. Cabeça de urubu – <i>Theobroma obovatum</i> Bern.	14
5.4. Cacau jacaré – <i>Theobroma microcarpum</i> Mart.	14
6. Compostos de reserva das sementes das sete espécies <i>Theobroma</i> (<i>T. grandiflorum</i> , <i>T. subincanum</i> , <i>T. obovatum</i> , <i>T. bicolor</i> , <i>T. microcarpum</i> , <i>T. speciosum</i> e <i>T. cacao</i>)	14
6.1. Lipídeos: síntese, composição e mobilização na germinação	14
6.2. Proteínas e síntese	16
6.3. Carboidratos	17
7. Estruturas secretoras em sementes	17
7.1. Compostos fenólicos	17
7.2. Mucilagem	17
7.3. Alcalóides	17
8. Considerações sobre a revisão	17
Referências	18

INTRODUÇÃO

As sementes de espécies do gênero *Theobroma* despertam continuado interesse. A semente de *Theobroma cacao* L. permanece como única fonte do que se padroniza como chocolate; *T. grandiflorum* (Willd. Ex Spreng.) Schum. (cupuaçu) está atingindo o mercado com o cupulate, um produto assemelhado ao chocolate porém com características muito distintas, por exemplo, o aroma. Na atualidade recrudescer o estudo sobre as gorduras, fonte de novos produtos para as indústrias de alimentos, cosméticos e farmacêuticas. Estão sendo indicadas como alternativas à gordura de cacau as gorduras de *T. speciosum* Mart., *T. sylvestre* e *T. bicolor* H.& B¹. Por outro lado a presença expressiva de polifenóis em *T. cacao* L., *T. bicolor* H.& B., *T. subincanum* Mart² e sua capacidade antioxidante já atraiu a indústria de chocolate postulando agregar valor nutricional e identidade ao produto¹. Os estudos sobre a estrutura de sementes de cacau e cupuaçu referem-se às transformações ocorridas durante a fermentação, secagem, torração e etapas de produção de chocolate e cupulate^{4,5,6,7,8}.

O objetivo da presente revisão é atualizar informações sobre as reservas cotiledonares de *T. grandiflorum*, *T. subincanum*, *T. bicolor*, *T. speciosum*, *T. obovatum* e *T. microcarpum* e abordar as diferenças com os cotilédones de *T. cacao*.

1. O GÊNERO *THEOBROMA*, AS SEÇÕES E O COMPORTAMENTO RECALCITRANTE DE SUAS SEMENTES

O gênero *Theobroma*, pertence à família Sterculiaceae e a ordem Malvales, apresenta vinte e duas espécies na América

Tropical^{3,9}. Cuatrecasas¹⁰, com base nos aspectos vegetativos, morfologia dos frutos e hipótese evolutiva, classificou-as em seis seções. Essa revisão abordou sementes de cinco seções, ou seja, espécies da flora brasileira de interesse para o Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira (CEPLAC) e o Centro de Pesquisa Agroflorestal da Amazônia Oriental (CPATU). As seções abordadas e a indicação das espécies e origens estão apresentadas na Tabela 1.

Dentre as 22 espécies, o cultivo do cacau já é antigo e o mesmo foi incentivado para o *T. grandiflorum* (cupuaçu). A polpa do fruto é industrializada para produção de sucos, sorvetes e geléias; as sementes são submetidas ao mesmo processo do chocolate, obtendo-se o cupulate com características e sabor originais. A gordura de cupuaçu tem um perfil de ácidos graxos interessantes para o uso em indústria de alimentos e cosméticos^{1,12,13,14}.

Na maioria das espécies, o período de viabilidade das sementes aumenta à medida que a temperatura e umidade de armazenamento decrescem; este comportamento é denominado *ortodoxo*¹⁵. Por outro lado, existem sementes sensíveis ao dessecação, as sementes *recalcitrantes*, porque apresentam curto período de viabilidade e requerem alto teor de umidade a qual é o estímulo que exigem para a germinação. Portanto, não ocorre secagem natural da semente dentro do fruto e, por ausência de dormência, entram em germinação imediata^{15,16}. O comportamento recalcitrante, isto é aquele que exige condições de altas umidade e temperatura, é característico de sementes tropicais, ou seja, do gênero *Theobroma*^{16,17}.

2. CACAU - *THEOBROMA CACAO* L.

O cacaueiro talvez seja originário das bacias do Amazonas e Orinoco. Seu cultivo se estende da Colômbia para a Venezuela, América Central e México. Ao dispersar-se ao longo do rio Amazonas, alcança também as Guianas. Saindo das

Por exemplo, o chocolate escuro precisa conter no mínimo 3600µg de polifenóis/g e no máximo 8000µg/g de chocolate. Para o chocolate branco o padrão esperado é conter polifenóis entre o mínimo de 1000µg/g e o máximo de 5000µg/g de chocolate branco¹¹.

Américas, a cultura foi introduzida na África nos países de Gana, Nigéria, Costa do Marfim, Camarões e Malásia. A África é responsável por cerca de 60% da produção mundial de cacau, enquanto a Costa do Marfim produz 41% deste total¹⁸. O Brasil é o quinto produtor, responsável apenas por 4% do total mundial. Hoje o cultivo do cacau ocorre em nove estados brasileiros, sendo 81% da produção nacional proveniente da Bahia¹⁹.

O cacau é classificado mundialmente sob três tipos: Criollo, Forastero e Trinitario, sendo que a maioria do cacau comercializado é tipo Forastero. O tipo Trinitario resulta da hibridização entre Forastero e Criollo. Trinitario e Criollo produzem chocolates de excelente qualidade, com sabor e aroma suaves⁹.

A variedade Criollo tem cotilédones brancos e produz um chocolate considerado de qualidade superior devido à coloração marrom brilhante, aroma e sabor peculiares. A cultura de Criollo abrange países da América Central, Venezuela, Colômbia, Equador e Peru¹⁹.

A variedade Forastero é a que detem 95% de toda produtividade mundial de cacau, porque é resistente às pragas e doenças. As sementes são achatadas em relação ao Criollo e ainda diferem pela coloração violeta intensa; produzem um chocolate com sabor mais ácido e adstringente. O Forastero ocorre na Bahia, Amazônia e países produtores da África⁹.

A variedade Trinitario produz sementes que variam de amarelo a roxo. O chocolate originado desta variedade é considerado de qualidade intermediária. É cultivado na Malásia e Indonésia⁹.

2.1. Fruto e semente do cacau

O fruto de cacau, com cerca de 20cm x 7,5cm (Figura 1 D e D₁), é alongado e apresenta sulcos longitudinais no pericarpo, o qual é duro e cor variando entre o amarelo ao vermelho²⁰. Contém 30 a 50 sementes, perfazendo 13,5 a 29% do peso do fruto⁸. As sementes medem 2 a 3cm de comprimento e são revestidas por polpa mucilaginosa (Figura 1D). A polpa é constituída por um parênquima de células esponjosas e mucilaginosas contendo água, frutose, glicose, sacarose, pentosanos, ácido cítrico, proteínas e vários sais inorgânicos^{3,9}. Ao abrir a semente, verifica-se que os cotilédones são amplos, foliáceos intensamente redobrados ao redor do eixo hipocótilo-radícula, o que é frequente na ordem Malvales²¹. Estes redobramentos estão demonstrados nas Figuras: 1 (A₁, B₁, C₁, D₁) e Figura 2 (E₁, F₁, G₁). As reservas dos cotilédones são de natureza protéica, lipídica, polifenólica e amilácea; a quantidade de reserva dependerá da localização das células na semente⁴.

3. CUPUAÇU – *THEOBROMA GRANDIFLORUM* (WILLD. EX SPRENG.) SCHUM.

O cupuaçuzeiro é nativo ao sul e sudeste do Pará, em parte do Maranhão e Tocantins. Atualmente está disseminado em quase toda Amazônia sendo uma das principais frutas de cultivo da região. Nos estados de São Paulo, Bahia e Rio de Janeiro encontram-se espécimens isolados. Seu cultivo ocorre

Tabela 1. Teor de lipídeos de sementes de espécies do gênero *Theobroma* demonstrado entre 1981 a 2002.

SEÇÃO/ESPÉCIE	ORIGEM	% de LIPÍDEO
Glossopetalum		
<i>T. grandiflorum</i>	Brasil	60,5 ¹² ; 56,7 ³⁰ ; 54,2 ²
	<i>desconhecida</i>	
<i>T. obovatum</i>	Brasil	64,0 ³⁰ ; 60,8 ³¹
<i>T. subincanum</i>	Brasil	48,8 ³⁰ ; 59,9 ²
Oreanthes		
<i>T. speciosum</i>	Costa Rica	25,8 ³⁰
Rhytidocarpus		
	Brasil	36,1 ¹² ; 34,1 ³³ ; 30,8 ²
<i>T. bicolor</i>	Costa Rica	27,0 ³³
	México	17,0 ³⁴
	Costa Rica	29,6 ³⁰
	Guatemala	25,5 ²⁷
	Peru	30,8 ²⁸
Telmatocarpus		
<i>T. microcarpum</i>	Brasil	5,3 ³⁰ ; 6,5 ³¹
Theobroma		
	Brasil	56,0 ¹² ; 54,5 ³⁰ ; 47,2 ^{31,2} 51,2 ^{7,8}
<i>T. cacao</i>	<i>desconhecida</i>	52,0 ³³
	México variedade Criollo	23,9 ³⁴
	Costa Rica	19,5 ³⁴
	Guatemala	42,8 ²⁷

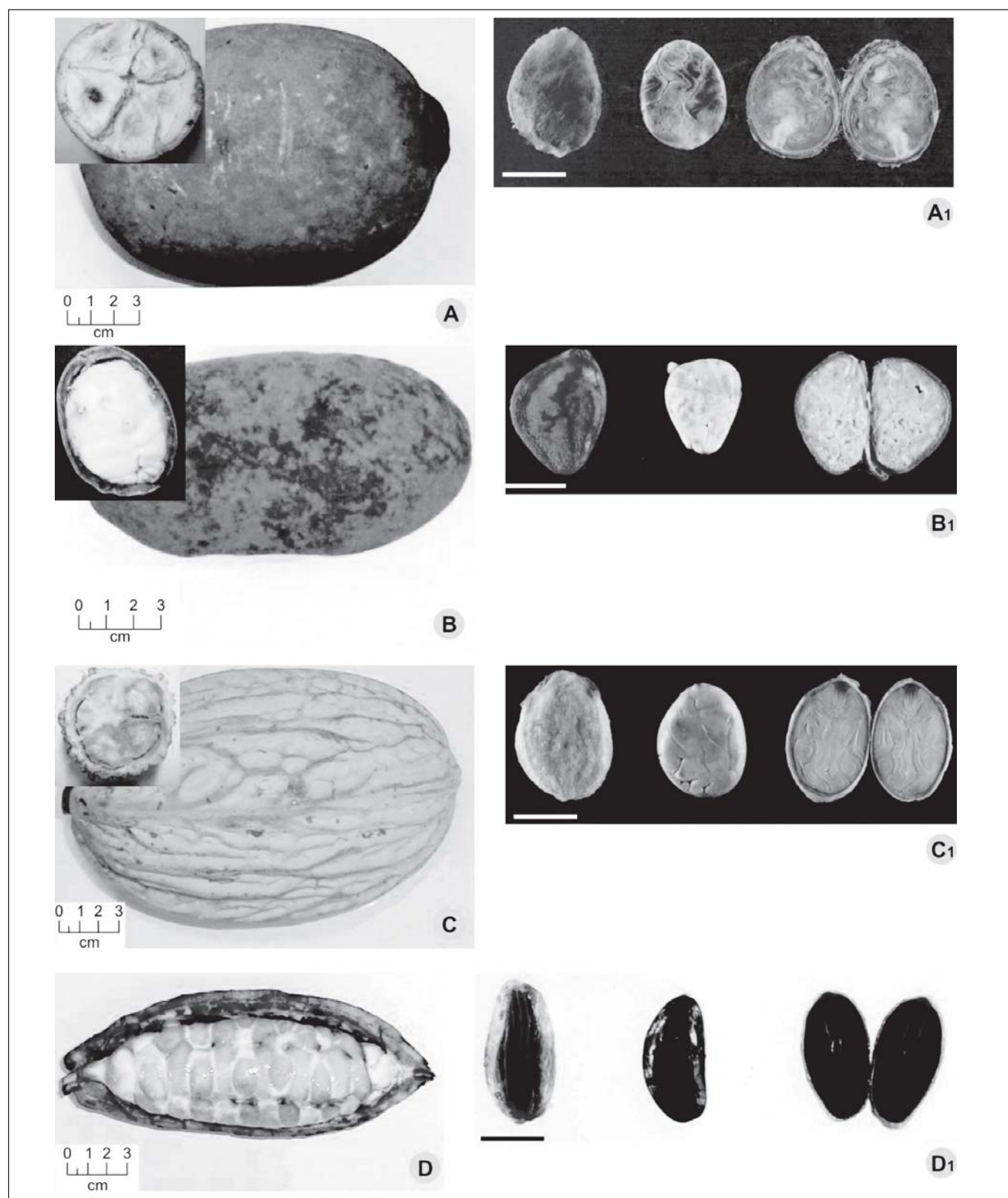


Figura 1*. Frutos (A, B, C, D) e respectivas sementes (A₁, B₁, C₁, D₁). *T. grandiflorum* (A e A₁). *T. subincanum* (B e B₁). *T. bicolor* (C e C₁). *T. cacao* (D e D₁). Os frutos demonstram forma e pesos diferentes. As sementes abertas mostram os cotilédones redobrados, característica do gênero. As variações de coloração dos cotilédones são frequentes; nos varietais de *T. cacao* as colorações vão do amarelo claro ao roxo escuro (D₁). (A₁, B₁, C₁, D₁: Barra = 10mm).

* Figura extraída da tese de doutorado da primeira autora defendida em 02/06/2004.

também na Venezuela, Equador, Costa Rica, Colômbia, Trinidad Tobago, Gana, Martinica, São Tomé, Flórida e Austrália²²⁻²⁴. A Empresa Brasileira de Pesquisas Agropecuárias (EMBRAPA), o Centro de Pesquisa Agroflorestal da Amazônia Oriental (CPATU) e Centro de Cooperação Internacional em Pesquisa Agronômica (CIRAD), França, estão incentivando o cultivo do cupuaçu em cooperativas²⁵.

O cupuaçu também apresenta variedades que são definidas em função do formato e peso do fruto, espessura da casca e presença ou ausência de sementes. As mais conhecidas são: *Cupuaçu-redondo*, *cupuaçu mamorana*, *cupuaçu mamau*²⁶.

3.1. Fruto e semente do cupuaçu

O fruto, elipsóide à subgloboso medindo 16cm x 11cm (Figura 1 A e A₁) é o maior do gênero *Theobroma*. A polpa é utilizada na indústria alimentícia para produção de sucos, sorvetes, geléias. Seu sabor é distinto do cacau sendo ácido com odor intenso e agradável^{1,20}.

Cada fruto contém 20 a 50 sementes (média 36). Os cotilédones, redondos e achatados, medem 2 a 4cm de largura (Figura 1A₁).

4. CACAU TIGRE – *THEOBROMA BICOLOR* H.& B.

Tem origem incerta, parecendo ser natural da América Central, onde é encontrado sob cultivo não extensivo desde o México até a Amazônia (região do Rio Negro). Na Guatemala ocorre sob forma silvestre. As sementes são utilizadas pela população rural, em substituição ao cacau, e sua polpa mucilaginoso usada para a produção de sucos²⁷. No Brasil a polpa é empregada como suco e as sementes são consumidas assadas^{1,12,20,28}.

4.1. Fruto e semente do cacau tigre

Fruto elipsóide a globoso, medindo cerca de 17cm x 13cm (Figura 1 C). O pericarpo é realçado por estruturas salientes, aparentando grossas veias reticuladas. Os cotilédones são esbranquiçados devido ao menor número de células polifenólicas^{2,29} (Figura 1 C₁).

5. ESPÉCIES DE *THEOBROMA* MENOS ESTUDADAS

5.1. Cupui - *Theobroma subincanum* Mart.: esta espécie é considerada a mais primitiva do gênero e sua distribuição natural ocorre por toda a bacia Amazônica, Venezuela e Guiana Francesa. Sua polpa é utilizada também no preparo de sucos. O fruto é elipsóide, medindo 15cm x 8cm (Figura 1 B). Sementes entre 2–2,5cm, apresentam polpa branco amarelada e sem odor¹⁰ (Figura 1 B₁).

5.2. Cacaui - *Theobroma speciosum* Mart.: a espécie ocorre ao

longo do rio Amazonas e seus afluentes. Não apresenta ainda valor comercial. Fruto globoso-elipsóide, medindo cerca de 10 cm de comprimento, contem até 20 sementes (Figura 2 E e E₁). Polpa esbranquiçada e sem odor²².

5.3. Cabeça de urubu - *Theobroma obovatum* Bern.: distribui-se pela região do Alto Amazonas, Acre, Mato-Grosso, Peru, Colômbia e Bolívia. Os frutos têm apenas 5 a 7cm e as sementes 16mm em seu maior eixo (Figura 2 F e F₁). A polpa das sementes é ácida e apreciada^{10,22}.

5.4. Cacau Jacaré - *Theobroma microcarpum* Mart. é considerada uma espécie rara e tida como exemplo de especiação causada pelo isolamento geográfico. Ocorre na parte ocidental da região amazônica¹. Os frutos são pequenos, possuindo em média de 10 a 12 sementes (Figura 2 G e G₁) e apresentam um dos mais baixos teores de gordura entre as demais espécies aqui em estudo, ou seja, entre 5% e 6%^{1,30,31}.

6. COMPOSTOS DE RESERVA DAS SEMENTES DAS SETE ESPÉCIES *THEOBROMA* (*T. grandiflorum*, *T. subincanum*, *T. obovatum*, *T. bicolor*, *T. microcarpum*, *T. speciosum* e *T. cacao*)

Sementes de *Theobroma* induzem a expectativa de predominância de reservas lípido-proteicas, essenciais a um primeiro processo de chocolateização. Entretanto, os polissacárides ácidos e neutros podem ser abundantes e em *T. microcarpum* parecem ter relação inversa com a quantidade de lípidos.

Quanto às proteínas nestas sete espécies, os corpos proteicos ocupam extensas áreas vacuolares nas células vivas³². Esta disposição é também evidente nas preparações microscópicas sob coloração de Naphtol Blue Black². Os lípidos destas espécies, quando observados em secções úmidas e sob frio ($\pm 5^{\circ}\text{C}$) revelam numerosos glóbulos com igual diâmetro revestindo uniformemente toda a face interna da membrana celular². Grânulos de amido são facilmente detectáveis embora sejam escassos na semente madura, à exceção de *T. microcarpum*^{2,31}. Muitos polissacárides, fortemente hidratados são perdidos na fase hidratada da preparação microscópica das sementes. Os polifenóis, entretanto, tendem a acumular-se em células específicas formando um grande e conspicuo vacúolo^{2,31}.

6.1. Lípidos: síntese, composição e mobilização na germinação

Os lípidos são a principal fonte de reserva das sementes da maioria das espécies do gênero *Theobroma* com valores acima de 60% em *T. grandiflorum* e *T. obovatum* (Tabela 1). Os triacilgliceróis (TAGs) e suas cadeias de carbono têm comprimentos e funcionalidades distintos. Gilbert-Escrivá et al.¹ analisaram os lípidos de: *T. cacao*, *T. grandiflorum*, *T. obovatum*, *T. subincanum*, *T. microcarpum* e *T. bicolor*. As

Tabelas extraídas de Gilbert-Escrivá et al.¹ contêm os principais TAGs de *T. grandiflorum*, *T. bicolor*, *T. subincanum* e *T. cacao* (Tabela 2). Os ácidos graxos (AG) predominantes estão na Tabela 3. A composição em TAGs de *T. cacao* é bastante distinta em relação as outras três espécies, o que confere as características da gordura desta espécie. Gilbert-Escrivá et al.¹ ao analisarem as curvas de cristalização das gorduras por Calorimetria Diferencial de Varredura, obtiveram um

comportamento semelhante para *T. bicolor* e *T. grandiflorum* os quais se distanciaram de *T. subincanum*. Atribuíram a fusão característica da gordura de *T. cacao* à sua composição em TAG, e aos seus comprimentos de cadeia dos ácidos graxos, os quais são mais uniformes em relação às outras três espécies. As gorduras de *T. grandiflorum* e *T. bicolor* apresentam maior maciez em relação à gordura de cacau e são indicadas para a indústria de margarinas e cosméticos^{12,33,34}. Silva³⁵ mostrou

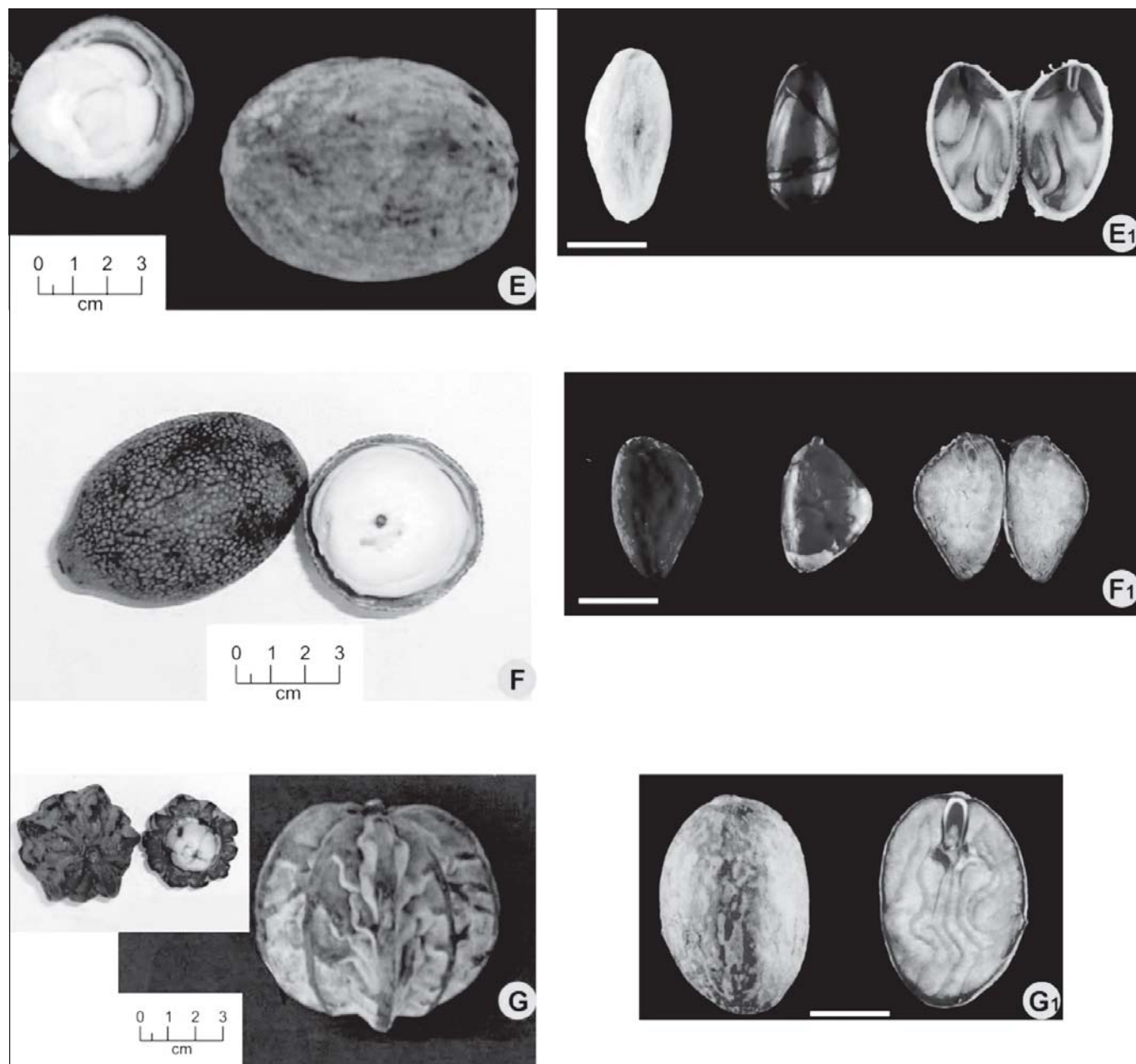


Figura 2*. Frutos (E, F, G) e respectivas sementes (E₁, F₁, G₁) de *T. speciosum* (E e E₁) . *T. obovatum* (F e F₁). *T. microcarpum* (G e G₁). O *T. speciosum* e *T. microcarpum* têm poucos redobramentos nos cotilédones, contrastando-se com *T. obovatum*, *T. grandiflorum* e *T. subincanum*, cujos redobramentos cotilédonares são os mais numerosos dentre as sete espécies deste estudo. (E₁, F₁, G₁ : Barra = 10mm).

* Figura extraída da tese de doutorado da primeira autora defendida em 02/06/2004.

que o padrão de fusão da gordura de cacau foi preservado quando adicionou 10% de gordura de cupuaçu ou de sua estearina.

Durante o desenvolvimento das sementes de *T. cacao*, a síntese de TAGs é marcada por três estágios que ocorrem em um período de dois meses. O primeiro estágio se caracteriza por rápida divisão celular e pouco acúmulo de reservas. No segundo estágio ocorre rápida síntese de TAGs entre o 120° e 160° DAP; momento de estabelecimento do padrão dos ácidos graxos. O último estágio, ao redor do 170° DAP, dá início à fase de relativo dessecamento da semente³⁶.

O glóbulo lipídico, na maioria das sementes, apresenta-se circundado por uma camada de fosfolípidos originada da membrana do RE por vesiculação ou brotamento^{37,38}. Nas sementes tolerantes ao dessecamento, que predominam em climas temperados, os TAGs dos glóbulos lipídicos são sintetizados juntamente com uma classe de proteínas especializadas, as *oleosinas*, cujo peso molecular situa-se entre 15 a 24kDa. Essas proteínas conferem estabilidade ao glóbulo lipídico, inibindo sua coalescência durante períodos de desidratação e reidratação da semente^{15,37-40}. Existem glóbulos lipídicos que ao se desligarem do RE serão parcialmente cobertos pelas oleosinas, formando glóbulos lipídicos maiores. O diâmetro dos glóbulos lipídicos depende da taxa de oleosina durante sua formação. Nas sementes tolerantes ao dessecamento o tamanho varia entre 0,5- 2,0 μm ⁴⁰. Em sementes sensíveis ao dessecamento, geralmente de origem

tropical e subtropical, como cacau, e frutas ricas em óleo como azeitona e abacate, não se registram teores significativos de oleosinas⁴⁰. Durante a formação dos glóbulos ocorrem fusões até alcançarem diâmetros que variam entre 5 a 30 μm ^{37,38,41}. A mobilização dos glóbulos lipídicos ocorre na primeira semana de germinação, iniciando-se pela mobilização das lipases. Murphy⁴⁰ sugere que as oleosinas estando na superfície do glóbulo agiriam como receptoras das lipases. A atividade hidrolítica das lipases ocorre, também, nas sementes desprovidas de oleosinas porque as plantas não transportam lipídeos neutros ou membranas lipídicas, mas convertem-nas à sacarose ou outro intermediário solúvel para o transporte intercelular e/ou vascular⁴¹. Após a mobilização dos glóbulos lipídicos, ocorre a liberação de grande quantidade de ácidos graxos, os quais são disponibilizados para ceder energia via β -oxidação nos glioxissomas.

Os glóbulos lipídicos, dos cotilédones maduros destas sete espécies abordadas, eram maiores (7 μm)^{2,31} em relação às várias sementes tolerantes ao dessecamento, 2,0 μm em café¹⁵. Leprince et al.¹⁵ não detectaram oleosinas nos glóbulos lipídicos em sementes de cacau, mas observaram que os glóbulos lipídicos das sementes tropicais e subtropicais podem permanecer estáveis, apesar da ausência de oleosinas, durante uma desidratação artificial, mas a seguir fundem-se imediatamente se for efetuada uma reidratação. Recentemente Guilloteau et al.⁴² isolaram cinco polipeptídeos de sementes de *T. cacao* com pesos moleculares (16,1 a 26,5 kDa) semelhantes aos de oleosinas. Guilloteau et al.⁴² atribuem à natureza recalcitrante das sementes de cacau um segundo fator, isto é, à alta concentração da proteinase aspártica. Essa enzima, nas sementes maduras do *T. cacao*, atinge seu ponto máximo de hidrólise durante o processo de fermentação.

Tabela 2. Principais triglicérides (g/100g) de gorduras, de sementes de espécies de *Theobroma*, obtidos por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).

Espécies	TAG				
	POS	SOS	POP	SOO	SOA
<i>T. grandiflorum</i>	12,0	31,4	1,1	16,1	18,1
<i>T. subincanum</i>	–	27,4	1,1	21,0	14,5
<i>T. bicolor</i>	16,5	52,2	1,4	17,9	4,4
<i>T. cacao</i>	42,3	26,4	20,8	0,9	2,0

S = esteárico; P = palmítico; O = oléico; A = araquídico. Fonte: Gilabert-Escrivá et al.¹

Tabela 3. Principais ácidos graxos de sementes de espécies de *Theobroma* expressa em porcentagem molar.

Espécies	AG			
	C 16:0	C 18:0	C 18:1	C 20:0
	Palmítico	Esteárico	Oléico	Araquídico
<i>T. grandiflorum</i>	8,5	34,6	42,0	9,9
<i>T. subincanum</i>	6,8	31,8	45,6	–
<i>T. bicolor</i>	8,1	47,8	41,0	–
<i>T. cacao</i>	30,6	33,9	31,4	–

Fonte: Gilabert-Escrivá et al.¹

6.2. Proteínas e síntese

A proteólise das proteínas de reserva marca o estágio de germinação da semente^{43,44}. A síntese das proteínas ocorre no retículo endoplasmático rugoso (RER) e formam corpos protéicos^{32,45}, que serão seqüestrados por autofagia grandes vacúolos de reserva protéica⁴⁶. As proteínas das sementes de *T. cacao* seguem o padrão das dicotiledôneas, isto é, tem 52% de albuminas com peso molecular igual a 19kD. Seguem-se 43% de globulinas do tipo vicilinas, cujas frações polipeptídicas têm pesos moleculares 47 kDa, 31 kDa e 14,5 kDa^{47,48}. Uma fração importante para a formação do sabor e aroma do cacau é atribuída aos peptídeos originados da digestão proteolítica das vicilinas durante a etapa de fermentação do cacau. É importante lembrar que sementes que contêm vicilinas contêm também leguminas ou apenas leguminas. O *T. cacao* é uma exceção, suas globulinas contêm apenas vicilinas⁴⁰.

Um estudo do perfil de proteínas totais das sementes de *Theobroma: cacao, grandiflorum, bicolor, microcarpum, subincanum, obovatum* e *sylvestre*⁴⁹ sugeriu a presença de um inibidor de tripsina (21 kDa), com limitado polimorfismo. Esses autores demonstraram também vicilinas com 31 kDa e 47 kDa e estas, por sua vez, expressavam grande polimorfismo^{20,49}. Para

T. cacao, *T. grandiflorum* e *T. bicolor*, Mueller et al.²⁹ já haviam encontrado dois tipos de vicilinas ($46,5 \pm 1$ kDa e $30,3 \pm 2$ kDa), onde as vicilinas de 30 kDa representavam 15% do total de proteínas destas três espécies.

6.3. Carboidratos

Os carboidratos do material de reserva, isto é, mucilagem e grãos de amido são vicinais às outras substâncias de reserva. A porcentagem de amido encontrado em sementes de *T. cacao* provenientes de 7 diferentes regiões, inclusive do Brasil (Bahia), variou entre 4,5 a 7,0% e o conteúdo de amilose representou 36% dos amidos⁵⁰. Os carboidratos que constituem a parede celular de *T. cacao* pertencem a três grupos: mananos, galactoglucomanos e xiloglucanos⁵¹. Nessa espécie estes autores demonstraram (60%) polissacarídeos pécicos, (28%) celulose, (8%) xiloglucanos e (3%) galactoglicomananos⁵¹.

7. ESTRUTURAS SECRETORAS EM SEMENTES

7.1. Compostos Fenólicos

Os polifenóis causam forte impacto sobre o sabor do chocolate, mas são compostos comuns para a maioria dos vegetais superiores. Estão localizados no interior de idioblastos da epiderme e subepiderme de folhas, raízes e sementes^{52,53,54}. Os polifenóis são derivados do metabolismo da glicose, vias acetato e shikimato⁵⁵.

Zaprometov⁵⁶, revisando o desempenho funcional dos polifenóis confirmou a participação destes na agregação de polissacarídeos complexos na parede celular primária e na formação da suberina e cutina. Contribui também para a proteção do aparato fotossintético e genético contra radiações UV. A intrínseca reatividade dos polifenóis facilita-lhes atuar no metabolismo intracelular agindo como substância redutora ou sinalizadora na inter-relação planta-microorganismo.

Bravo⁵⁵ considera que existem acima de 8000 estruturas fenólicas nas plantas. Recentemente Wollgast e Anklam¹¹ revisaram os polifenóis de *T. cacao*; os autores apontaram acima de 20 propriedades protetoras à saúde humana, das quais muitas envolvem ações anti-oxidantes. Os polifenóis, localizados no mesófilo cotiledonar de *T. cacao*, representam 12 a 20% da massa das sementes de cacau secas e desengorduradas^{31,57}. Os polifenóis estão presentes em *T. grandiflorum*, *T. bicolor*, *T. obovatum*, *T. speciosum*, *T. Microcarpum*².

7.2. Mucilagem

Mucilagens são polímeros complexos de polissacarídeos ácidos ou neutros, de alto peso molecular contendo mais de 30.000 unidades de monossacarídeos diferentes, solúveis em água e comuns às plantas superiores^{52,58}. A função fisiológica da mucilagem na maioria

dos casos é incerta; podem ser substâncias de reserva ou contribuir para o balanço hídrico e/ou resistência ao dessecamento⁵⁹. A pectina, polissacarídeo ácido, é o principal componente da mucilagem⁶⁰. À microscopia óptica, a mucilagem permanece hialina ou forma estrias típicas deste material^{61,62}. É característico nas Malvales a presença de células e, até mesmo, cavidades contendo predominantemente mucilagem^{62,63,64}. Na realidade, já foi demonstrado que numerosas estruturas participam da secreção de mucilagem: idioblastos, cavidades, ductos, superfícies epidérmicas em muitas espécies e inclusive nas Sterculiaceae ocorrem cavidades lisígenas preenchidas com mucilagem na raiz, caule, flores e folhas^{52,65,66}.

7.3. Alcalóides

Os alcalóides teobromina, teofilina e cafeína pertencem ao grupo das purinas e embora sejam amplamente conhecidos, a presença destes é limitada à cerca de 20% das espécies vegetais. Existem duas hipóteses sobre a função das altas concentrações de alcalóides nestas espécies vegetais: a hipótese de defesa química propõe um papel protetor contra a predação; outra hipótese sugere que os alcalóides das sementes são liberados no solo para inibir a germinação de outras sementes⁶⁷. Hammerstone et al.⁶⁸, estudando onze espécies de *Theobroma*, encontraram alcalóides do grupo das purinas, cafeína e teobromina, porém em níveis detectáveis somente para *T. cacao*. Em todas as espécies encontraram o tetrametilurato, com exceção de *T. obovatum* que não apresentou alcalóides. Buchelli et al.⁶⁹ determinaram em, *T. cacao*, a variação de concentração destes alcalóides durante a maturação da semente e observaram aumento da concentração de teobromina a partir do 125º dias após polinização (DAP), estendendo-se até o final da maturação (175º DAP). Em relação à cafeína os mesmos autores evidenciaram o início da deposição a partir do 146º DAP até a maturidade.

8. CONSIDERAÇÕES SOBRE A REVISÃO

Há evidências na literatura e as presentes autoras confirmam que os frutos de *Theobroma* e respectivas sementes apresentam amplo polimorfismo. Em *T. cacao*, espécie mais estudada, o polimorfismo ocorre entre suas variedades, por exemplo, quanto à dimensão do fruto, às características morfológicas destes, quanto às suas sementes, e quanto ao tipo e quantidade dos elementos de reserva. Esse fato confere diversidade aos chocolates originados dos tipos criollo, forastero e trinitario. Os trabalhos realizados com sementes de *T. cacao* estão, em sua maioria, direcionados para as fases do processamento do chocolate. As pesquisas que caracterizaram a morfologia das sementes de *Theobroma* referem-se sobretudo à *T. cacao*.

Esta revisão bibliográfica apresenta e analisa as reservas cotiledonares de sete espécies de *Theobroma*. Estão ocorrendo pesquisas nacionais em vários centros e caracterizam-se por:

1. Detalhar as gorduras de *Theobroma*, almejando aplicações tecnológicas¹.
2. Explicar a filogenia do gênero *Theobroma*⁴⁹.
3. Apresentar propostas de tratamento para a fase de fermentação, secagem e torração de *T. cacao* visando aprimoramento do sabor⁷.
4. Estudar as reservas cotiledonares quanto à gênese e à sua distribuição nas células^{2,31}.

Essas contribuições morfológicas da última década são em realidade atualizações dos trabalhos pioneiros de Biehl e sua equipe da década de 1980. Nesta revisão foram abordados as mais recentes informações sobre a síntese de lípides devido à importância de suas gorduras do *Theobroma*. A síntese das proteínas foram estudadas por Voigt et al.⁴⁸ e Müller et al.²⁹ em *T. cacao*, *T. grandiflorum* e *T. bicolor*. Os polifenóis e a mucilagem foram abordados devido à importância funcional que exercem tanto na torração e chocolateira das amendoas de *T. cacao*^{2,31}.

REFERÊNCIAS

1. Gilibert- Escrivá MV, Gonçalves LAG, Silva LRS, Figueira A. Fatty acid and triacylglycerol composition and thermal behaviour of fats from seeds of Brazilian Amazonian *Theobroma* species. *J Sci Food Agric* 2002; 82(13): 1425-31.
2. Martini MH. Caracterização das sementes de seis espécies de *Theobroma* em relação ao *Theobroma cacao* L. [Tese de Doutorado]. Campinas, São Paulo: Universidade Estadual de Campinas, 2004. 86 pp.
3. Aragão CG. Mudanças físicas e químicas da semente de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum* Schum) durante o processo fermentativo [Dissertação de Mestrado]. Manaus, Amazonas: Universidade do Amazonas, 1992, 115 pp.
4. Biehl B, Passern U, Passern D. Subcellular structures in fermenting cocoa beans. Effect of aeration and temperature during seed and fragment incubation. *J Sci Food Agric* 1977; 28: 41-52.
5. Biehl B, Passern D, Sagemann W. Effect of Acetic Acid on Subcellular Structures of Cocoa Bean Cotyledons. *J Sci Food Agric* 1982a; 33: 1101-09.
6. Biehl B, Heinrichs H, Berghausen HZ, Srivastava S, Xiong Q, Passern D et al. The proteases of ungerminated cocoa seeds and their role in the fermentation process. *Angew Bot* 1993; 67: 59-65.
7. Brito ES. Estudo de mudanças estruturais e químicas produzidas durante a fermentação, secagem e torração do cacau (*Theobroma cacao* L.); e propostas de tratamentos para o melhoramento do sabor. [Tese de Doutorado]. Campinas, São Paulo: Universidade Estadual de Campinas, 2000. 134p.
8. Mattietto RA. Estudo comparativo das transformações estruturais e físico-químicas durante o processo fermentativo de amêndoas de cacau (*Theobroma cacao* L) e cupuaçu (*Theobroma grandiflorum* Schum) [Dissertação de Mestrado]. Campinas, São Paulo: Universidade Estadual de Campinas, 2001. 163pp.
9. Bckett ST. Industrial Chocolate Manufacture and Use. 2nd ed. St. Paul Suffolk: St. Edmundsbury Press Ltda., 1997.
10. Cuatrecasas J. Cacao and its allies: a taxonomic revision of the genus *Theobroma*. Contributions from the United State National Herbarium 1964; Washington (DC); 35: 379-614.
11. Wollgast J, Anklam E. Review on polyphenols in *Theobroma cacao*: changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. *Food Res Inter* 2000; 33: 423- 47.
12. Berbert PRF. 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. *Rev Theobroma* 1981; 11(2): 91-8.
13. Jee MH. Composition of the fat extracted from the seeds of *Theobroma bicolor*. *J Am Oil Chem Soc* 1984; 61: 751-3.
14. Nazaré RFR, Barbosa WC, Viégas RMF. Processamento das sementes de cupuaçu para obtenção de cupulate. Belém (PA): EMBRAPA-CPATU, 1990.
15. LePrince O, Van Aelst AC, Pritchard HW, Murphy DJ. Oleosins prevent oil-body coalescence during seed imbibition as suggested by a low temperature scanning electron microscope study of desiccation-tolerant and sensitive oilseeds. *Planta* 1998; 204:109-19.
16. Pammenter NW, Berjak P. Evolutionary and ecological of recalcitrant seed biology. *Seed Sci Res* 2000; 10: 301-6.
17. Mumford PM, Brett AC. Conservation of cacao seed. *Trop Agric* 1982; 59 (4): 306-10.
18. CEPLAC. Comissão Executiva do Plano de Lavoura Cacaueira: Cacau informações de mercado. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Brasil Disponível em <http://www.ceplac.gov.br/>. 2003.
19. Melo GRP. Características qualitativas de importância na gordura da amêndoa em nove híbridos de cacaueiro (*Theobroma cacao* L.) [Dissertação de Mestrado]. Lavras, Minas Gerais: Universidade Federal de Lavras, 1996. 41pp.
20. Silva CRS. Filogenia do gênero *Theobroma* utilizando marcadores moleculares e bioquímicos [Dissertação de Mestrado]. Piracicaba, São Paulo: Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo 2000. 139 pp.
21. Barroso GM, Morim MP, Peixoto AL, Ichaso CLF. Frutos e Sementes: morfologia aplicada à sistemática de dicotiledôneas. Viçosa (MG): Ed.UFV; 1999.
22. Cavalcante PB. Frutas comestíveis da Amazônia. 5th ed. Belém (PA): Ed. CEJUP; 1991.
23. Vasconcelos MAM. Transformações físicas e químicas durante a fermentação de amêndoas do cupuaçu (*Theobroma grandiflorum* Schum) [Dissertação de Mestrado]. Campinas, São Paulo: Universidade Estadual de Campinas, 1999. 114 pp.
24. Venturieri GA. Base de dados do cupuaçu. Disponível na Internet: <http://www.ufpa.br/centros/ccb/citogenetica/cupu/>. 1999.
25. Sautier D, Silvestre A. Recherche-developpement-formation pour la valorisation économique et technologique des produits agricoles amazoniens dans l'état du Para (Bresil). Montpellier: CIRAD-SAR/ EMBRAPA-CPATU, Rapport d'activites 1995.
26. Müller CH. EMBRAPA, EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA- Centro de pesquisa agroflorestal da Amazônia oriental-CPATU. A cultura do cupuaçu, Coleção Plantar. Brasília, 1995.
27. Furlán AL, Bressani R. Recursos vegetales com potencial de explotación agrindustrial de Guatemala. Caracterización química de la pulpa y la semilla de *Theobroma bicolor*. *Arch Latin Nutr* 1999; 49: 373-8.
28. Torres DEG, Mancini DAP, Torres RP, Mancini-Filho J. Antioxidant activity of macambo (*Theobroma bicolor* L.) extracts. *Euro J Lip Sci Technol* 2002; 104: 278-81.
29. Müller S, Rohsius C, Reisdorff C, Gasparotto L, Lieberei R. Anatomical and physiological characteristics of *Theobroma spec.* seeds and their relevance to processing. Proceedings of the 13 th International cocoa research conference, Kota Kinabalu (Malasia), 2000.
30. Carpenter DR, Hammerstone JF, Romanczyk LJ, Aitken WM. Lipid composition of *Herrania* and *Theobroma* seeds. *J Am Oil Chem Soc* 1994; 71(8): 845-51.
31. Lenci CG. Caracterização estrutural e química do tecido de reserva das sementes de *Theobroma cacao*, *Theobroma obovatum* e *Theobroma microcarpum*. [Dissertação de Mestrado]. Campinas, São Paulo: Universidade Estadual de Campinas, 2002. 101 pp.

32. Bewley JD, Black M. Seeds: physiology of development and germination. 2nd ed. New York (NY): Plenum Press; 1994.
33. Chaiseri S., Arruda D.H., Dimick PS, Enriquez GA. Thermal characteristics and composition of fats from *Theobroma* Species. Turrialba 1989; 39(4): 468-72.
34. Sotelo A, Alvarez RG. Chemical composition of wild *Theobroma* species and their comparison to the cacao bean. J Agric Food Chem 1991; 39:1940-3.
35. Silva WG. Gordura de cupuaçu - sucedâneo de manteiga de cacau [Tese de Doutorado]. São Paulo, São Paulo: Universidade de São Paulo, 1988, 124pp.
36. Griffiths G, Harwood JL. The regulation of triacylglycerol biosynthesis in cocoa (*Theobroma cacao*)L. Planta 1991; 184: 279-84.
37. Huang AHC, Tzen JTC, Lee K, Bih FY, Ting JTL, Ratnayake C. Structure and ontogeny of seed oil bodies in maize and others species. In: Shewry, PR., Stobart K. (Ed). Seed storage compounds: biosynthesis, interactions, and manipulation. Oxford: Clarendon Press; 1993. p.115-27.
38. Murphy DJ, Vance J. Mechanisms of lipid-body formation. Trends Bioch Sci 1999; 24(3): 109-15.
39. Huang AHC. Oleosins and oil bodies in seeds and other organs. Plant Physiol 1996; 110: 1055-61.
40. Murphy DJ. The biogenesis and functions of lipid bodies in animals, plant and microorganisms. Progress Lip Res 2001; 40: 325-438.
41. Lea PJ, Leegood RC. Plant biochemistry and molecular biology. 2nd ed. Chichester (England): Wiley; 1999.
42. Guilloteau M, Laloi M, Blais D, Crouzillat D, Mc Carthy J. Oil bodies in *Theobroma cacao* seeds: cloning and characterization of cDNA encoding the 15,8 and 16,9 kDa oleosins. Plant Sci 2003; 164: 597-606.
43. Biehl B, Passern D. Proteolysis during fermentation-like incubation of cocoa seeds. J Sci Food Agric 1982 b; 33, 1280-90.
44. Marcone MF. Biochemical and biophysical properties of plant storage proteins: a current understanding with emphasis on 11S seed globulins. Food Res Inter 1999; 32: 79-92.
45. Werker E. Seed anatomy. Stuttgart: Bomtraeger; 1997.
46. Herman EM, Larkins BA. Protein storage bodies and vacuoles. Plant Cell 1999; 11: 601-13.
47. Biehl B, Wewetzer C, Passern D. Vacuolar (storage) proteins of cocoa seeds and their degradation during germination and fermentation. J Sci Food Agric 1982c; 33: 1291-304.
48. Voigt J, Biehl B, Kamaruddin S, WAZIR S. The major seed proteins of *Theobroma cacao* L. Food Chem. 1993; 47: 145-51.
49. Silva CRS, Figueira AVO, Souza ECAS. Diversidade no gênero *Theobroma*. In: Dias LAS. Melhoramento genético do cacau. Goiás: FUNAPE- UPG; 2001. p. 49-80.
50. Schmieder RL, Keeney PG. Characterization and quantification of starch in cocoa beans and chocolate products. J Food Sci 1980; 45: 555-63.
51. Redgwell RJ, Hansen CE. Isolation and characterization of cell wall polysaccharides from cocoa (*Theobroma cacao* L.) beans. Planta 2000; 210: 823-30.
52. Castro MM, Machado SR. Células e tecidos secretores. In: Appezzato-da-Goria B, Carmello-Guerreiro SM. Anatomia Vegetal. Viçosa (MG): Ed. UFV; 2003.
53. Hutzler P, Fischbach R, Heller W, Jungblut TP, Reuber S, Schmitz R, Veit M et al. Tissue localization of phenolic compounds in plants by confocal laser scanning microscopy. J Exp Bot 1998; 49: 953-65.
54. Zobel AM, Kuras M, Tykarska T. Cytoplasmic and apoplasmic location of phenolic compounds in the covering tissue of the *Brassica napus* radicle between embryogenesis and germination. Ann Bot 1989; 64: 149-7.
55. Bravo L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. Nutrition Reviews 1998; 56: 317-33.
56. Zaprometov MN. On the functional role of phenolic compounds in plants. Sov Plant Physiol 1992; 39:802-9.
57. Kim H, Keeney PG. Epicatechin content in fermented and unfermented cocoa beans. J Food Sci 1984; 49: 1090-2.
58. Medina-Torres L, Brito-De La Fuente E, Torrestiana-Sanchez B, Kattahain R. Rheological properties of the mucilage gum *Opuntia ficus indica*. Food Hydrocolloids 2000; 14: 417-24.
59. Distelbarth H, Kull U. Physiological investigations of leaf mucilages II. The mucilage of *Taxus baccata* L. and of *Thuja occidentalis* L. Israel J Bot 1985; 34: 113-28.
60. Western TL, Skinner DJ, Haughin GW. Plant Physiol 2000; 122: 345-55.
61. Baas P, Gregory M. A survey of oil cells in the dicotyledons with comments on their replacement by and joint occurrence with mucilage cells. Israel J Bot 1985; 34:167-86.
62. Martini MH, Lenci CG, Tavares DQ. Mucilage pockets in cotyledon tissue of *theobroma speciosum*. Acta Microscopica 2003; 1(1):65-9. Disponível em: < <http://www.sbm.org.br/actar/html/trabalhos/12.pdf> >.
63. Gregory M, Baas P. A survey of mucilage cells in vegetative organs of the dicotyledons. Israel J Bot 1989; 38: 125-74.
64. Metcalfe CR, Chalk L. Anatomy of the dycotyledons. Oxford, Clarendon Press; 1989. p.223-34 citado por Bakker ME., Gerritsen AF. The development of mucilage cells in *Hibiscus schizopetalus*. Acta Bot. Neerl 1992; 41: 31-42.
65. Brooks ER, Guard AT. Vegetative anatomy of *Theobroma cacao*. Bot Gaz 1952; 113: 444- 54.
66. Figueira A, Janick J, Bemiller JN. Partial characterization of cacao pod and stem gums. Carbohydrate Polymers 1994; 24: 133-8.
67. Ashihara H, Crozier A. Caffeine: a well known but little mentioned compound in plant science. Trends Plant Sci. 2001; 6(9): 407- 13, citado por LENCI CG. Caracterização estrutural e química do tecido de reserva das sementes de *Theobroma cacao*, *Theobroma obovatum* e *Theobroma microcarpum* [Dissertação de Mestrado]. Campinas, São Paulo: Universidade Estadual de Campinas, 2002. 101 pp.
68. Hammerstone JF Jr, Romanczyk LJ, Aitken WM. Purine alkaloid distribution within *Herrania* and *Theobroma*. Phytochemistry 1994; 35: 1237- 40.
69. Bucheli P, Rousseau G, Alvarez M, Laloi M, McCarthy J. Developmental variation of sugars, carboxylic acids, purine alkaloids, fatty acids, and endoproteinase activity during maturation of *Theobroma cacao* L. seeds. J Sci Food Agric 2001; 49 (10): 5046-51.