

## ANÁLISE MICROBIOLÓGICA COMPARATIVA DAS FASES PRÉ E PÓS- PROCESSAMENTOS INDUSTRIAIS DE AMÊNDOAS DE CACAU

Carolina Souza Almeida Santos<sup>1</sup>

Mariana Moreira Andrade<sup>2</sup>

**RESUMO:** O cacau é um fruto muito antigo que é proveniente do cacauzeiro. Suas sementes são ricas em muitas propriedades como lipídeos, proteínas, amido e células polifenólicas, se tornando importantes para o consumo, logo que possuem conteúdo anti-inflamatório e antioxidante atuando em diversos tipos de doenças como câncer e doenças cardiovasculares. Esse fruto é muito utilizado para a produção de vários produtos como o chocolate, manteiga de cacau, liquor de cacau e entre outros. Apesar de seus benefícios, quando fabricados podem ser sujeitos a contaminação que podem levar a diversos prejuízos como econômicos e a saúde da população. Portanto, o objetivo desse trabalho é analisar microbiologicamente as amêndoas de cacau antes e após o processamento na indústria, afim de averiguar se ocorreu a sua esterilização de forma correta, e para essas análises serão comparados os resultados para psicotróficos aeróbios e mofo, bolores e leveduras. Seus resultados serão computados através do método de Contagem Padrão em Placas (UFC/g) de acordo com a ANVISA.

6060

**Palavras-chave:** Cacau. Nibs. Amostras. Análise microbiológica.

**ABSTRACT:** Cocoa is a very ancient fruit that comes from the cocoa tree. Its seeds are rich in many properties such as lipids, proteins, starch and polyphenolic cells, making them important for consumption, as they have anti-inflammatory and antioxidant content, acting on different types of diseases such as cancer and cardiovascular diseases. This fruit is widely used for the production of various products such as chocolate, cocoa butter, cocoa liquor and others. Despite their benefits, when manufactured they can be subject to contamination that can lead to various losses, such as economic losses and the health of the population. Therefore, the objective of this work is to microbiologically analyze cocoa beans before and after processing in the industry, in order to determine whether their sterilization occurred correctly, and for these analyzes the results for aerobic psychotrophs and mold, mold and yeast will be compared. . Your results will be computed using the Standard Plate Count method (CFU/g) in accordance with ANVISA.

**Keywords:** Cocoa. Nibs. Samples. Microbiological analysis.

<sup>1</sup> Graduanda de biomedicina, Faculdade Madre Thais.

<sup>2</sup> Mestre, Faculdade Madre Thais.

## I INTRODUÇÃO

O cacau é uma fruta bastante antiga proveniente do cacaueiro. Sua espécie é o *Theobroma cacao*, a qual tem origem na América Central e do Sul, e foi disseminada em outros países como a África, local que se desenvolveu de forma satisfatória (Vanderschueren et al., 2019). As amêndoas de cacau são as sementes de seus frutos que possuem diversos benefícios a saúde por ser um fruto flavanóide, logo, contém propriedades em suas células que permitem o armazenamento de lipídeos, proteínas, amido e células polifenólicas (Silva; Marques; Rezende, 2022). Esse fruto dá origem a vários subprodutos como o liquor, manteiga, pó, *nibs*, o mel de cacau e o produto final, o chocolate (Guirlanda; Silva; Takahashi, 2021).

O início da produção do chocolate começa nas fazendas, onde é realizada a plantação e a colheita do cacau. Para o plantio, a melhor forma de desenvolvimento é a utilização de outras espécies de plantas como árvores florestais naturais. Essa forma de semeadura é o sombreamento que ajuda na umidade e filtração da água no solo, pois contribui para a fertilidade do mesmo (Brasil, 2020). São escolhidos os frutos maduros ou semi-maduros que se apresentam sem a presença de fitopatologias para a garantia de produtos com alta qualidade (Lopez, Clemência; Ospina, Johannes, 2021). A escolha do fruto influencia no sabor que a amêndoa dará ao produto final, por esse fato, não deve-se escolher o cacau verde e nem maduro demais. Isso porque a fruta verde não terá grande quantidade de açúcar em sua composição, resultando na sua incapacidade de fermentação; já o fruto muito maduro é mais propício à proliferação de bactérias, acarretando num produto infectado

É no processo fermentativo que se observa o surgimento das características sensoriais que dependem da participação das bactérias e leveduras, já que são elas que interferem na qualidade do produto (Guirlanda; Silva; Takahashi, 2021). Para uma amêndoa de boa qualidade, são levados em consideração vários fatores, desde o tipo do solo, variedade do cacaueiro, manuseamento do cultivo e processamento após a colheita (Silva; Marques; Rezende, 2022). Todas essas condições irão contribuir para as propriedades organolépticas do produto final, na qual a temperatura, o ambiente, o pH e acidez da amêndoa, o período de processamento e a microbiota irão influenciar em todo o processo (Soares; Oliveira, 2022).

A fermentação está dividida em três etapas, a primeira sofre a ação de leveduras que farão a transformação do açúcar em álcool em um período de 24-36h, tornando o ambiente favorável a condições anaeróbicas. Na segunda fase, ocorre o envolvimento ativo das LAB entre 48 e 96h, que realizarão a conversão de ácidos orgânicos em ácido lático. Por fim, na terceira fase, AAB realizam a conversão do álcool em ácido acético. Essa fase é bem crítica por conta da presença das bactérias que podem gerar amêndoas tóxicas, tornando-as impróprias para consumo (Silva; Marques; Rezende, 2022). O ideal é que não se ultrapasse 8 dias, pois ocorre a formação de substâncias como a amônia que levam ao produto final um sabor e aroma diferente do esperado (Brasil, 2020).

Os microrganismos envolvidos na fermentação modificam as propriedades das amêndoas através das enzimas como as proteases, a glicosidade e B-galactosidade atuando em diferentes partes, bem como a polpa e a semente (Silva; Marques; Rezende, 2022). Algumas espécies de fungos podem acabar surgindo nesse processo como os *Aspergillus sp.*, *Fusarium sp* e *Penicillium sp* podem provocar a presença das microtoxinas que são metabólicos tóxicos e para evitar que isso ocorra temos as bactérias LAB que conseguem inibir a produção dos fungos através da produção de 4-hidroxifenilático provocando uma geração de ácido lático levando a diminuição da acidez inibindo o crescimento dos fungos indesejados (Tri Marwati et al., 2021).

6062

Após todo o processo fermentativo as amêndoas são selecionadas para dar seguimento na indústria. Inicialmente ocorre a limpeza dos grãos secos com o uso de peneiras que vão retirar os materiais mais pesados como pedras, metais e insetos (Soares; Oliveira, 2022). Em seguida, tem-se o tratamento térmico na torrefação utilizando fontes de calor, as quais provocam o descasque, separando os grãos das cascas, além do calor causar esse efeito, ele também leva a inativação de enzimas provenientes das bactérias, formando o aroma. Logo depois, o produto passa pela fase da moagem, onde são reduzidas o tamanho de seus grãos, gerando o líquido de cacau, que é uma massa bem densa que seguirá para a próxima etapa de fabricação (Soares; Oliveira, 2022).

O líquido formado segue para as prensas, que é um local onde formam as tortas provenientes dele, através do uso de prensas hidráulicas que possuem um mecanismo que promove um aumento muito grande de pressão, operando entre 50 e 100 MPa. No momento da prensagem é extraído a manteiga de cacau diminuindo, grande parte da gordura que

corresponde entre 53-57% do líquido de cacau para 24-27% no restante da torta prensada. Em seguida, a torta é passada para a pulverização finalizando o processo transformando-a em pó, e se torna muito importante essa fase do processamento nas prensas, pois ela vai diminuir o teor da gordura no produto final permitindo o seu uso em outros produtos como bebidas achocolatadas, massa de bolo, produção de biscoitos e sorvetes (Melo; Orjuela; Guerrero, 2022). O processo do cacau pode ser mostrado conforme a Figura 1.

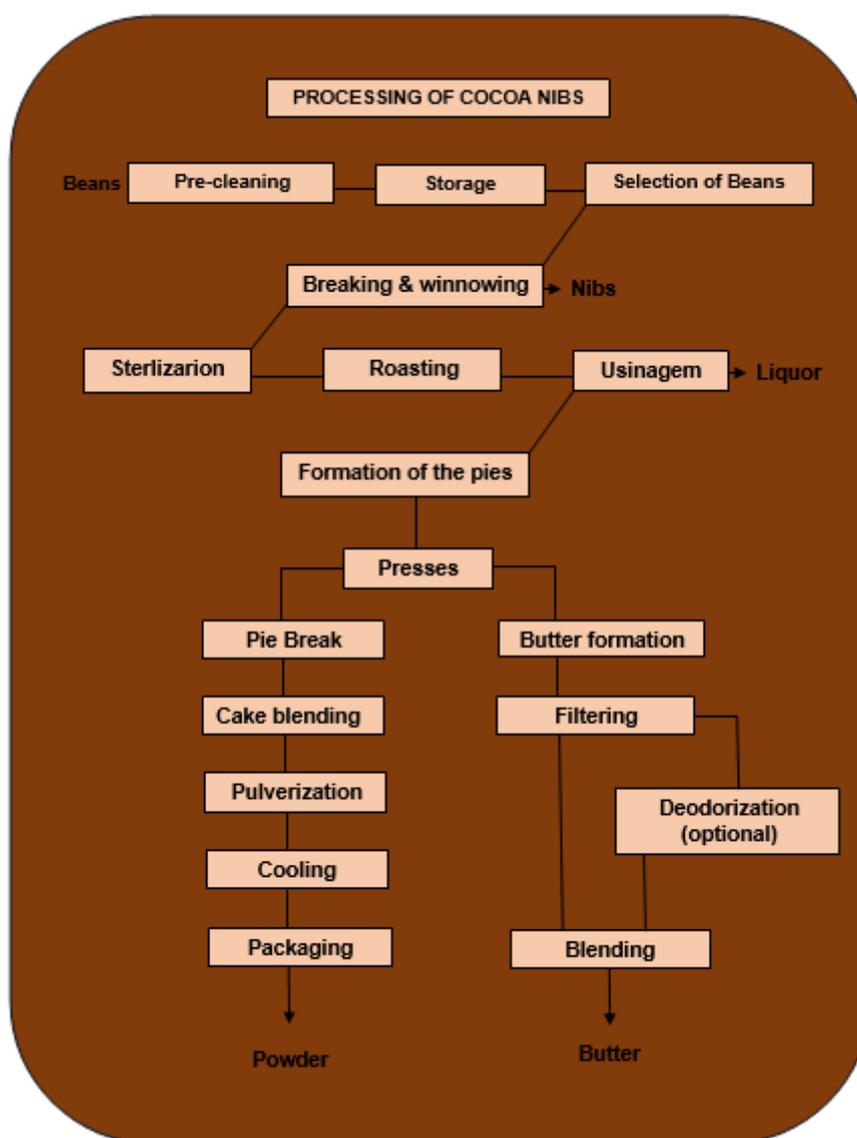


Figura 1: Processo do Nibs de cacau. Para a produção dos produtos provenientes do cacau, primeiro ocorre a pré-limpeza, onde a maior parte das impurezas, como pedras e

folhas, é retirada. Logo após, são armazenados e selecionados os grãos para seguir o processo. Com os grãos escolhidos, são torrados e moídos, formando o liquor na moagem. Em seguida, o liquor é transportado para as prensas, ocorrendo a formação do pó e da manteiga, que são separados para o término da fabricação.

Para que seja garantida boas condições para o produto são realizadas análises durante o todas as fases do processo das amêndoas, incluindo pré-processamento, processamento e pós-processamento, visto que tencionam garantir a segurança alimentar, logo, que a contaminação microbiana é uma das principais preocupações na indústria de alimentos. A presença de patógenos, como *Salmonella* e *E. coli* pode levar a surtos de doenças transmitidas por alimentos, representando um risco significativo para a saúde pública. Além dos riscos para a saúde, a contaminação microbiana também pode ter um impacto direto na qualidade do produto. Diante disso, é essencial a realização de análises sensoriais, físico-químicas e microbiológicas que buscam comprovar que o produto apresenta boas condições para o consumo. Para as análises microbiológicas do cacau, são analisadas a contagem total de aeróbios mesófilos, contagem de bolores e leveduras, detecção de *Salmonella*, detecção e enumeração de coliformes totais, pesquisa de *Staphylococcus* spp. e pesquisa coliformes termotolerantes (“Lista de Análises”, s.d.).

6064

Para o controle adequado do processo, tem-se a movimentação de informações do produto, o que ajuda a serem passadas mais rapidamente, por este fato é essencial que exista um banco de dados para o rastreo, por exigência do International Standardization Organization (ISO) 8402 (ISO, 1994). A facilidade de informações é fundamental para o consumidor rastrear sobre todas as referências do produto que está adquirindo, desde a sua origem, como a umidade presente do processo fermentativo. Esse sistema de rastreo ajuda também a indústria a ter resguardo e o poder de comprovar que seus produtos possuem a qualidade exigida pelo mercado (Tejos et al., 2022).

Esta pesquisa, logo, busca realizar análises microbiológicas das amêndoas do cacau, comparando o perfil microbiano do fruto durante as fases pré e pós processamento na indústria alimentícia, através de metodologias para a contagem de aeróbios mesófilos, bolores e leveduras e enterobactérias nas amêndoas coletadas.

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

Todas as amostras para a análise de qualidade microbiana foram obtidas a partir de uma empresa localizada no sul da Bahia, na primeira metade do ano de 2023. As amostras foram mantidas em um armazém em condições favoráveis para serem averiguadas, em conformidade com a legislação e regulamentação vigentes para dar seguimento no processamento industrial. Após apresentarem condições estéticas favoráveis para análise, foram divididas em duas fases: uma antes do processamento denominada “Nibs Cru” e outra após o processo do reator chamada de “Reator”. Para a coleta, foram utilizados sacos plásticos estéreis e o furão, que é um objeto utilizado para realizar esses tipos de coletas, ele estava devidamente higienizado com o Dodigem a 50% que é um sanitizante muito potente utilizado na limpeza de equipamentos. As amostras coletadas correspondiam a 500g de cada ponto específico, na qual o Nibs Cru foi retirado dos sacos de cacau antes do processamento no reator e a segunda amostra, após a passagem.

## 2.1 Procedimento

As metodologias seguidas estavam de acordo com as ISO 21527-2 para Mofo e leveduras, ISO 4833-1 para contagem de bactérias (TPC) e a ISO 6579-1 para análise de *Salmonella*, na qual a detecção foi de formas quantitativa e qualitativa. No método quantitativo é determinado o número de microrganismos, enquanto o qualitativo detecta a presença ou ausência. Nas duas metodologias foram utilizadas técnica em superfície e em profundidade, sendo a primeira para contagem total de placas (TPC), fungos e leveduras, e enterobactérias (*Salmonella*).

Para o início da análise foram pesadas em dois xotes 10g da amostra, sendo um para nibs cru e o outro a amostra após o reator. No xote continha 90ml de água preptonada para ser realizada a análise de contagem de bactérias (TPC) e para mofo e leveduras. Já para a análise de *Salmonella* foi seguido outro procedimento que não faz o uso de água preptonada.

### 2.1.1 Contagem de bactérias

Na análise de TPC foram selecionadas 6 placas para cada amostra com uma diluição até  $10^{-6}$ , em seguida, conforme o procedimento padronizado pelas ISOs, foi inoculado a primeira diluição na placa de Petri com uma pipeta estéril e logo depois, foi transferida 1 ml do conteúdo do xote para um tubo de 9 ml contendo o mesmo diluente, posteriormente foi

realizada a homogeneização com a mesma pipeta e inoculada em outra placa sendo, então, essa diluição a  $10^{-2}$ . Em seguida, esse processo foi repetido sequencialmente até alcançar a última diluição.

Para essa metodologia, o meio de cultura utilizado foi o *Plate Count Agar* (PCA) que foi preparado seguindo as recomendações do fabricante. Com ele já autoclavado em  $121^{\circ}\text{C}$  por 15 minutos, foi resfriado até a temperatura de  $44-46^{\circ}\text{C}$ , para ser vertido nas placas, logo após, foram realizados movimentos circulares em sentido horário e anti-horário para que o inóculo se homogeneizasse com o ágar, depois foram colocadas separadamente na bancada para que se solidificasse. Após a polimerização, as placas foram incubadas invertidas na estufa a uma temperatura de  $37^{\circ}\text{C}$  por 48 horas.

### 2.1.2 Mofo e leveduras

Para a análise de mofo e leveduras seguiu-se conforme o procedimento, onde foi vertido em placas de Petri o meio Ágar Dicloran Glicerol 18 (DG-18). Logo após, estarem solidificadas foi dado início a análise, na qual foi transferido 1 ml do conteúdo do xote com a água preptonada em três placas, sendo inoculadas em duas 0,3ml e na terceira placa 0,4ml; contabilizando 1ml.

6066

Após esse processo foi utilizado a alça de Drigalski estéril, na qual, espalhou-se o inóculo por toda a superfície do meio seguindo a ordem da diluição. Com a absorção completa do líquido, foi incubada sob refrigeração com a temperatura à  $25^{\circ}\text{C}$  por 5 dias.

### 2.1.3 *Salmonella*

Para análise de *Salmonella* foram realizadas várias etapas: o pré-enriquecimento, enriquecimento seletivo e o plaqueamento seletivo.

#### Pré-enriquecimento

A amostra foi pesada em uma balança de precisão, em um recipiente com saco estéril, na qual, 375g foram da amostra e lhe foram adicionados 3,375L de leite desnatado em forma UHT. Foi realizada a sua homogeneização e incubada com tampa estéril em uma estufa com  $37^{\circ}\text{C}$  por 18h.

### Enriquecimento seletivo

Após o período de incubamento, foram transferidos 0,1ml para 10ml do caldo Rappaport-Vassilidis Soja (RVS) e 1ml para 10ml do Caldo Tetrionato Muller Kauffmann Novobiocina (MKTTn), onde foram incubados respectivamente em 41,5°C por 24h para o caldo RVS e 37°C por 24h para o caldo MKTTn.

### Plaqueamento seletivo

A partir dos caldos seletivos de enriquecimento, repicou-se sobre a superfície previamente seca de placas de Petri com o meio sólido seletivo Ágar Xylose Lysine Deoxycholate (XLD) e o Ágar Mannitol Lysina Crystal Violet Brilliant Green (MLCB), estriando de forma a se obter colônias isoladas com o auxílio de alça bacteriológica com volume de 10 µL. Foram obtidas uma placa para cada meio de cultura de escolha, uma originária do Caldo RVS e outra do Caldo MKTTn. Posteriormente, as placas foram invertidas e incubadas em uma estufa de 37°C por 24h.

As metodologias adotadas para as análises foram selecionadas com o intuito de garantir que os resultados fossem os mais verídicos possíveis, afim de garantir insumos de alta qualidade para o mercado consumidor. Para a representação dos resultados foram utilizadas tabelas e gráficos feitos em planilhas no Microsoft Excel, sendo dessa forma vista como melhor representatividade.

6067

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nesse estudo, foi possível a verificação do processo de esterilização que se mostrou capaz de garantir produtos de acordo com a legislação, porém, não se assegura que não ocorrerá uma contaminação durante o término do processo de sua fabricação, pois o insumo ainda continua sendo transportado para outros equipamentos.

Com as análises foi se possível perceber um alto número de bactérias e de mofo e leveduras na amostra do nibs cru, o que era de se esperar por ser um insumo que não passou por nenhum processo de esterilização, logo possui um alto índice de bactérias provenientes de seu processo fermentativo. Na amostra do reator, segunda fase do processamento também alcançou resultados como o esperado, tendo uma queda brusca na quantidade de

microrganismos.

Os resultados encontrados neste trabalho não estão de acordo com os resultados de Penido et al. (2021) que, ao realizar uma análise microbiológica na fase após a torragem, apresentou o crescimento de Bolores, Leveduras e bactérias mesófilas que, embora em quantidades baixas, indica condições inadequadas durante o processo (Penildo et al., 2021). Apesar deste fato, não implica para a comercialização e uso desse produto, pois se enquadra com os requisitos exigidos pelas regulamentações da indústria de alimentos (ANVISA, 2022).

Por outro lado, Dias et al. (2021) demonstrou que pode haver grande risco de contaminação quando não realizada a Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) em alimentos. Esse sistema que propõe medidas preventivas para intermediar possíveis contaminações que possam ocorrer em alguma parte do processo, identificando possíveis pontos e perigos durante o processo industrial adotando medidas preventivas garantir a qualidade do produto (Dias et al., 2021).

Os resultados para contagem total foram registrados, na qual obteve-se  $2,2 \times 10^6$  ufc/g para amostra do nibs antes da esterilização. Após o processo de esterilização  $<10$  ufc/g. Esse declínio é proveniente das altas fontes de calor que proporcionaram a redução no número de microrganismos. Já para os resultados da análise de mofo e leveduras a primeira amostra apresentou  $1,3 \times 10^4$  ufc/g, enquanto após passagem reator  $<10$  ufc/g. As colônias encontradas possuíam coloração branca nas bordas com centro esverdeado e amarelo, lembrando a um aspecto rugoso, logo foi possível caracterizar o *Penicillium*. No entanto, com tal resultado surge um dilema, pois esse tipo de fungo tem como característica a dispersão de esporos quando em contato com altas temperaturas.

Essa mesma situação foi verificada por T.Eijlander, Robyn et al. (2021), no produto do pó de cacau. No entanto, seus resultados evidenciaram o crescimento predominante de *Bacillus spp.*, uma cepa pertencente à espécie termofílica, capaz de produzir esporos. Também foram encontradas colônias de *Staphylococcus spp* e *Micrococcus luteus* não formadoras de esporos. Isso demonstra que mais estudos precisam ser realizados para compreender a dinâmica desses fungos em processamentos tão relevantes, pois são fundamentais para a fermentação no estágio inicial da formação do nibs de cacau (Lopez, Clemência; Ospina, Johannes, 2021).

6068

Para a *Salmonella* foi realizada uma análise qualitativa, onde apresentou-se como resultado para as duas amostras a ausência desse patógeno, dessa forma não foi necessário seguir com os testes bioquímicos, já que não cresceram colônias características. É de suma importância a sua análise, logo que é uma espécie de bactéria mais conhecida pela sua patogenicidade, já que possuem uma alta taxa de mortalidade. É um componente da família *Enterobacteriaceae* possuindo como características a presença de flagelos, são anaeróbios facultativos, gram-negativos e possuem bacilos não formadores de esporos (Lustosa et al., 2021). A sua transmissão ocorre pela ingestão de alimentos contaminados com o patógeno, na qual os animais transmitem através de suas fezes (Brasil, 2021).

Em alguns estudos sobre a *Salmonella*, Rao, Maria e Tamber, Sandeep (2021) demonstram que está diretamente ligada a condições de higiene. Essa cepa pertence à família *Enterobacteriaceae*, sendo indicativa para essa questão. Outro fato é que, para se desenvolver, é necessário que o alimento possua atividade de água e pH na faixa para o crescimento microbiano. Nesse trabalho, foi exposto o caso que ocorreu no Canadá ocasionando um surto de salmonelose, na qual os doentes ingeriram mini éclairs de chocolate congelados. A principal suspeita é de que algum dos componentes no momento de sua fabricação, devia estar contaminado (Rao, Maria; Tamber, Sandeep, 2021).

6069

Outra pesquisa descrita por Patà et al. (2024) verificou três casos de surtos de Salmonelose em chocolate, ocorridos em décadas diferentes. Os fatores para a sua propagação incluem o baixo teor de água e gordura, o uso de altas temperaturas para a eliminação dessa cepa e a insistência na produção do chocolate por mais de um ano. Esses precedentes são essenciais para a contaminação desse patógeno, sendo necessárias medidas para prevenir os surtos que podem ocorrer (Patà et al., 2024). Abaixo, a figura 2 representa o gráfico referente a comparação de todos esses resultados mencionados neste artigo.

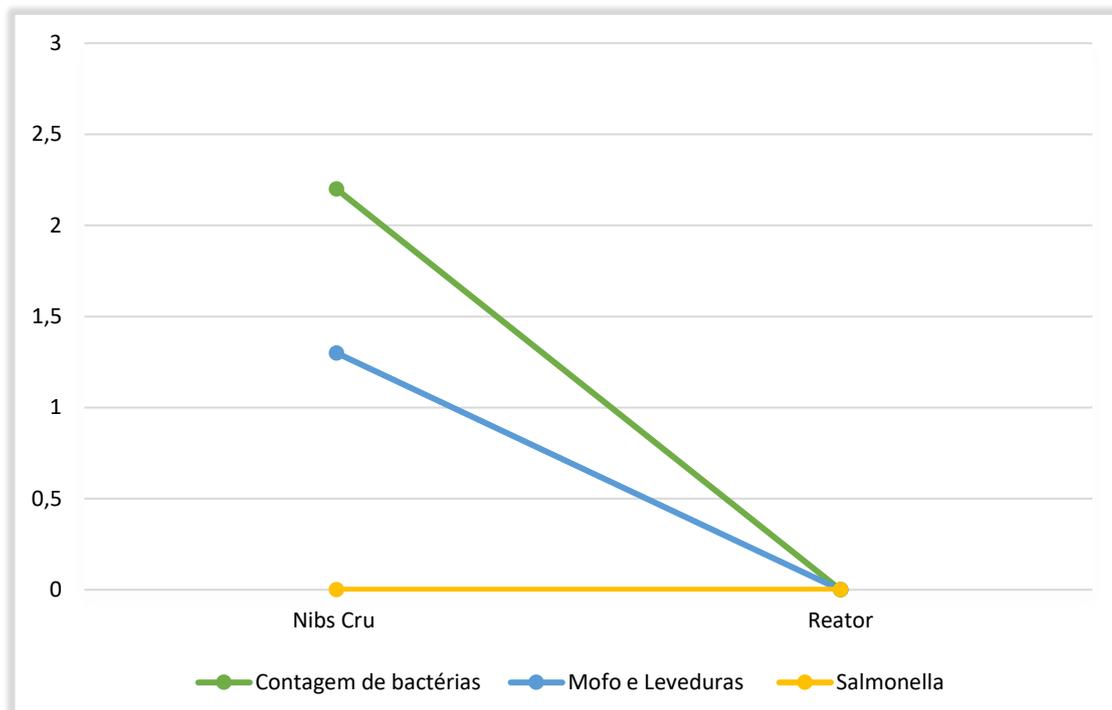


Figura 2: Comparação de resultados. Na figura, há dois itens determinantes para o resultado, sendo o Nibs Cru e o reator, que se encontram próximos ao eixo 0. A contagem para bactérias está representada pela cor verde e posicionada de forma decrescente, indicando o resultado  $<10$  ufc/g. Da mesma forma, segue o resultado para mofo e leveduras representada pela cor azul. Já para o resultado de *Salmonella*, foi representada pela cor amarela, permanecendo no mesmo eixo e indicando o resultado negativo.

6070

## CONCLUSÃO

Com este trabalho averigou-se a quantificação microbiana nas diferentes etapas da produção do cacau em uma indústria localizada na região sul da Bahia constando se ocorre a esterilização do cacau em seu processo produtivo. Os resultados obtidos após o processo de esterilização estão de acordo com o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA).

Logo, temos no estudo a comprovação de que existe contaminação no processo fermentativo antes de passar para as próximas fases na fabricação do produto, visto a necessidade de processar em altas temperaturas para garantir a esterilização do nibs de cacau, assim, evitando a perda do insumo, bem como a garantia de produtos de qualidade. Visto

isso, é importante a implementação de medidas para evitar a contaminação que podem ocorrer até o final do processo, medidas estas:

- A adoção de investigações microbiológicas rigorosas e regulares durante as fases de pré e pós-processamento do cacau é essencial para controlar e prevenir a contaminação microbiana, garantindo a qualidade e segurança dos produtos de cacau.
- A implementação de boas práticas de fabricação (BPF) em todas as etapas do processo de produção de cacau pode reduzir significativamente os riscos de contaminação microbiana e, conseqüentemente, melhorar a qualidade e segurança dos produtos derivados do cacau.
- A rastreabilidade eficaz, que permite o monitoramento detalhado das informações do produto desde as fazendas até a indústria, desempenha um papel fundamental na prevenção da contaminação microbiana e na garantia de que os produtos de cacau atendem aos padrões de qualidade estabelecidos.
- A colaboração entre fazendeiros, investidores, instituições reguladoras e outras partes interessadas é fundamental para criar um sistema de controle de contaminação microbiana abrangente e eficaz, melhorando a qualidade e a segurança dos produtos de cacau.

6071

## REFERÊNCIAS

“A detecção de Salmonella em alimentos para consumo humano e animal”. 2021. *qualidadeonline's Blog* (blog). 5 de maio de 2021. <https://qualidadeonline.wordpress.com/2021/05/05/a-deteccao-de-salmonella-em-alimentos-para-consumo-humano-e-animal/>.

“Alimentos”. 2024. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa. 29 de abril de 2024. <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/alimentos/alimentos>.

Alvarado, Marjun C., Philip Donald C. Sanchez, e Shiella Grace N. Polongasa. 2023. “Emerging rapid and non-destructive techniques for quality and safety evaluation of cacao: recent advances, challenges, and future trends”. *Food Production, Processing and Nutrition* 5 (1): 40. <https://doi.org/10.1186/s43014-023-00157-w>.

Copetti, Marina V., Beatriz T. Iamanaka, Jens C. Frisvad, José L. Pereira, e Marta H. Taniwaki. 2011. “Mycobiota of cocoa: From farm to chocolate”. *Food Microbiology* 28 (8): 1499–1504. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2011.08.005>.

Díaz-Muñoz, Cristian, Dario Van de Voorde, Andrea Comasio, Marko Verce, Carlos Eduardo Hernandez, Stefan Weckx, e Luc De Vuyst. 2021. “Curing of Cocoa Beans: Fine-

Scale Monitoring of the Starter Cultures Applied and Metabolomics of the Fermentation and Drying Steps”. *Frontiers in Microbiology* 11 (janeiro). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.616875>.

Djaafar, Titiek Farianti, Dhea Cynthia Monika, Tri Marwati, Priyanto Triwitono, e Endang Sutriswati Rahayu. 2020. “Microbiology, Chemical, and Sensory Characteristics of Cocoa Powder: The Effect of *Lactobacillus Plantarum* HL-15 as Culture Starter and Fermentation Box Variation”. *Digital Press Life Sciences* 2 (fevereiro):00008. <https://doi.org/10.29037/digitalpress.22332>.

Eijlander, Robyn T., Franziska Breitenwieser, Rosanne De Groot, Erik Hoornstra, Henri Kamphuis, Michiel Kokken, Angelina Kuijpers, et al. 2020. “Enumeration and Identification of Bacterial Spores in Cocoa Powders”. *Journal of Food Protection* 83 (9): 1530–40. <https://doi.org/10.4315/JFP-20-071>.

“Fungi in the Cocoa Production”. s.d. Acedido a 21 de maio de 2024. <https://encyclopedia.pub/entry/9410>.

Gomes, Fernanda, e Maria Cristina Ricci. s.d. “AVALIAÇÃO DOS MÉTODOS DESCRITOS PARA DETECÇÃO DE SALMONELLA SPP EM AMOSTRAS DE CACAU E CHOCOLATE E SUA IMPORTÂNCIA NA SEGURANÇA DE ALIMENTOS”.

6072

Goya, Luis, John Edem Kongor, e Sonia de Pascual-Teresa. 2022. “From Cocoa to Chocolate: Effect of Processing on Flavonols and Methylxanthines and Their Mechanisms of Action”. *International Journal of Molecular Sciences* 23 (22): 14365. <https://doi.org/10.3390/ijms232214365>.

uirlanda, Christiano, Geisa Silva, e Jacqueline Takahashi. 2021. “Caracterização, atributos e potencial de mercado do mel de cacau”. *Research, Society and Development* 10 (abril):e41410413994. <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i4.13994>.

Jornalismo-analytica. 2021. “Artigo científico ED. III | Por que avaliar a microbiota ambiental na indústria de alimentos?” *Revista Analytica* (blog). 25 de março de 2021. <https://revistaanalytica.com.br/artigo-cientifico-ed-iii-por-que-avaliar-a-microbiota-ambiental-na-industria-de-alimentos/>.

“Lista de Análises – Centro de Inovação do Cacau”. s.d. Acedido a 12 de maio de 2024. <https://cic.pctsul.org/lista-de-analises/>.

Lund, Sejal, Maliha Tahir, Laiba Imran Vohra, Amatul Hadi Hamdana, e Shahzaib Ahmad. 2022. “Outbreak of Monophasic *Salmonella* Typhimurium Sequence Type 34 Linked to Chocolate Products”. *Annals of Medicine and Surgery* (2012) 82 (outubro):104597. <https://doi.org/10.1016/j.amsu.2022.104597>.

Melo, Liceth J., Alvaro Orjuela, e Elmer Guerrero. 2022a. “Improvement of industrial processes in Colombia. Case study: Cocoa pressing process in a chocolate factory”. *Chemical Engineering Research and Design* 183 (julho):307–17. <https://doi.org/10.1016/j.cherd.2022.05.013>.

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2020. *Cartilha de boas práticas na lavoura cacaueteira no estado do Pará*. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

Nielsen, Dennis, Michael Crafac, Lene Jespersen, e Mogens Jakobsen. 2013. “The Microbiology of Cocoa Fermentation”. Em *Nutr. Health*, 7:39–60. [https://doi.org/10.1007/978-1-61779-803-0\\_4](https://doi.org/10.1007/978-1-61779-803-0_4).

Patà, Zacharie, Pietro B. Faré, Sebastiano A. G. Lava, Gregorio P. Milani, Mario G. Bianchetti, Simone Janett, Isabella Hunjan, e Lisa Kottanattu. 2024. “Nontyphoidal Salmonella Outbreaks Associated With Chocolate Consumption: A Systematic Review”. *The Pediatric Infectious Disease Journal* 43 (5): 420–24. <https://doi.org/10.1097/INF.0000000000004252>.

Pereira, Ana Paula Maciel, Stéphanie Oriol, Marie-Hélène Guinebretière, Frédéric Carlin, Dionisio Pedro Amorim-Neto, e Anderson S. Sant’Ana. 2024. “Contagens de bactérias formadoras de esporos aeróbias mesofílicas, anaeróbias mesofílicas e aeróbias termofílicas e persistência de esporos de *Bacillus cereus* ao longo da cadeia de processamento do cacau em pó”. *Food Microbiology* 120 (junho):104490. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2024.104490>.

6073

Rao, Mary, e Sandeep Tamber. 2021. “Microbiological analysis of frozen profiteroles and mini chocolate eclairs implicated in a national salmonellosis outbreak”. *Food Microbiology* 100 (dezembro):103871. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2021.103871>.

“Salmonella (Salmonelose)”. s.d. Ministério da Saúde. Acesso em 3 de dezembro de 2023. <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/s/salmonella/salmonella>.

Silva, Adriana Barros de Cerqueira e, Eric de Lima Silva Marques, e Rachel Passos Rezende. 2022. “A Fermentação do cacau e o uso de inóculos leveduriformes / Cocoa fermentation and the use of yeast inoculum”. *Brazilian Journal of Development* 8 (4): 26456–71. <https://doi.org/10.34117/bjdv8n4-245>.

Silva, Flávio santos, Leandro Santos Silva, Flavio pedro dias Barros, abraham d Giraldo Zuniga, e Delson pinto rodrigues Filho. 2021. “Benefícios nutricional e funcional na alimentação humana do consumo de produtos à base de cacau. / Nutritional and functional benefits in human nutrition from the consumption of cocoa products.” *Brazilian Journal of Development* 7 (11): 102629–38. <https://doi.org/10.34117/bjdv7n11-064>.

Soares, Thiago F., e M. Beatriz P. P. Oliveira. 2022a. “Cocoa By-Products: Characterization of Bioactive Compounds and Beneficial Health Effects”. *Molecules* 27 (5): 1625. <https://doi.org/10.3390/molecules27051625>.

“T<sub>1</sub> - APPCC IMPLANTAÇÃO.pdf”. s.d. Acedido a 3 de dezembro de 2023. [https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/5152591/mod\\_resource/content/1/T1%20-%20APPCC%20IMPLANTA%C3%87%C3%83O.pdf](https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/5152591/mod_resource/content/1/T1%20-%20APPCC%20IMPLANTA%C3%87%C3%83O.pdf).

Vanderschueren, Ruth, Daniela Montalvo, Bart De Ketelaere, Jan A. Delcour, e Erik Smolders. 2019. “The elemental composition of chocolates is related to cacao content and origin: A multi-element fingerprinting analysis of single origin chocolates”. *Journal of Food Composition and Analysis* 83 (outubro):103277. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2019.103277>.

Wemheuer, Franziska, Dirk Berkelmann, Bernd Wemheuer, Rolf Daniel, Stefan Vidal, e Herve Bisseleua. 2020. “Agroforestry Management Systems Drive the Composition, Diversity, and Function of Fungal and Bacterial Endophyte Communities in Theobroma Cacao Leaves”. *Microorganisms* 8 (março):405. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8030405>.