

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SECRETARIA DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE GOIÁS
CÂMPUS ANÁPOLIS

CURSO DE LICENCIATURA EM QUÍMICA

**Quantificação Espectrofotométrica de
Flavonoides em *nibs* de cacau (*Theobroma cacao*)**

Autor: Aquila de Souza Menezes

Orientadora: Prof.^a Dra. Rejane Dias Pereira Mota

Anápolis, 2026

AQUILA DE SOUZA MENEZES

Quantificação Espectrofotométrica de Flavonoides em *nibs* de cacau (*Theobroma cacao*)

Trabalho de conclusão do Curso de Licenciatura em Química, apresentado à Coordenação de Licenciatura em Química do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás, como requisito para obtenção do título de licenciado em Química.

Orientadora: Prof.^a Dra. Rejane Dias Pereira Mota.

Anápolis, 2026

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

M543q Menezes, Aquila de Souza.

Quantificação espectrofotométrica de flavonoides em Nibs de cacau (*Theobroma cacao*). / Aquila de Souza Menezes. – Anápolis: IFG, 2026.

41 f. il. color.

Orientadora: Prof.^a. Dra. Rejane Dias Pereira Mota.

Trabalho de Conclusão de Curso – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás: Campus Anápolis – Licenciatura em Química, 2026.

1. Cacau. 2. Nibs. 3. Flavonoides. 4. Quantificação espectrométrica.

I. Mota, Rejane Dias Pereira (orient.).

II. Título

CDD 547

TERMO DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAÇÃO NO REPOSITÓRIO DIGITAL DO IFG - ReDi IFG

Com base no disposto na Lei Federal nº 9.610/98, AUTORIZO o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás, a disponibilizar gratuitamente o documento no Repositório Digital (ReDi IFG), sem ressarcimento de direitos autorais, conforme permissão assinada abaixo, em formato digital para fins de leitura, download e impressão, a título de divulgação da produção técnico-científica no IFG.

Identificação da Produção Técnico-Científica

- | | |
|--|---|
| ☐ Tese | ☐ Artigo Científico |
| ☐ Dissertação | ☐ Capítulo de Livro |
| ☐ Monografia – Especialização | ☐ Livro |
| ☒ TCC – Graduação | ☐ Trabalho Apresentado em Evento |
| ☐ Produto Técnico e Educacional - Tipo: _____ | |

Nome Completo do Autor: Aquila de Souza Menezes

Matrícula: 20211060020196

Título do Trabalho: Quantificação Espectrofotométrica de Flavonoides em nibs de cacau (*Theobroma cacao*)

Autorização - Marque uma das opções

- ☒ (X) Autorizo disponibilizar meu trabalho no Repositório Digital do IFG (acesso aberto);
- ☐ () Autorizo disponibilizar meu trabalho no Repositório Digital do IFG somente após a data ____/____/____ (Embargo);
- ☐ () Não autorizo disponibilizar meu trabalho no Repositório Digital do IFG (acesso restrito).

Ao indicar a opção **2 ou 3**, marque a justificativa:

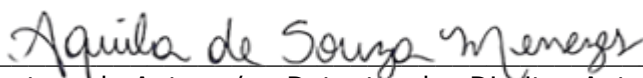
- ☐ () O documento está sujeito a registro de patente.
☐ () O documento pode vir a ser publicado como livro, capítulo de livro ou artigo.
☐ () Outra justificativa: _____

DECLARAÇÃO DE DISTRIBUIÇÃO NÃO-EXCLUSIVA

O/A referido/a autor/a declara que:

- o documento é seu trabalho original, detém os direitos autorais da produção técnico-científica e não infringe os direitos de qualquer outra pessoa ou entidade;
- obteve autorização de quaisquer materiais incluídos no documento do qual não detém os direitos de autor/a, para conceder ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás os direitos requeridos e que este material cujos direitos autorais são de terceiros, estão claramente identificados e reconhecidos no texto ou conteúdo do documento entregue;
- cumpriu quaisquer obrigações exigidas por contrato ou acordo, caso o documento entregue seja baseado em trabalho financiado ou apoiado por outra instituição que não o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás.

_____, Anápolis - GO, ____/____/____.
Local Data



Assinatura do Autor e/ou Detentor dos Direitos Autorais

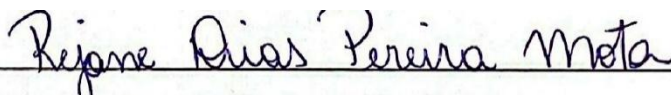
AQUILA DE SOUZA MENEZES

**Quantificação Espectrofotométrica de
Flavonoides em *nibs* de cacau (*Theobroma cacao*)**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
ao Departamento de Química do Instituto
Federal de Goiás — IFG — Câmpus
Anápolis, como parte das exigências do curso
de Licenciatura em Química para obtenção do
título de licenciado em Química.

Area de concentração: Analítica

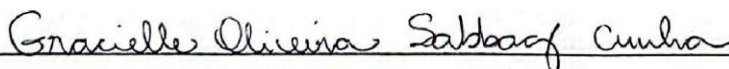
Aprovada em 19 de fevereiro de 2026



Prof(a). Orientador(a) Dra. Rejane Dias Pereira Mota
FG — Câmpus Anápolis



Prof(a). Dra. Luciane Dias Pereira
IFG — Câmpus Anápolis



Prof.(a). Dra. Gracielle Oliveira Sabbag Cunha
IFG — Câmpus Anápolis

Anápolis - Goiás - Brasil
Fevereiro — 2026

RESUMO

O cacau (*Theobroma cacao*) possui grande relevância econômica e social no Brasil, sétimo maior produtor mundial e segundo na América Latina, com cerca de 210 mil toneladas anuais. Seus *nibs* (fragmentos da semente) são ricos em flavonoides, compostos fenólicos antioxidantes que neutralizam radicais livres e previnem doenças. Este estudo objetivou quantificar, por espectrofotometria UV-Vis, os teores de flavonoides totais em *nibs* de cacau torrados e *in natura*, comparando a eficiência dos solventes etanol e metanol na extração. A análise baseou-se na formação do complexo flavonoide- AlCl_3 , utilizando rutina como padrão analítico. Os resultados demonstraram concentrações significativamente superiores nas amostras torradas em ambos os solventes. No extrato metanólico, os teores variaram de 15,1 e 28,8 mg RE/g (miligramas de Equivalentes de Rutina por grama de amostra) para os *nibs* torrados, enquanto as amostras *in natura* não apresentaram compostos detectáveis (0 mg RE/g). No extrato etanólico, os torrados exibiram teores entre 32,2 e 35,9 mg RE/g, e os *in natura* entre 9,7 e 16,8 mg RE/g. A torração favoreceu a extração de flavonoides, possivelmente por modificações estruturais na matriz vegetal, e o etanol demonstrou maior eficiência extrativa. Esses achados reforçam o potencial dos *nibs* de cacau torrados como fonte de antioxidantes naturais para suplementação alimentar funcional.

Palavras-chaves: Cacau; *Nibs*; Flavonoides; Quantificação Espectrométrica.

ABSTRACT

Cocoa (*Theobroma cacao*) has great economic and social importance in Brazil, the seventh largest producer in the world and second in Latin America, with approximately 210 million tons annually. Its nibs (seed fragments) are rich in flavonoids, antioxidant phenolic compounds that neutralize free radicals and prevent diseases. This study aimed to quantify, by UV-Vis spectrophotometry, the total flavonoid content in roasted and raw cocoa pieces, comparing the efficiency of ethanol and methanol solvents in the extraction. The analysis was based on the formation of the flavonoid- AlCl_3 complex, using rutin as a standard. The significant results are significantly higher in the roasted samples in both solvents. In the methanolic extract, the levels ranged from 15.1 to 28.8 mg RE/g (milligrams of Rutin Equivalents per gram of sample) for the roasted nibs, while the raw samples showed no detectable compounds (0 mg RE/g). In the ethanolic extract, the roasted samples exhibited levels between 32.2 and 35.9 mg RE/g, and the raw samples between 9.7 and 16.8 mg RE/g. It is concluded that roasting favors the degradation of flavonoids, possibly through structural modifications in the plant matrix, and that ethanol showed greater extraction efficiency. These findings reinforce the potential of roasted cocoa nibs as a source of natural antioxidants for functional food supplementation.

Keywords: Cocoa; Nibs; Flavonoids; Spectrometric Quantification.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Cacaueiro.....	16
Figura 2: Fruto cacau após quebra da casca	16
Figura 3: Sementes do fruto cacau partidas cruas, sem fermentação, abertas ao meio na fazenda do produtor João Tavares, no sul da Bahia	17
Figura 4: Estrutura em linha do fenol	18
Figura 5: Classificação dos compostos fenólicos e polifenólicos	21
Figura 6: Estrutura básica dos flavonoides	21
Figura 7: Estrutura básica em linha dos flavonoides e suas classes.....	22
Figura 8: Amostras: amêndoa de cacau crua 8.a e <i>nibs</i> comercial torrado 8.b.....	26
Figura 9: Erlenmeyer 9.a etanol em duplicata 9.b metanol em duplicata	27
Figura 10: Filtrados ao lado de béqueres: 10.a <i>nibs</i> in natura, 10.b <i>nibs</i> torrado.....	29
Figura 11: Extratos obtidos: 11.a <i>nibs</i> in natura e 11.b <i>nibs</i> torrado	29

LISTA DE TABELAS E GRÁFICOS

Tabela 1: Valores de absorvência por padrão	27
Tabela 2: Concentração, absorvência e teor de flavonoides das amostras	30
Tabela 3: Teor médio de flavonoides em <i>nibs</i> de cacau e em outras matrizes frutais obtidos com diferentes solventes e condições de extração	33
Gráfico 1: Curva de calibração da rutina	28

Sumário

1. INTRODUÇÃO	11
2. OBJETIVOS	13
2.1 Objetivo geral	13
2.2 Objetivos específicos.....	13
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	14
3.1 Fruto do cacau no Brasil.....	14
3.1.1 Cacaueiro (<i>Theobroma cacao</i>).....	15
3.1.2 Nibs de cacau	17
3.2 Compostos fenólicos	18
3.2.1 Estrutura e classificação.....	20
3.2.2 Flavonoides	21
3.2.3 Radicais livres e atividade antioxidante	22
4. METODOLOGIA	24
4.1 Obtenção das amostras	25
4.2 Preparo da solução padrão de rutina	25
4.3 Preparo da curva de calibração	25
4.4 Preparo das amostras e quantificação espectrofotométrica na região do UV/visível de flavonoides.....	26
5. RESULTADOS.....	27
5.1 Calibração do espectrofotômetro	27
5.2 Extração e quantificação de flavonoides.....	28
6. CONCLUSÃO	34
REFERÊNCIAS.....	37
APÊNDICE A – Cálculos padrão da rutina	42
APÊNDICE B – Conversão de porcentagem (%) para mg/g de amostra.....	43
Exemplo de conversão aplicada:	43

1. INTRODUÇÃO

O cacauieiro (*Theobroma cacao*), introduzido no Brasil em 1677, é uma planta perene típica de climas tropicais, cultivada principalmente nos biomas Amazônico e Atlântico. Suas sementes são a matéria-prima para o chocolate e derivados. O Brasil é o sétimo maior produtor mundial e o segundo da América Latina, com produção anual em torno de 210 mil toneladas, concentrada em 96% nos estados da Bahia e Pará. As principais variedades cultivadas são Criollo, Forasteiro e Trinitário, monitoradas pela CEPLAC, órgão que fomenta o melhoramento genético e as técnicas de manejo.

Paralelamente à produção de chocolate, cresce o interesse científico pelos compostos fenólicos presentes no cacau e seus subprodutos, como a casca e os *nibs* (fragmentos da semente). Estes são ricos em flavonoides, especialmente procianidinas (catequina e epicatequina), que apresentam reconhecida atividade antioxidante, neutralizando radicais livres e prevenindo doenças. Diversos estudos (Azizah *et al.*, 1999; Ortega *et al.*, 2008; Andújar *et al.*, 2012; Awarikabey *et al.*, 2014; Patras *et al.*, 2014; Gu *et al.*, 2019; Mudenuti *et al.*, 2021; Galvão *et al.*, 2024) confirmam o elevado teor fenólico do cacau e seu potencial funcional.

Os flavonoides são compostos fenólicos caracterizados por anéis aromáticos com grupos hidroxila, responsáveis pela coloração púrpura das sementes e pela capacidade antioxidante. Sua quantificação é essencial para avaliar o potencial do cacau como alimento funcional. Os *nibs*, por serem obtidos após fermentação, secagem, torra e trituração – sem passar por processos industriais que degradam compostos bioativos – preservam essas características e são facilmente encontrados no mercado.

O processamento controlado pode potencializar a atividade antioxidante, atribuída principalmente à interrupção da autooxidação lipídica. O consumo regular desses compostos está associado à redução do risco de doenças crônicas e à promoção da saúde, atendendo à crescente demanda global por alimentos saudáveis.

Diante desse contexto, este trabalho teve como objetivo quantificar, por espectrofotometria UV-Vis, os teores de flavonoides totais em amostras de *nibs* de cacau torrados e *in natura*, bem como avaliar a eficiência dos solventes etanol P.A. e metanol P. A. na extração desses compostos. Estudos que comparam os dois solventes demonstram que a eficiência varia conforme a matriz vegetal analisada e que aumenta com solventes hidroalcoólicos, embora neste estudo experimental o etanol

apresente vantagens consistentes nos parâmetros de solventes de grau puro e matriz vegetal analisada com e sem torração. A formação do complexo flavonoide- AlCl_3 constituiu a base analítica do presente estudo, empregando-se a rutina como padrão de referência. Essa abordagem permitiu a quantificação dos flavonoides totais nas amostras analisadas, visando evidenciar os potenciais benefícios associados ao consumo regular de nibs de cacau e contribuir para a valorização desse subproduto como suplemento alimentar de caráter funcional.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Quantificar os flavonoides presentes em *nibs* de cacau, através da técnica de espectrofotometria UV-Vis, utilizando a rutina como padrão.

2.2 Objetivos específicos

- Testar a eficiência dos solventes extratores metanol PA e etanol PA no teor de flavonoides em amostras de *nibs* de cacau torrado e *in natura*.
- Comparar resultados da quantificação com valores de referência da literatura.
- Comparar a concentração de flavonoides nos extratos de *nibs* de cacau torrado e *in natura*.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Fruto do cacau no Brasil

A França introduziu o cacau no Brasil em 1677, conforme registros históricos que destacam a expansão do cultivo a partir da Amazônia (INTERNATIONAL COCOA ORGANIZATION, 2024). Por isso é mais comum nas regiões a norte e nordeste do país, que é por onde ao longo de décadas houve a continuação dessa expansão do cultivo através da colonização, se mantendo até os dias atuais essa configuração de predominância da cultura com área delimitada.

O cacau (*Theobroma cacao*) é uma cultura agrícola de grande importância econômica e social no Brasil, sendo cultivado principalmente nos estados da Bahia e do Pará. A produção de cacau no Brasil tem se destacado pela qualidade das amêndoas, que são utilizadas tanto para o mercado interno quanto para exportação.

A Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira (CEPLAC) tem desempenhado um papel essencial no desenvolvimento de técnicas de cultivo e na melhoria da produtividade e qualidade do cacau brasileiro (BRASIL, 2023). O banco de germoplasma da CEPLAC, reconhecido internacionalmente, abriga mais de 1.300 acessos de cacau, sendo fundamental para programas melhoramento genético (CACAONET, s.d.).

A CEPLAC desempenhou papel fundamental no incentivo desde aplicações de cursos sobre cultivo e manejo da planta a técnicas que envolvem a melhoria da semente para a exportação. Segundo os dados do governo, desde sua criação em 1957, a instituição acumulou vasto conhecimento nos Biomas Mata Atlântica e Floresta Amazônica, alcançando modelo de atuação e de referência, inclusive de cunho internacional, em face a sua expertise em sistemas agroflorestais com cacaueiros e em cultivos tropicais perenes (BRASIL, 2023).

O consumo de cacau e seus derivados, como o chocolate, tem crescido significativamente no Brasil, a ABICAB (2023) destaca o aumento do consumo per capita de chocolates no Brasil ser impulsionado por inovações de produto (como chocolates premium e funcionais) e expansão do mercado interno.

Apesar de não estar colocado entre os maiores consumidores globais de produtos de cacau em termos absolutos é evidente uma posição intermediária com um mercado interno em crescimento que incentiva a produção local. Esse aumento no consumo tem impulsionado investimentos em tecnologias de produção e na sustentabilidade da cadeia produtiva.

O Brasil ocupa atualmente a sétima posição no ranking mundial de produção de cacau, com planos estratégicos para retomar seu protagonismo no cenário global (BRASIL, 2023). Pois em uma escala global de produção de cacau, o Brasil ainda está representando uma pequena fatia em meio ao bloco sul americano (que reúne somente países produtores de cacau).

Em uma rápida análise através dos boletins quaternários dos principais exportadores de cacau o Brasil é responsável por 17,5% da produção do continente americano e posiciona-se como o segundo maior produtor do bloco com 210 mil toneladas na safra 2023/24. (INTERNATIONAL COCOA ORGANIZATION, 2024).

A produção de cacau no Brasil não só atende à demanda interna, mas também contribui para a geração de empregos e renda, especialmente nas regiões produtoras. Estima-se que a cadeia produtiva do cacau gere mais de 220 mil empregos diretos e indiretos no país (AGRIBRASILIS, 2022). Dessa forma, a produção de cacau no Brasil não só atende às demandas do mercado, mas também promove a conservação ambiental e o desenvolvimento socioeconômico das regiões produtoras.

A sustentabilidade é um aspecto fundamental na produção de cacau no Brasil. Práticas como o sistema cabruca, que integra o cultivo de cacau com a preservação da Mata Atlântica, são exemplos de como a produção pode ser ambientalmente responsável (MAPA, 2022).

Além disso, a pesquisa científica tem sido essencial para o desenvolvimento de variedades mais resistentes e produtivas, contribuindo para a sustentabilidade econômica e ambiental da cultura do cacau.

No Brasil esse avanço é ilustrado por iniciativas como a do Mars Centro de Ciência do Cacau, que, em parceria com a Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC), desenvolveu clones mais produtivos e resistentes a pragas, com potencial de aumentar a produtividade cacauzeira em até 200% (GLOBO RURAL, 2025).

3.1.1 Cacaueiro (*Theobroma cacao*)

O fruto cacau vem do cacaueiro (*Theobroma cacao*) (Melo, 2017). O cacaueiro é uma árvore tropical de médio porte, que pode atingir de 4 a 8 metros de altura em cultivo e até 20 metros na natureza. Apresenta folhas grandes, brilhantes e perenes, e suas flores pequenas, de coloração rosa a branca-amarelada, nascem diretamente no tronco e nos galhos mais antigos, fenômeno conhecido como

cauliflora (REBROTAR PLANTAS, 2025). Anualmente, um cacaueteiro adulto pode produzir até mais de 100.000 flores, das quais menos de 5% são fertilizadas e apenas 0,1% se transformam em frutos e como apresenta características de perenidade, pode ultrapassar os cem anos de vida (SENAR, 2018).

Figura 1. Cacaueiro.



Fonte: Nunes (2021)

Os tipos de cacaueiros mais comuns são três: o Criollo, o Forasteiro (representa 80% da produção mundial) e o Trinitário (AGRISHOW, 2024). Morfologicamente os frutos são bagas geralmente angulosas, medindo até 25cm de comprimento e até 300g (MUSEU NACIONAL, s.d.).

Para obter a amêndoa é necessário fazer a quebra da casca lenhosa como na Figura 2. A amêndoa de cacau é ovoide e achatada, com 2 a 3 cm de comprimento sendo recoberta por uma polpa mucilaginosa (gelatinosa) de coloração branca, de sabor adocicado e ácido (SENAR, 2018). Também pode ser observado na Figura 2.

Figura 2. Fruto cacau após a quebra da casca.



Fonte: adaptado de Canva/ Creative Commons por Walzburiech (2024)

A semente aberta apresenta aspecto arroxeado e tons amarelados conforme Figura 3, demonstrando grande quantidade de pigmentos que indicam a presença de flavonoides.

Figura 3. Sementes do fruto cacau partidas cruas, sem fermentação, abertas ao meio na fazenda do produtor João Tavares, no sul da Bahia.



Fonte: adaptado de Boni e Carradore (2019)

Conforme a cartilha do BRASIL (2020), a produção do cacau comercial requer em média 15 a 20 cabaças (frutos) para se obter 1 Kg de amêndoas secas de cacau. E por esse motivo entre outros é muito valorizado, tendo em vista que sua colheita é feita por safra e não o ano inteiro. A sazonalidade da produção é um fator intrínseco ao mercado cacauero, que condiciona sua oferta e valorização conforme destaca a Farmforce (2025), colheitas abaixo da média no principal cinturão de cacau do mundo contribuiu para preços recordes no final de 2024 e início de 2025.

Para a comercialização, a semente seca na forma de amêndoa é comumente encontrada nos supermercados e lojas de departamentos naturais na forma de subprodutos como *nibs*, cacau em pó, ou industrializados como achocolatados, licor, chocolates e devido seu sabor marcante pode ser acrescido em uma variedade de receitas como confeito granulado, brigadeiro, sorvetes, biscoitos e bolos.

3.1.2 *Nibs* de cacau

O cacau em flocos é conhecido e envasado em muitas embalagens como *nibs*. *Nib* é um termo em inglês, sua tradução é ponta conforme o dicionário Cambridge Dictionary (Colin McIntosh, 2024). Então, no plural, *nibs* está para o português como pequenas pontas ou lascas. Além de serem vendidas a granel e, portanto, de fácil acesso à população, não passam por nenhum processo industrial. Essa característica é de bom uso investigativo, uma vez que permite analisar o teor de flavonoides disponível no produto em seu estado natural. Subproduto do cacau cru ou torrado,

ganhou notoriedade por permitir ser o elo entre fazer chocolate caseiro e alimento livre de processamento industrial. (HOJE TEM CHOCOLATE, 2018).

Nibs é um subproduto de cor marrom escuro comestível em pequenas quantidades por seu sabor acentuado e exótico. E que pode fazer parte de uma alimentação saudável ao ser incluído em mix de cereais, em iogurte, barra de cereais, granola, misturado em frutas, doces entre outros (Ribeiro, 2025). Durante uma degustação, a depender da torra, possui sabor meio amargo e adstringente com experiência olfativa de um chocolate em barra (JAVA CHOCOLATES, 2020).

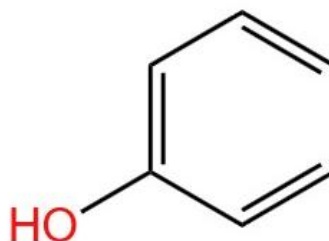
Segundo Stark; Bareuther; Hofmann (2006) a decomposição guiada sensorialmente dos *nibs* de cacau torrados revelou que, além da teobromina e da cafeína, uma série de 2,5-dicetopiperazinas de sabor amargo e flavan-3-óis foram os principais indutores do sabor amargo, assim como da sensação adstringente na boca proporcionada pelo consumo do cacau torrado.

3.2 Compostos fenólicos

Segundo Ma *et al.* (2025) compostos fenólicos são caracterizados por pelo menos um anel aromático com um ou mais grupos hidroxila anexados, e são os metabólitos secundários mais amplamente distribuídos. Esses compostos são amplamente distribuídos no reino vegetal e desempenham um papel crucial na defesa contra patógenos e na proteção contra a radiação ultravioleta (Shahidi; Yeo, 2016).

A unidade básica de partida dos compostos fenólicos é o fenol, assim de acordo com a Figura 4, um anel aromático formado por 6 carbonos e 3 três ligações duplas, ligado a uma hidroxila ou mais.

Figura 4. Estrutura em linha do fenol.



Fonte: autoria própria.

Muitos estudos mostram que o cacau e derivados possuem compostos fenólicos, permitindo não só a identificação como também a quantificação através de equipamentos modernos. Conforme Tsao (2010) métodos espectrofotométricos foram

desenvolvidos e ainda são usados para a estimativa dos teores totais de fenólicos, flavonoides e antocianinas. Assim, segundo conclusão de Mudenuti *et al.* (2021) os *nibs* e cascas de cacau cru contêm um nível significativo de compostos fenólicos e alcaloides.

Para Ortega *et al.* (2008) o grupo polifenóis mais abundante no cacau são as procianidinas (flavan-3-ol), que podem variar em peso molecular de monômeros (catequina e epicatequina) a polímeros de cadeia longa (com grau de polimerização maior que os decâmeros). Como complementam Stark; Bareuther; Hofmann (2006) os flavan-3-óis são os principais responsáveis pelo amargor e adstringência dos *nibs*. Além disso, um número de glicopiranosídeos de polifenóis, bem como uma série de N-fenilpropenoil-l-aminoácidos, foram identificados como os principais compostos adstringentes do cacau torrado.

Em outro relato, Patras *et al.*, (2014) evidencia classes de compostos presentes no cacau onde uma série de novos compostos incluindo flavonoides sulfatados, proantocianidinas diméricas e triméricas do tipo A e adutos flavanol-flavanona puderam ser identificados utilizando HPLC–MSn (cromatógrafo líquido de alta eficiência com espectrometria de massas). Isso significa que, juntas elas são mais relevantes do que seria esperado pelas suas existências isoladas, a julgar pela bioatividade fenólica.

Conforme Berenbaum (1989) sinergia ocorre quando o efeito combinado de duas ou mais substâncias é maior do que a soma de seus efeitos individuais. Deste modo sinergia é a cooperação entre compostos que resulta em um efeito exponencial ou qualitativamente superior, sendo crucial para avanços em medicamentos, nutrição e biotecnologia.

Compostos presentes no cacau como polifenóis e teobromina podem atuar sinergicamente para ampliar seus efeitos. Segundo Andújar *et al.* (2012) a combinação de polifenóis e metilxantinas (como a teobromina) no cacau demonstra efeitos sinérgicos potencializando a atividade antioxidante e anti-inflamatória em comparação com compostos isolados.

Essas evidências apontam que os benefícios associados ao consumo de *nibs* de cacau e seus derivados são provenientes da ação conjunta de suas moléculas complexas, que atuam de forma sinérgica no organismo.

Compreender a proporção, em termos de teor quantitativo de fenóis, e a relação entre sinergia e as funcionalidades bioativas presentes no cacau é

fundamental para aprofundar o conhecimento acerca da matriz vegetal do *nibs* de cacau. Neste contexto justifica-se o interesse em caracterizar a composição fenólica da amêndoa do cacau, com vistas a maximizar o aproveitamento de suas atividades bioquímicas e a validar a ação antioxidante decorrente de seu consumo regular em nível molecular.

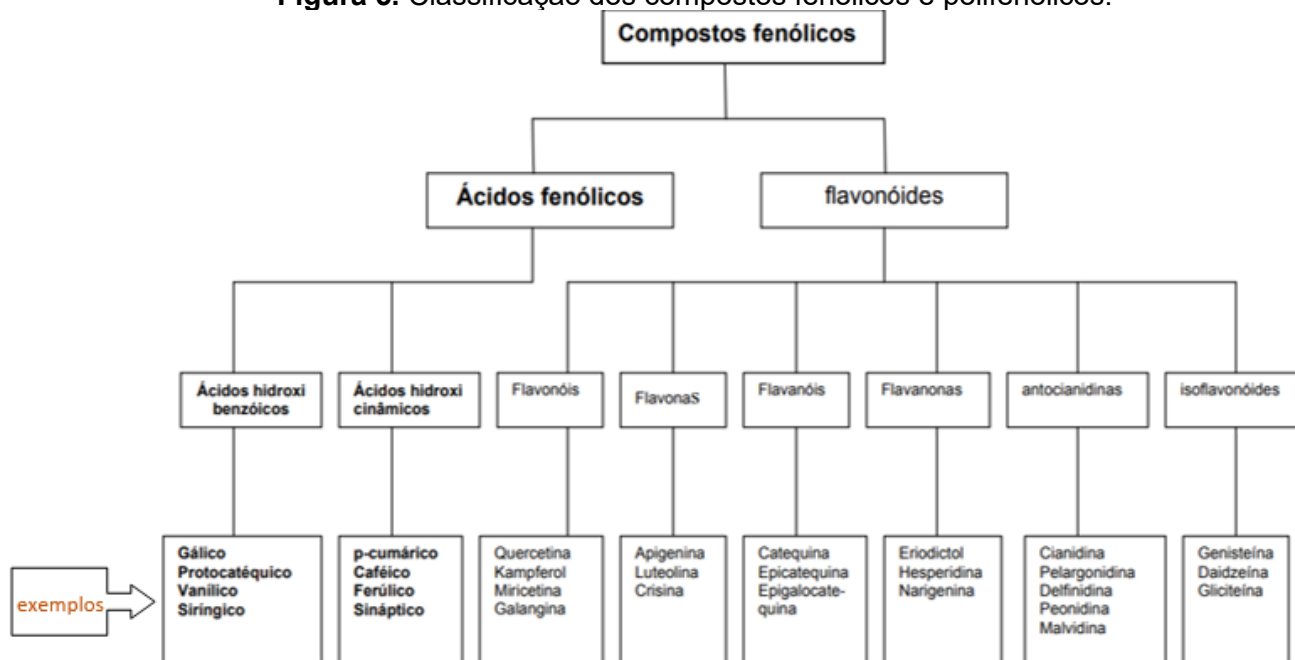
Segundo Ortega *et al.* (2008) a partir dos resultados obtidos, o *nib* pode ser considerado a fonte mais interessante para a obtenção de um extrato de cacau fenólico rico devido ao seu rico teor de perfil fenólico e alta atividade antioxidante em comparação com as demais fontes de cacau.

3.2.1. Estrutura e classificação

Do ponto de vista estrutural, compostos fenólicos caracterizam-se pela presença de um ou mais grupos hidroxila ligados diretamente a um anel aromático. Já os polifenóis distinguem-se por apresentarem múltiplas unidades estruturais desse tipo, ou seja, diversos anéis aromáticos com hidroxilas associadas. A partir dessas estruturas ocorrem as classificações, podendo ser por unidades de fenol identificadas na molécula ou pelos diferentes substituintes. Sendo classificado como fenol, quando há um substituinte, ou mais substituintes como polifenol (Barberán; Sarrías; Villalba, 2021).

As principais classes dos polifenóis incluem antocianinas (presentes em alimentos vermelhos, roxos ou azuis), ácidos cinâmicos (encontrados em frutas, café, aveia e arroz), flavanóis e flavonoides (presentes em chás, cacau, frutas, vegetais e vinho) e estilbenoides como o resveratrol (encontrado em uvas, nozes e frutas vermelhas) (Speer *et al.*, 2019). Pois eles transitam entre ácidos fenólicos e flavonoides na classificação geral dos compostos.

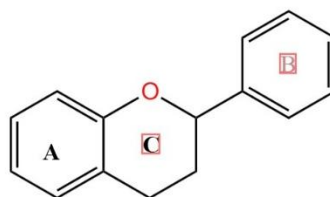
Ainda sobre a classificação dos compostos fenólicos quanto aos diferentes substituintes há os ácidos fenólicos, assim como na Figura 5 à esquerda onde são subclassificados em hidroxibenzoicos e hidroxicinâmicos, e os flavonoides à direita com maior diversidade classificada na literatura. Assim os mais comuns identificados em vegetais são flavonóis, flavonas, flavanonas, antocianinas e isoflavonoides como na Figura 5.

Figura 5. Classificação dos compostos fenólicos e polifenólicos.

Fonte: adaptado de Karakaya (2004).

3.2.2. Flavonoides

Segundo Barberán, Sarrías e Villalba (2021) os flavonoides são formados por dois anéis aromáticos, fenóis em “A” e “B” (Figura 6) ligados através de uma cadeia linear de três carbonos que forma um anel pirano heterocíclico em “C” contendo um átomo de oxigênio.

Figura 6. Estrutura básica dos flavonoides.

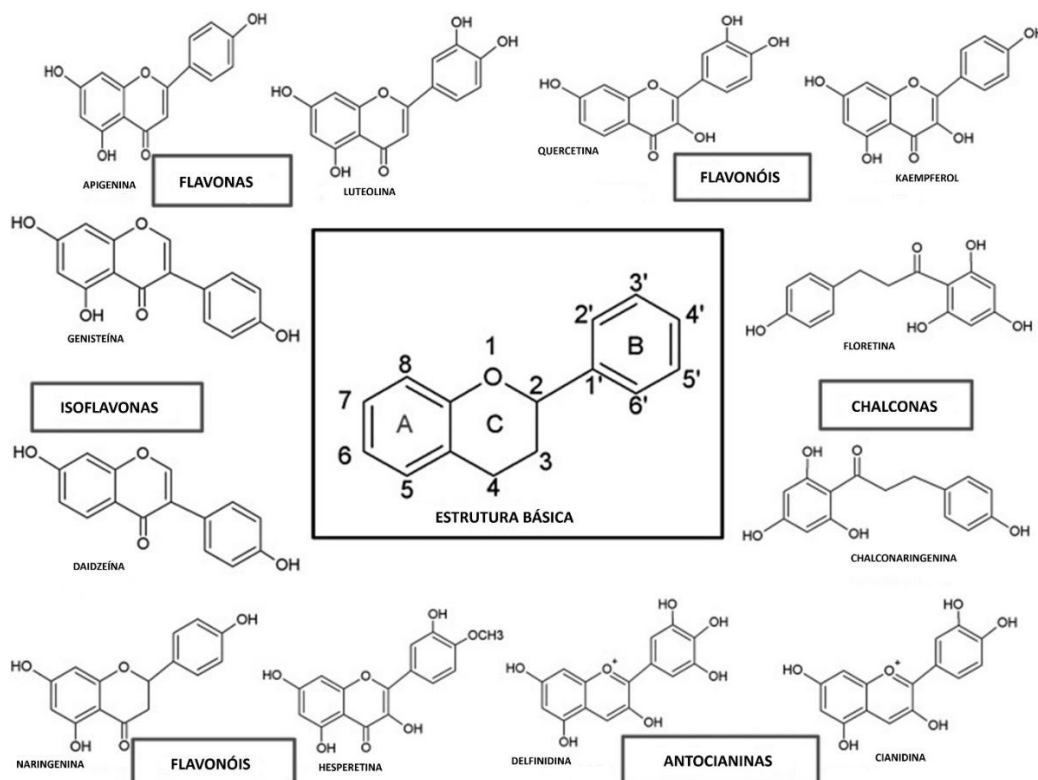
Fonte: autoria própria

Uma maneira fácil de se encontrar alimentos que possuem flavonoides é observar as cores vivas predominantes.

Em vegetais que apresentam a cor violeta, por predeterminação, se identifica a antocianina, pois este é um tipo de flavonoide comum que permite que seja reconhecido mediante cor apresentada seja em folhas, caules, frutos ou sementes assim como na amêndoa do cacau. E não só através da cor violeta. Isto porque, conforme Tsao (2010) a antocianina é um pigmento variável em relação ao pH, desde

amarelo, quando a planta vive em condições de alcalinidade, azul mantendo essas condições, até o vermelho quando a planta já se encontra em condições ácidas. Considerando-se que, na escala colorimétrica, as tonalidades compreendidas entre o azul e o vermelho (como a púrpura e violeta) indicam a presença do pigmento antocianina, é possível reafirmar a associação entre essas colorações e a ocorrência desse composto nas amostras analisadas. Segundo Shahidi e Yeo (2016) as principais subclasses dos flavonoides incluem flavonas, flavonóis, flavanonas, isoflavonas, antocianinas e antocianidinas. Devido a variedade suas estruturas diferem conforme suas classificações Cada uma dessas subclasses possui propriedades biológicas distintas e pode ser encontrada em diferentes fontes alimentares, como frutas, vegetais, chás e vinhos (Shahidi; Yeo, 2016). A Figura 7 mostra a estrutura da flavona, flavonol, flavanona, isoflavona, antocianina e chalconas comparando ao centro a estrutura básica dos flavonoides.

Figura 7. Estrutura básica em linha dos flavonoides e suas classes.



Fonte: Adaptado de Panche, Diwan e Chandra (2016)

3.2.3. Radicais livres e atividade antioxidante

Diversos estudos têm demonstrado que o consumo de substâncias antioxidantes na dieta diária, pode produzir uma ação protetora efetiva contra os

processos oxidativos que naturalmente ocorrem no organismo (Degáspari; Waszczyński, 2004).

Ao que se relata essas substâncias naturais são encontradas no cacau em diferentes tipos. Suas propriedades antioxidantes podem ser responsáveis por muitos de seus efeitos farmacológicos, incluindo a inibição da peroxidação lipídica e a proteção do LDL-colesterol contra a oxidação, além de aumentar a resistência ao estresse oxidativo. Os fenólicos do cacau também modificam a resposta glicêmica e o perfil lipídico, diminuindo a função plaquetária e a inflamação, juntamente com as pressões arteriais diastólica e sistólica, que, juntas, podem reduzir o risco de mortalidade cardiovascular segundo Andújar *et al.* (2012).

Em uma revisão integrativa da literatura Galvão *et al.* (2024) destacam que os artigos evidenciaram que a espécie *T. cacao* é rica em polifenóis e metilxantinas que possuem capacidade antimicrobiana, antioxidante e cognitiva. Assim, o entendimento desses aspectos pode abrir novas perspectivas para o desenvolvimento de intervenções dietéticas e farmacológicas destinadas a prevenir ou tratar distúrbios neurodegenerativos e melhorar a qualidade de vida em geral.

Dado esse contexto, torna-se fundamental definir o que são antioxidantes. Antioxidantes são substâncias que, em baixas concentrações previnem ou retardam a oxidação de substratos oxidáveis, neutralizando radicais livres ou quelando metais pró-oxidantes (Halliwell; Gutteridge, 2015).

Já a atividade antioxidante refere-se à capacidade de um composto ou sistema de doar elétrons ou hidrogênio para neutralizar radicais livres, interrompendo cadeias oxidativas e protegendo biomoléculas contra danos (Prior *et al.* 2005).

Os compostos fenólicos são incluídos na categoria de interruptores de radicais livres (Angelo; Jorge, 2007). Esta característica ímpar dos compostos fenólicos, distribuída entre diversos vegetais, sustenta a intensa pesquisa em torno de seus benefícios. Esses radicais livres são espécies químicas altamente reativas, dotadas de elétrons desemparelhados em sua órbita externa, que as tornam instáveis e propensas a danificar moléculas biológicas como lipídios, proteínas e DNA (Halliwell; Gutteridge, 2015).

Radicais livres como o radical hidroxila $\cdot\text{OH}$, podem abstrair átomo de hidrogênio de carbonos insaturados em cadeias lipídicas, substituindo-os e iniciando a peroxidação lipídica, o que leva à quebra da integridade estrutural de membranas celulares (Niki, 2009). Neste processo é descrito a típica peroxidação lipídica, onde

radicais livres como por exemplo -OH atacam ácidos graxos insaturados em membranas celulares, onde pode-se afirmar que é como atuam os compostos fenólicos em nossos organismos prevenindo contra doenças como câncer, inflamações e colesterol alto (Andújar *et al.*, 2012).

Reitera-se quanto aos flavonoides, que suas funcionalidades no geral são de ação antioxidante a partir do uso frequente em preparações de alimentos ricos nessas substâncias podendo, portanto, ser benéfico à saúde uma vez que elas são capazes de neutralizar os radicais livres e prevenir várias doenças (CEPLAMT, 2016).

Diversos estudos como atestam os seguintes autores abaixo, se dedicam a identificar esses benefícios. Entre eles, Mudenuti *et al.* (2021) que identificou e quantificou compostos bioativos em seus estudos e apoia o uso de *nibs* de cacau cru e casca de cacau como fontes naturais de antioxidantes solúveis e insolúveis na indústria alimentícia e/ou para fins culinários.

Foi avaliado que as atividades antioxidantes do *nib* não torrado e *in natura* e da casca do *nib* não torrado foram maiores do que aquelas torradas (Awarikabey *et al.*, 2014). Em outra perspectiva, segundo Azizah *et al.*, (1999) estudos realizados de caracterização de subprodutos de cacau indicaram que o aumento da concentração do extrato resultou em aumento das atividades antioxidantes em todos os níveis estudados, nomeadamente 1000, 2000 e 3000 ppm. O que quer dizer que a concentração também interfere em suas propriedades.

4. METODOLOGIA

Procedeu-se à quantificação de flavonoides presentes em amêndoas de cacau processadas na forma de *nibs* com base na formação do complexo flavonoide- AlCl_3 , cuja absorbância foi medida a 420 nm, utilizando-se o método de Sobrinho *et al.* (2008) devidamente adaptado, por ser amplamente utilizado na determinação espectrofotométrica de flavonoides totais.

Em relação ao procedimento adotado, a pesquisa foi experimental seguindo um planejamento, sendo desenvolvida no Laboratório de Química Analítica do IFG-Campus Anápolis-GO, e nos laboratórios de Pesquisa Química I e no Centro de Análises, Inovação e Tecnologia em Ciências Naturais e Aplicadas da UEG (Caitec) da Universidade Estadual de Goiás. Neste sentido, o método adotado apresenta algumas etapas a conhecer:

4.1 Obtenção das amostras

As amostras de *nibs* de cacau utilizadas neste estudo tiveram procedências distintas. A Amostra 1 (*nibs* torrados) consistiu em 1Kg de produto acabado adquirido na loja TerraVitta¹. A Amostra 2 (*nibs* in natura) foi obtida a partir de 1 kg de amêndoas cultivadas em plantação doméstica no estado do Pará (3°43'32.0" S; 53°48'13.0" W), processadas até a forma de *nibs* no laboratório.

Ambas as amostras foram adquiridas por meio de compra *online* enviadas pelo Correios. Após a chegada foram acondicionadas em recipientes herméticos e mantidas em local seco até o momento das análises.

A Amostra 1 foi obtida a partir de amêndoas de cacau submetidas às etapas de colheita, fermentação, secagem ao sol, sendo a remoção da casca realizada apenas no dia da coleta para análise. Já a Amostra 2 além desses processos, passou também por torra, descascamento e trituração antes da coleta para análise.

4.2. Preparo da solução padrão de rotina

Pesou-se 250 mg do padrão de rotina. Transferiu-se para um balão volumétrico de 100 mL. Adicionou-se 30 mL de metanol, agitou-se manualmente até a solubilização completa. Completou-se o volume com metanol e homogeneizou-se a solução. A concentração final da solução foi 2,5 mg/mL.

4.3. Preparo da curva de calibração

Para a construção da curva de calibração transferiu-se volumetricamente 6,0 mL, 5,5 mL, 5,0 mL, 4,5 mL e 4,0 mL da solução padrão de rotina, para balões volumétricos de 25 mL. Acrescentou-se a cada balão 0,6 mL de ácido acético glacial, 10,0 mL de solução metanólica de piridina 20% e 2,5 mL de cloreto de alumínio em metanol 50 mg/mL, completando o volume com água destilada. A concentração final das soluções foi de 0,60 (120%); 0,55 (110%); 0,50 (100%); 0,45 (90%); e 0,40 (80%), ambos em mg/mL respectivamente. As soluções permaneceram em repouso por aproximadamente 12 horas. Posteriormente realizaram-se as leituras em triplicata no espectrofotômetro UV – Vis a 420 nm utilizando cubeta de quartzo de 10 mm. O branco utilizado foi composto pelos mesmos reagentes, exceto a rotina.

4.4 Preparo das amostras e quantificação espectrofotométrica na região do UV/visível de flavonoides

A Figura 8 mostra a diferença entre Amostra 1 (*nibs* de cacau torrado) e Amostra 2, amêndoas de cacau cruas (antes de tornar-se *nibs in natura*) durante o preparo das amostras.

Figura 8. Amostras: amêndoa de cacau crua 8.a e *nibs* comercial torrado 8.b.



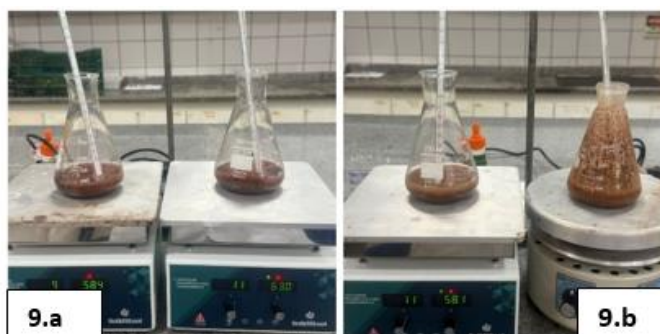
Fonte: autoria própria

A Amostra 1 (*nibs* submetidos às etapas de colheita, fermentação, secagem ao sol, torração, trituração) foi disposta numa bandeja por 20 min na estufa SolidSteel modelo SSDcr – 64L potência 1100 watts/ tensão 220 V para secar a 49,8 °C e eliminar qualquer alteração por umidade relativa. Depois foi pulverizada no grau de porcelana com pistilo.

A Amostra 2 (amêndoas submetidas apenas às etapas de colheita, fermentação, secagem ao sol) foram descascadas, e pulverizadas no grau de porcelana com pistilo.

Para a obtenção dos extratos ricos em flavonóides seguiu-se metodologia conforme descrita por Sobrinho *et al.* (2008) com adaptações: pesou-se 25 g de cada amostra, separadamente, as quais foram adicionadas à dois erlenmeyers contendo 65 mL de metanol P. A. As soluções foram aquecidas à temperatura entre 40 - 50 °C com agitação magnética por 30 min e, após o resfriamento, filtradas com papel de filtro de celulose (Figura 9). O processo foi repetido utilizando-se etanol P. A. (99,8%) como solvente extrator. Os filtrados (extratos) foram acondicionados em geladeira para análises posteriores em duplicata.

Figura 9. Erlenmeyer 9.a etanol em duplicata 9.b metanol em duplicata.



Fonte: autoria própria

Dos extratos diluídos 1,0 mL de cada amostra foi transferido para um balão volumétrico de 25 mL e, foram acrescentados os mesmos reagentes do preparo da curva de calibração, porém em duplicata, totalizando oito balões volumétricos. Após o preparo, foram realizadas as leituras, à temperatura ambiente, em espectrofotômetro UV-Vis (marca: Metash/ Modelo: ESPEC-UV-5100, UV-Vis, faixa de 190-1000 nm), com cubeta de quartzo de 10 mm, na faixa de 420 nm. As amostras foram lidas tendo como referência o padrão 100%, ou seja, padrão que corresponde a concentração de 0,5 mg/mL. Todas as análises foram realizadas em duplicata sob as mesmas condições de temperatura, tempo e proporção solvente/amostra, assegurando a reprodutibilidade do método.

5. RESULTADOS

5.1 Calibração do espectrofotômetro

A curva de calibração foi construída mediante ajuste por regressão linear a partir das leituras obtidas no espectrofotômetro UV – Vis a 420 nm das soluções de concentrações crescentes obtidas no item 4.3. Os cálculos do padrão da rotina estão em Apêndice A e os valores obtidos estão abaixo na Tabela 1.

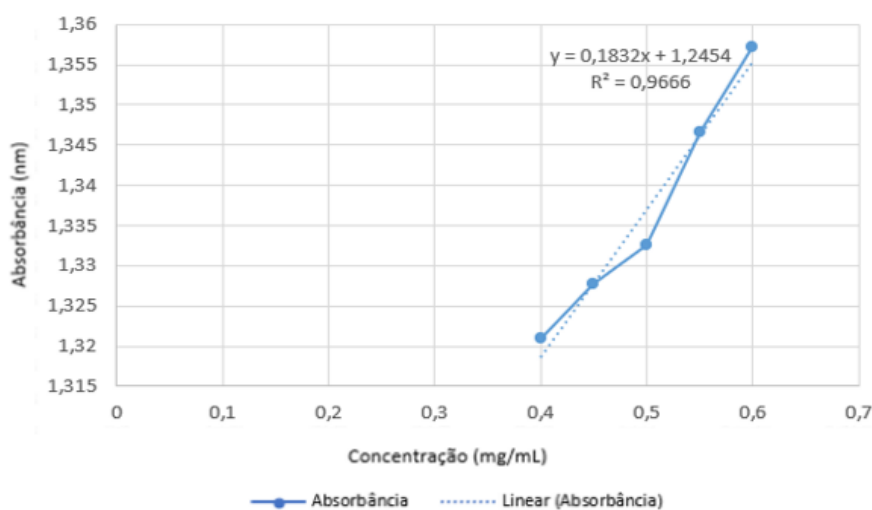
Tabela 1: Valores de absorbância por padrão

PADRÕES (%)	CONCENTRAÇÃO (mg/mL)	ABSORBÂNCIA (nm)
80	0,40	1,315
90	0,45	1,322
100	0,50	1,326
110	0,55	1,341
120	0,60	1,351

Na Tabela 1, os valores de absorvância se mostram proporcionais às concentrações de rutina, um comportamento característico de soluções que obedecem à Lei de Beer-Lambert.

Os valores de absorvância e concentração foram utilizados para construir a curva de calibração (Gráfico 1). O modelo de regressão linear apresentou coeficiente de determinação (R^2) de 0,9666 indicando forte correlação linear entre concentração e absorvância, embora ligeiramente inferior ao valor ideal (≥ 0.99) recomendado para uma curva de calibração de alta precisão. Isso sugere que a relação linear é proporcional, mas podem existir pequenos desvios, possivelmente devido a erros experimentais ou variações nas medidas, como pequenas variações na homogeneização das soluções, diferenças de volume na pipetagem ou interferência ótica durante as leituras.

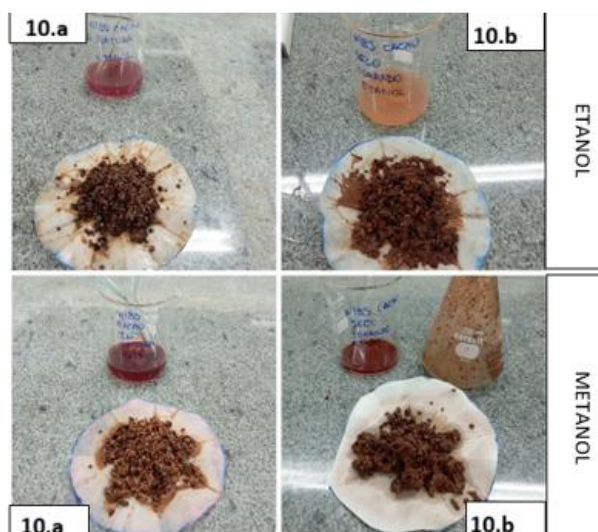
Gráfico 1: Curva de calibração da rutina



5.2 Extração e quantificação de flavonoides

No processo de extração a temperatura das soluções foi medida de modo que não ultrapassasse 60 °C para preservar o teor de flavonoides sem que houvesse perda considerável devido à degradação térmica. Os extratos metanólicos e etanólicos após filtração podem ser observados na Figura 10.

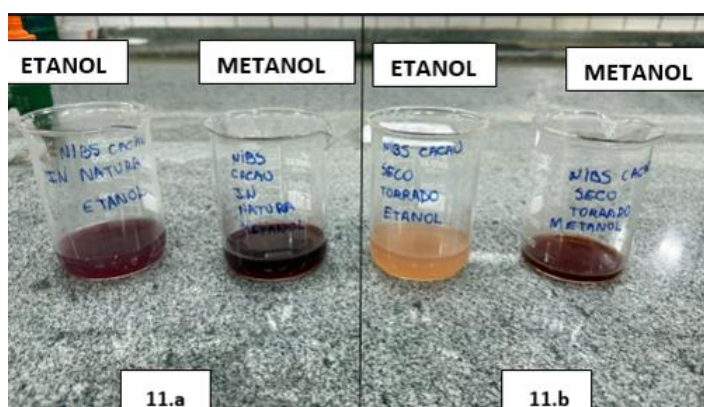
Figura 10. Filtrados ao lado de béqueres: 10.a *nibs in natura*, 10.b *nibs* torrado.



Fonte: autoria própria

Na Figura 11 observam-se diferenças de coloração entre os extratos obtidos com os dois solventes. O extrato preparado com metanol, tanto do *nibs* de cacau torrado quanto do *in natura* apresentaram coloração púrpura. E o extrato obtido com etanol (99,8 %) a partir da amostra de *nibs* torrado apresentou-se de tonalidade amarelada e a partir da amostra de *nibs in natura* coloração púrpura, evidenciando variações associadas ao tipo de solvente utilizado.

Figura 11. Extratos obtidos: 11.a *nibs in natura* e 11.b *nibs* torrado.



Fonte: autoria própria

Para as amostras '*in natura*' extraídas com metanol, os valores iniciais de absorbância resultaram em concentrações negativas, indicando que a concentração de flavonoides estava abaixo do limite de detecção do método. Testes repetidos foram realizados para verificação, e os novos valores também indicaram ausência de

compostos detectáveis, sugerindo que a extração com metanol não foi eficaz para estas amostras específicas.

Os resultados obtidos a partir das leituras no espectrofotômetro UV – Vis a 420 nm das soluções dos extratos de concentrações regulares obtidas no item 4.4 estão abaixo na Tabela 2.

Tabela 2: Concentração, absorbância e teor de flavonoides das amostras

Amostra	Absorbância (y)	Concentração (mg/mL)	Teor de flavonoides (mg/g)
<i>nibs</i> de cacau <i>in natura</i> etanol 1	1,514	298,40	9,7
<i>nibs</i> de cacau <i>in natura</i> etanol 2	1,710	516,73	16,8
<i>nibs</i> de cacau torrado etanol 1	2,240	1104,06	35,9
<i>nibs</i> de cacau torrado etanol 2	2,138	991,73	32,2
<i>nibs</i> de cacau torrado metanol 1	1,664	465,06	15,1
<i>nibs</i> de cacau torrado metanol 2	2,042	885,62	28,8
<i>nibs</i> de cacau <i>in natura</i> metanol 1	0,215	-1144,82	0
<i>nibs</i> de cacau <i>in natura</i> metanol 2	0,941	-338,60	0
Teste repetido <i>nibs</i> de cacau <i>in natura</i> metanol 1	0,669	-640,44	0
Teste repetido <i>nibs</i> de cacau <i>in natura</i> metanol 2	0,819	-473,78	0

*Teor de Flavonoides (mg/g) = % × 0,325.

*Valores negativos = "Não Detectado" ou "< L.D." (abaixo do Limite de Detecção)

Quanto ao solvente extrator, a influência da solubilidade é determinante para o rendimento. Conforme relataram Wang e Liu (2021) rendimentos significativamente menores com metanol (2,1 mg/g no bagaço de uva e 1,8 mg/g na casca cítrica) em comparação com etanol 70 % (5,8 mg/g e 4,9 mg/g) e acetona 50 % (6,2 mg/g e 5,3 mg/g).

Kim *et al.* (2022) demonstraram, por meio de simulações de dinâmica molecular, que a polaridade e a constante dielétrica do metanol não são ideais para estabilizar a estrutura de flavonoides glicosilados, mais polares e volumosos devido à

presença de açúcares. O metanol, sendo uma molécula menor e menos anfifílica, forma interações mais fracas e menos numerosas, o que justifica as concentrações não detectáveis obtidas nos extratos de *nibs* de cacau *in natura*.

Em estudo semelhante, Mudenuti *et al.* (2021) relataram que os flavonoides e alcaloides monoméricos localizam-se predominantemente na fração solúvel de extratos de *nibs* e cascas de cacau cru (*in natura*), enquanto a fração hidrolisada da parte insolúvel apresentou maior teor de ácido protocatecuico (75–87 %). Esses resultados confirmam que a eficiência da extração depende diretamente da solubilidade do composto e do solvente empregado.

Além do tipo de solvente, a origem e o processamento do cacau também influenciam os teores obtidos. Os *nibs* analisados neste estudo possuem origens distintas (solos e condições climáticas diferentes em relação às amostras *in natura*), o que pode justificar a maior concentração observada na amostra do Processo 1 (torrado) em relação ao Processo 2 (*in natura*). Conforme Andújar *et al.* (2012), há grande variação no conteúdo fenólico do cacau dependendo de sua origem; por exemplo, a concentração de catequina em grãos fermentados varia de 16,52 mg/g (Costa Rica) a 2,66 mg/g (Jamaica). Segundo Indiarto *et al.* (2021, p. 687), fatores como fermentação, secagem e torrefação também interferem significativamente: a fermentação pode reduzir o teor de flavonoides em até 80 %, enquanto a secagem branda e a torrefação curta em alta temperatura preservam melhor esses compostos.

Gu *et al.* (2019), empregando solvente acetona-água-ácido acético, obtiveram teores médios de $30,4 \pm 2,1$ mg ECE/g (Equivalente de Catequina por grama) em *nibs* crus e $21,1 \pm 1,7$ mg ECE/g após a torrefação. Ambos os estudos utilizaram espectrofotometria UV-vis a 510 nm, corroborando a eficiência maior dos solventes hidroalcológicos em comparação aos álcoois puros.

De maneira congruente com os nossos dados para o extrato etanólico de *nibs* de cacau, estudos recentes indicam que misturas hidroalcológicas (por exemplo, etanol-água) superam álcoois puros na extração de flavonoides. El Mannoubi *et al.* (2023) observaram que a mistura 80% etanol/água forneceu o maior rendimento de flavonoides totais em frutos de palma de espinhos (espécie de cacto), superando metanol e outras soluções puras. De modo semelhante, Plaskova e Mlček (2023) afirmam que a utilização de solventes “verdes”, como etanol-água, apresenta maior eficiência, e, é mais vantajoso para compostos fenólicos e flavonoides em alimentos.

Dessa forma, os valores elevadamente melhores observados neste estudo para *nibs* de cacau torrados extraídos com etanol puro em teor flavonóide (35,9-32,2 mg/g) ainda se mantêm promissores, mas reforçam a hipótese de que uma mistura etanol-água poderia melhorar ainda mais os rendimentos, especialmente para amostras *in natura*. Em contrapartida, a eficiência nula do metanol puro com *nibs in natura* (0 mg/g) está alinhada com os achados que indicam baixa eficiência de solventes alcoólicos puros quando comparados a misturas hidroalcoólicas.

Resultados em matrizes frutais sustentam a maior eficiência do etanol (especialmente em misturas etanol-água) para extração de flavonoides. Em bagaço de uva, 70% etanol proporcionou os maiores teores e TFC (Total Flavonoid Content: Teor de Flavonoides Totais) da ordem de ~23 mg ECE/g (Equivalente de Catequina por grama) em condições otimizadas (Liu *et al.*, 2022).

Achados semelhantes foram reportados para subprodutos de mirtilo, nos quais extratos com 70% etanol concentraram mais antocianinas do que água ou solventes puros (Liu *et al.*, 2022). Em cascas cítricas (limão/laranja), processos com etanol/etanol-água — por vezes assistidos por ultrassom — maximizam a recuperação de naringina/hesperidina, superando alcoóis anidros (Shangguan *et al.*, 2023).

Em casca de romã, embora alguns trabalhos relatem TFC (Teor de Flavonoides Totais) elevado com metanol, revisões recentes enfatizam a relação custo-segurança-desempenho favorável a etanol-água em aplicações alimentícias (Indiarto *et al.*, 2021; Jardini *et al.*, 2010). Esses padrões são coerentes com o presente estudo: o etanol P.A. superou o metanol P.A. nas amostras de *nibs* torrados, e é plausível que misturas etanol-água (50–80%) aumentem ainda mais o rendimento, sobretudo em amostras *in natura*.

A Tabela 3 apresentou a comparação entre os teores médios de flavonoides determinados neste estudo e aqueles relatados na literatura para diferentes matrizes frutais submetidas a extrações com solventes alcoólicos e hidroalcoólicos. Verificou-se que o teor de flavonoides obtido nos *nibs* de cacau torrados (32,2–35,9 mg RE/g, Equivalente de Rutina por grama de amostra) foi consideravelmente superior aos valores reportados para outras frutas, como o bagaço de uva (23 mg/g) e o mirtilo (18 mg/g), ambos extraídos com etanol 70 % (Liu *et al.*, 2022).

Tabela 3: Teor médio de flavonoides em *nibs* de cacau e em outras matrizes frutais obtidos com diferentes solventes e condições de extração.

Matriz / Fruto	Solvente / Condição	Teor médio de flavonoides (mg/g)	Referência
<i>Nibs</i> de cacau torrados	Etanol P.A.	35,9-32,2	Este estudo
<i>Nibs</i> de cacau <i>in natura</i>	Etanol P.A.	9,7-16,8	Este estudo
Bagaço de uva	Etanol 70 %	23	Liu <i>et al.</i> , 2022
Mirtilo	Etanol 70 %	18	Liu <i>et al.</i> , 2022
Cascas cítricas (limão/laranja)	Etanol-água	~10,87	Shangguan <i>et al.</i> (2023)
Romã (casca)	Etanol 80 %	12–30	Indiarto <i>et al.</i> , 2021; Jardini <i>et al.</i> , 2010
Palma de espinhos (fruto)	Etanol 80 %	15–22	El Mannoubi <i>et al.</i> , 2023

TFC: teor de flavonoides totais; mg ECE/g: miligramas de equivalentes de catequina por grama de amostra; mg RE/g: miligramas de equivalentes de rutina por grama de amostra. Fonte: autoria própria (2025).

Obs.: Valores < L.D. = abaixo do limite de detecção do método.

Fator de conversão: mg/g = % × 0,325.

Unidade: mg RE/g (miligramas de equivalentes de rutina por grama de amostra).

Ao comparar o cacau com outras frutas tropicais, verificou-se que espécies como palma de espinhos (fruto) 15–22 mg/g (El Mannoubi *et al.*, 2023) e romã 12–30 mg/g (Indiarto *et al.*, 2021; Jardini *et al.*, 2010) apresentaram teores superiores de flavonoides, extraídos com soluções de etanol 80 %, o que confirmou a vantagem do uso de solventes hidroalcoólicos em relação aos solventes puros. De forma semelhante, as cascas cítricas (limão e laranja) apresentaram teores entre 10 e 20 mg/g quando extraídas com etanol-água (Shangguan *et al.*, 2023), evidenciando a influência simultânea da composição do solvente e da matriz vegetal na eficiência do processo de extração.

Os teores determinados para *nibs* de cacau *in natura* (9,7–16,8 mg RE/g, Equivalente de Rutina por grama) foram os mais baixos da série, refletindo a baixa eficiência do etanol anidro (P.A.) na extração de compostos de uma matriz vegetal não submetida à torra. Esses resultados reforçaram a hipótese de que a ruptura térmica da parede celular durante a torrefação contribuiu para maior liberação de metabólitos fenólicos, como catequinas e procianidinas, nas amostras torradas. O perfil relativo de extração observado neste estudo mostrou que o etanol apresentou desempenho superior ao metanol como solvente extrator, especialmente nas amostras torradas.

Em síntese, os resultados obtidos para os *nibs* de cacau torrados mostraram-se coerentes com o comportamento esperado para sementes processadas termicamente, nas quais parte dos flavonoides é degradada, embora a torrefação moderada ainda favoreça a liberação dos compostos fenólicos remanescentes. Segundo Dai (2017) a torrefação teve efeitos significativos no teor fenólico, (-)-epicatequina e (+)-catequina nas *nibs* nas frações livres, mas não em suas frações ligadas, sugerindo que esses fenólicos ligados provavelmente foram menos vulneráveis durante a torrefação. Evidências apresentadas por Wang *et al.* (2025) indicam que o pré-tratamento térmico de sementes de cártamo é capaz de elevar o teor de polifenóis extraíveis, possivelmente em decorrência da degradação da matriz celular e da quebra de ligações que aprisionam esses compostos.

Já os teores muito baixos nas amostras *in natura* indicaram que o uso de solventes anidros limitou a solubilização de compostos mais polares, e que misturas etanol-água (50–80 %) provavelmente proporcionariam rendimentos superiores. Dessa forma, para matrizes não submetidas à torra, esse comportamento pode ser justificado com diversos estudos que demonstraram que solventes hidroalcoólicos (etanol-água) favorecem a extração de compostos fenólicos em função de sua polaridade intermediária e características anfifílicas, que aumentam a solubilização de flavonoides glicosilados e antocianinas (El Mannoubi *et al.*, 2023; Plasková; Mlček, 2023).

O presente estudo contribuiu para a caracterização comparativa dos teores de flavonoides em *nibs* de cacau *in natura* e torrado, e evidenciou a influência direta do solvente extrator e do processamento térmico na eficiência de extração desses compostos bioativos.

6. CONCLUSÃO

O presente estudo teve como finalidade quantificar o teor de flavonoides em *nibs* de cacau submetidos a diferentes condições de processamento e avaliar a eficiência dos solventes etanol e metanol na extração desses compostos. A análise espectrofotométrica realizada em 420 nm (UV-Vis) permitiu identificar variações expressivas na concentração de flavonoides totais em função do tipo de solvente utilizado e do estado físico da amostra.

O metanol P.A. demonstrou-se um solvente extrator ineficiente para os *nibs* de cacau *in natura*, conforme verificado pela ausência de detecção

espectrofotométrica de flavonoides, resultando em valores abaixo do limite de detecção (L.D.) do método. Entretanto, o mesmo solvente apresentou desempenho superior nas amostras torradas, com teores variando entre 15,1 e 28,8 mg RE/g, o que indicou que o processo térmico de torrefação favoreceu a liberação de compostos fenólicos e flavonoides por meio da ruptura parcial das estruturas celulares e da maior disponibilidade dos metabólitos ativos.

De forma comparativa, o etanol P.A. mostrou eficiência moderada na extração de flavonoides em *nibs in natura*, cujos teores variaram entre 9,7 e 16,8 mg RE/g, mas apresentou rendimento significativamente superior nas amostras torradas, alcançando valores entre 32,2 e 35,9 mg RE/g. Esses resultados evidenciam que solventes alcoólicos puros de cadeias curtas possuem limitação na extração de compostos mais polares, o que reforça a influência direta da polaridade e da estrutura do solvente na solubilização de flavonoides glicosilados.

Os extratos etanólicos apresentaram teores mais satisfatórios que os metanólicos, embora ainda inferiores aos observados em solventes hidroalcoólicos descritos na literatura. Essa diferença pode ser atribuída à ausência de água na composição do solvente, uma vez que misturas etanol-água apresentam melhor desempenho em razão da combinação de propriedades polares e apolares, que favorecem a extração simultânea de diferentes classes de compostos fenólicos. Assim, a composição do solvente mostrou-se um fator determinante para a eficiência da extração.

Os resultados experimentais obtidos neste trabalho indicaram que os *nibs* de cacau possuem potencial relevante como fonte natural de flavonoides, podendo ser empregados como ingrediente funcional em dietas equilibradas. A quantificação total obtida sugere que o consumo moderado de *nibs* pode contribuir para o aporte diário de compostos antioxidantes, considerando as faixas usualmente associadas a efeitos biológicos benéficos em alimentos ricos em polifenóis.

Com base nas evidências obtidas, recomenda-se a realização de estudos complementares voltados à otimização do processo extrativo, avaliando a influência de combinações de solventes hidroalcoólicos e diferentes proporções de água e etanol sobre o rendimento de flavonoides. Sugere-se, ainda, a investigação de variáveis do processamento dos *nibs*, como a intensidade da torrefação, o tempo de fermentação, a granulometria e a origem geográfica do cacau, de modo a identificar condições que maximizem a preservação e a concentração de compostos fenólicos.

Dessa forma, o presente estudo contribuiu para o entendimento dos fatores que afetam a extração e quantificação de flavonoides no cacau, reforçando sua relevância como alimento funcional e ampliando o embasamento científico necessário para futuras aplicações nutricionais e tecnológicas dessa matéria-prima natural.

REFERÊNCIAS

- ABICAB – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DE CHOCOLATES, CACAU, AMENDOIM, BALAS E DERIVADOS. Relatório setorial 2023. Disponível em: <https://www.abicab.org.br/>. Acesso em: 21 mar. 2025.
- AGRIBRASILIS. Cacau no Brasil gera mais de 220 mil empregos. 2022. Disponível em: <https://agribrasilis.com/2022/05/17/cacau-no-brasil/>. Acesso em: 18 set. 2024.
- AGRISHOW. Cacau: saiba tudo sobre sua colheita e comercialização. 26 abr. 2024. Disponível em: <https://digital.agrishow.com.br/artigos/cacau-saiba-tudo-sobre-sua-colheita-e-comercializacao>. Acesso em: 16 jun. 2025.
- ANDÚJAR, I. *et al.* Cocoa polyphenols and their potential benefits for human health. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, New York, v. 2012, p. 1–23, 2012.
- ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos: uma breve revisão. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, v. 66, n. 1, p. 1–9, 2007.
- AWARIKABEY, E.; AMPONSAH, I. K.; WOODE, M. Y. The value of the cocoa bean shell (hull) and the effect of various processing methods on the phyto-constituents and antioxidant activity of the nib and shell. *Journal of Natural Products and Plant Resources*, v. 4, n. 3, p. 58–64, jan. 2014.
- AZIZAH, A. H.; RUSLAWATI, N. M. N.; SWEE TEE, T. Extraction and characterization of antioxidant from cocoa by-products. *Proceedings of the Nutrition Society of Malaysia*, p. 199–202, maio 1988.
- BARBERÁN, F. A. T.; SARRÍAS, A. G.; VILLALBA, R. G. *Dietary polyphenols: metabolism and health effects – structural diversity of polyphenols and distribution in foods*. New Jersey: John Wiley & Sons, 2021.
- BERENBAUM, M. C. What is synergy? *Pharmacological Reviews*, Bethesda, v. 41, n. 2, p. 93–141, 1989.
- BONI, A. P.; CARRADORE, C. Cacau na Bahia vive renascimento após 30 anos com vassoura-de-bruxa. *Fórum do Cacau*, 2019. Disponível em: <https://forumdocacau.com.br/cacau-na-bahia-vive-renascimento-apos-30-anos-com-vassoura-de-bruxa/>. Acesso em: 20 jan. 2025.
- BRASIL. CEPLAC – Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira. A Ceplac. 2023. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/ceplac/a-ceplac>. Acesso em: 19 jan. 2025.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Secretaria de Inovação, Desenvolvimento Rural e Irrigação. Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira. Cartilha de boas práticas na lavoura cacaueira no estado do Pará, Belém, Mapa/CEPLAC. p.10, 2020. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/ceplac/publicacoes/outras->

publicacoes/cartilha-do-cacaueiro-com-ficha-catalografica.pdf. Acesso em: 05 jun. 2025.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Brasil quer retomar protagonismo no cenário global de cacau e chocolate. Brasília, 12 set. 2023. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/noticias/brasil-quer-retomar-protagonismo-no-cenario-global-de-cacau-e-chocolate>. Acesso em: 10 jun. 2025.

CACAONET. CEPEC/CEPLAC: Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira/Centro de Pesquisas do Cacau. [S. l.], [s. d.]. Disponível em: <https://www.cacaonet.org/cacao-collections/institute?instituteUId=977>. Acesso em: 12 out. 2025.

CEPLAMT. Plantas medicinais na escola: flavonoides. Universidade Federal de Minas Gerais, 2016. Disponível em: <https://www.ufmg.br/mhnbj/ceplamt/plantas-medicinais-na-escola/flavonoides/>. Acesso em: 1 ago. 2024.

COLIN MCINTOSH (Reino Unido). Cambridge English-Portuguese Dictionary: tradução de nib. Cambridge University Press & Assessment, 2024. Disponível em: <https://dictionary.cambridge.org/pt/dicionario/ingles-portugues/nib>. Acesso em: 1 ago. 2024.

DAI, Qiaoqiao. Effects of alkalization and roasting on free and bound phenolic compounds in cocoa nibs and shells. 2017. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – The Pennsylvania State University, Pennsylvania, 2017. Disponível em: <https://etda.libraries.psu.edu/catalog/14642qid5009>.

DEGÁSPARI, C. H.; WASZCZYNSKYJ, N. Propriedades antioxidantes de compostos fenólicos. Visão Acadêmica, Curitiba, v. 5, n. 1, 2004. DOI: 10.5380/acd.v5i1.540.
EL MANNOUBI, A. et al. Phytochemical profile and antioxidant capacity of *Opuntia stricta* fruit extracts: effect of solvent polarity. Food Chemistry Advances, v. 3, p. 100152, 2023.

FARMFORCE. 2025-2026 Cocoa Season Outlook: Challenges and Sustainability in Focus. 12 set. 2025. Disponível em: <https://farmforce.com/articles/2025-2026-cocoa-season-outlook-challenges-and-sustainability-in-focus/>. Acesso em: 02 nov. 2025.

GALVÃO, Elizabete Lobato et al. Cacau (*Theobroma cacao*): Uma visão geral de pesquisas atuais sobre os aspectos botânicos, fitoquímicos e farmacológicos. Research, Society and Development, v. 13, n. 5, e8113545810, 2024. DOI: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v13i5.45810>.

GLOBO RURAL. Mars investe em pesquisa e educação para promover crescimento sustentável do cacau brasileiro. Globo Rural, [S. l.], 12 ago. 2025. Disponível em: <https://globo rural.globo.com/conteudo-de-marca/mars-wrigley/noticia/2025/08/mars-investe-em-pesquisa-e-educacao-para-promover-crescimento-sustentavel-do-cacau-brasileiro.ghtml>. Acesso em: 15 out. 2025.

GU, L. *et al.* Flavonoid composition and antioxidant potential of different cocoa genotypes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 67, n. 15, p. 4176–4186, 2019. DOI: 10.1021/acs.jafc.8b07156.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. *Free radicals in biology and medicine*. 5. ed. Oxford: Oxford University Press, 2015.

HOJE TEM CHOCOLATE. O que é Nibs de Cacau? Para que serve e 6 formas de consumir, 2018. Disponível em: <https://hojetemchocolate.com/o-que-e-nibs-de-cacau/>. Acesso em: 8 mar. 2025.

JAVA CHOCOLATES. O que é nibs de cacau, 2020. Disponível em: <https://www.javachocolates.com.br/o-que-e-nibs-de-cacau/>. Acesso em: 8 mar. 2025.

INDIARTO, R. *et al.* Cocoa (*Theobroma cacao* L.) beans processing technology: a review of flavonoid changes. *Asian Journal of Plant Sciences*, v. 20, p. 684–693, 2021. DOI: 10.3923/ajps.2021.684.693.

INTERNATIONAL COCOA ORGANIZATION (ICCO). *Growing cocoa: origins and spread*. Londres, 2024. Disponível em: <https://www.icco.org/growing-cocoa/>. Acesso em: 10 jun. 2025.

INTERNATIONAL COCOA ORGANIZATION (ICCO). *Quarterly bulletin of cocoa statistics*. Londres, v. XLIX, n. 2, abr. 2024. Disponível em: <https://www.icco.org/statistics/#quarterly-bulletin>. Acesso em: 22 abr. 2025.

JARDINI, A. F. *et al.* Compostos fenólicos da polpa e sementes de romã (*Punica granatum* L.): atividade antioxidante e protetora em células MDCK. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, v. 12, n. 4, p. 405–413, 2010.

KARAKAYA. Sibel. Bioavailability of phenolic compounds. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, v. 44, n. 66, 2004.

KIM, J. Y. *et al.* Molecular insights into solvent–flavonoid interactions for improved extraction efficiency. *Food Research International*, v. 157, p. 111235, 2022.

LIU, Y. *et al.* Optimization of flavonoid extraction from grape pomace and blueberry residues using ethanol–water mixtures. *LWT – Food Science and Technology*, v. 161, p. 113427, 2022.

MA, Jian *et al.* A Comprehensive Review of Phenolic Compounds in Horticultural Plants. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 26, n. 12, p. 5767, 2025. DOI: 10.3390/ijms26125767.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Cacau do Brasil*. 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/ceplac/publicacoes/outras-publicacoes/cacau-do-brasil-versao-portugues>. Acesso em: 18 set. 2024.

MELO, Claudio Bezerra. Banco de Imagens: cacau. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2017. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-imagens/-/midia/4096001/cacau>. Acesso em: 1 ago. 2024.

MUDENUTI, R. C. *et al.* Determinação de compostos bioativos em nibs e cascas de cacau (*Theobroma cacao* L.). Brazilian Journal of Food Technology, v. 24, p. e2020194, 2021.

MUSEU NACIONAL (UFRJ). Horto Botânico - *Theobroma cacao*. Rio de Janeiro, s.d. Disponível em: <https://www.museunacional.ufrj.br/hortobotanico/arvoresearbustos/theobromacacao.html>. Acesso em: 18 set 2025.

NIKI, E. Lipid Peroxidation: Physiological Levels and Dual Biological Effects. Free Radical Biology and Medicine, New York, v. 47, n. 5, p. 469-484, 2009.

ORTEGA, N. *et al.* Obtention and Characterization of Phenolic Extracts from Different Cocoa Sources. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 56, n. 21, p. 9621-9627, 2008. DOI: 10.1021/jf8013295.

PANCHE, A. N.; DIWAN, A. D.; CHANDRA, S. R. Flavonoids: An overview. Journal of Nutritional Science, v. 5, p. 1–15, 8 out. 2016.

PATRAS, M. A. *et al.* Identification of novel cocoa flavonoids from raw fermented cocoa beans by HPLC-MSn. Food Research International, v. 63, p. 353–359, maio 2014.

PLASKOVÁ, A.; MLČEK, J. Green solvents in the extraction of natural antioxidants: opportunities and challenges. Food Chemistry Advances, v. 2, p. 100078, 2023.

PRIOR, R. L. *et al.* Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 53, n. 10, p. 4290–4302, 2005.

REBROTAR PLANTAS. CACAU (*Theobroma cacao*). [S. l.], [s. d.]. Disponível em: <https://www.rebrotarplantas.com.br/cacau>. Acesso em: 18 set 2025.

RIBEIRO, L. N. Nibs de cacau: propriedades e usos culinários. Revista Vida Natural, São Paulo, 2025.

SENAR. SERVIÇO NACIONAL DE APRENDIZAGEM RURAL. Coleção SENAR - 215: cacau: produção, manejo e colheita. Brasília. 2018. 145 p. Disponível em: <https://www.cnabrazil.org.br/assets/arquivos/215-CACAU.pdf>. Acesso em: 19 jan. 2025.

SOBRINHO, T. J. S. P. *et al.* Validação de metodologia espectrofotométrica para quantificação dos flavonóides de *Bauhinia cheilantha* (Bongard) Steudel. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences, v. 44, p. 1, out. 2008.

STARK, T.; BAREUTHER, S.; HOFMANN, T. Molecular definition of the taste of roasted cocoa nibs (*Theobroma cacao*) by means of quantitative studies and sensory experiments. *J Agric Food Chem.* v. 53, n. 13, p. 5407-5418, jun. 2006. Doi: 10.1021/jf0608726. PMID: 16848542.

SHAHIDI, F.; YEO, J. Bioactivities of phenolics by focusing on suppression of chronic diseases: a review. *Food Science and Human Wellness*, v. 5, p. 1–8, 2016.

SHANGGUAN, F. *et al.* Extraction optimization and antioxidant potential of flavonoids from citrus peel using green ethanol–water solvents. *Food Chemistry Advances*, v. 2, p. 100145, 2023.

SPEER H., D'CUNHA, NM.; BOTEK, M. *et al.* The Effects of Dietary Polyphenols on Circulating Cardiovascular Disease Biomarkers and Iron Status: A Systematic Review. *Nutrition and Metabolic Insights*. v. 12, 2019. doi:10.1177/1178638819882739

TSAO, R. Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. *Nutrients*, v. 2, n. 12, p. 1231–1246, 2010.

WANG, J.; LIU, X. Solvent effects on flavonoid extraction from agricultural by-products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 69, n. 15, p. 4451-4460, 2021. DOI: 10.1021/acs.jafc.1c00447

WANG, Rui *et al.* Effect of heat pretreatment of safflower seeds on quality and polyphenol composition of extracted oil. *LWT - Food Science and Technology*, [S.l.], v. 217, 117418, fev. 2025. DOI: 10.1016/j.lwt.2025.117418. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643825001021>.

APÊNDICE A – Cálculos padrão da rotina

Padrão da rotina

Branco: absorvância = 0,005542

Padrões:

Concentração 80: absorvância $1,3209 - 0,005542 = 1,315358$

Concentração 90: absorvância $1,3277 - 0,005542 = 1,322158$

Concentração 100: absorvância $1,3325 - 0,005542 = 1,326958$

Concentração 110: absorvância $1,3467 - 0,005542 = 1,341158$

Concentração 120: absorvância $1,3572 - 0,005542 = 1,351658$

Concentração Real (mg/mL) = (Valor da Tabela / 100) * 0,5

Aplicando isso aos pontos da curva:

80% → $(80 / 100) * 0,5 = 0,4$ mg/mL

90% → $(90 / 100) * 0,5 = 0,45$ mg/mL

100% → $(100 / 100) * 0,5 = 0,5$ mg/mL

110% → $(110 / 100) * 0,5 = 0,55$ mg/mL

120% → $(120 / 100) * 0,5 = 0,6$ mg/mL

APÊNDICE B – Conversão de porcentagem (%) para mg/g de amostra

A conversão dos resultados obtidos em percentual (%) para miligramas de flavonoides por grama de amostra (mg/g) foi realizada com base na curva de calibração da rotina (item 4.3), em que 100 % correspondeu à concentração de 0,50 mg/mL. Durante a extração, foram pesados 25 g de *nibs* de cacau para cada amostra, aos quais foram adicionados 65 mL de solvente (metanol P.A. ou etanol P.A.), conforme descrito no item 4.4. Após o processo de filtração, 1,0 mL do extrato foi transferido para um balão volumétrico de 25 mL, completando-se o volume com os reagentes utilizados na determinação espectrofotométrica. Assim, cada alíquota analisada representou uma fração equivalente a 0,0154 g de amostra sólida:

$$\text{Fração analisada} = \frac{25g}{65mL \times 25} = 0,0154g$$

Sabendo-se que 100 % = 0,50 mg/mL, a relação entre o teor percentual e o conteúdo em mg/g foi expressa por:

$$\text{mg/g} = \frac{0,50 \times (\text{percentual})}{100 \times 0,0154}$$

ou de forma simplificada:

$$\text{mg/g} = (\text{percentual}) \times 0,325$$

Exemplo de conversão aplicada:

Amostra	Concentração (%)	Teor de flavonoides (mg/g)
<i>Nibs</i> torrado – etanol	110,40	35,9
<i>Nibs</i> torrado – etanol	99,17	32,2
<i>Nibs in natura</i> – etanol	51,67	16,8
<i>Nibs in natura</i> – etanol	29,83	9,7

Os valores corrigidos (9–36 mg/g) mostraram-se coerentes com os dados de referência da literatura, como Gu *et al.* (2019) que reportaram teores entre 21 e 30 mg ECE/g para *nibs* crus e torrados. Os resultados foram expressos em mg RE/g (miligramas de equivalentes de rutina por grama de amostra), conforme o padrão empregado na calibração.