

## **Cacau (*Theobroma cacao*): Uma visão geral de pesquisas atuais sobre os aspectos botânicos, fitoquímicos e farmacológicos**

**Cocoa (*Theobroma cacao*): An overview of current research on botanical, phytochemical and pharmacological aspects**

**Cacao (*Theobroma cacao*): Una visión general de la investigación actual sobre aspectos botánicos, fitoquímicos y farmacológicos**

Recebido: 06/05/2024 | Revisado: 16/05/2024 | Aceitado: 17/05/2024 | Publicado: 20/05/2024

**Elizabete Lobato Galvão**

ORCID: <https://orcid.org/0009-0002-0090-167X>  
Faculdade Cosmopolita, Brasil  
E-mail: elizalobato.0013@gmail.com

**Juliane Virginio Silvestre**

ORCID: <https://orcid.org/0009-0005-2911-2801>  
Faculdade Cosmopolita, Brasil  
E-mail: julianevirginiosilvestre.23@gmail.com

**Jorddy Neves Cruz**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0529-3714>  
Faculdade Cosmopolita, Brasil  
E-mail: jorddynevescruz@gmail.com

**Natasha Cristina Silva da Silva**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3107-8460>  
Universidade Federal do Pará, Brasil  
E-mail: natashacsilva@gmail.com

### **Resumo**

**Objetivos:** Evidenciar compostos fitoquímicos presentes no cacau e correlacioná-los com as atividades farmacológicas da espécie vegetal. Devido a sua ampla utilização e ao seu potencial terapêutico, esta espécie foi investigada, produzindo dados que foram organizados e dispostos nesta revisão, a fim de fornecer uma visão geral de diferentes aspectos do *Theobroma cacao*. **Metodologia:** Consiste em uma revisão integrativa de literatura para analisar artigos publicados entre 2014 a 2024 encontrados nas bases de dados virtuais: National Library of Medicine (PubMed), ScienceDirect, Scientific Electronic Library Online (SciELO) e Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS) utilizando os descritores em inglês e português: “*Theobroma cacao*, Uso tradicional, Botânica, Composição química, Atividade farmacológica” e suas combinações, refinando os achados com operador booleano AND e OR. **Resultados:** No período da busca inicial foram encontrados 2.887 artigos, sendo 123 destas publicações potencialmente elegíveis de acordo com os critérios de inclusão e exclusão adotados na revista, após a leitura dos resumos restaram 35 e desses apenas 4 artigos foram selecionados para análise. Sendo assim, 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.

**Palavras-chave:** Cacau; Compostos fitoquímicos; Polifenóis.

### **Abstract**

**Objectives:** To highlight phytochemical compounds present in cocoa and correlate them with the pharmacological activities of the plant species. Due to its wide use and its therapeutic potential, this species was investigated, producing data that were organized and arranged in this review, in order to provide an overview of different aspects of *Theobroma cacao*. **Methodology:** It consists of an integrative literature review to analyze articles published between 2014 and 2024 found in the virtual databases: National Library of Medicine (PubMed), ScienceDirect, Scientific Electronic Library Online (SciELO) and Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS) using the descriptors in English and Portuguese: “*Theobroma cacao*, Traditional use, Botany, Chemical composition, Pharmacological activity” and their combinations, refining the findings with the Boolean operator AND and OR. **Results:** During the initial search period, 2,887 articles were found, 123 of these publications being potentially eligible according to the inclusion and exclusion criteria adopted in the journal. After reading the abstracts, 35 remained and of these, only 4 articles were selected for analysis. Therefore, the articles showed that the *T. cacao* species is rich in

polyphenols and methylxanthines, which have antimicrobial, antioxidant and cognitive capabilities. Thus, understanding these aspects may open new perspectives for the development of dietary and pharmacological interventions aimed at preventing or treating neurodegenerative disorders and improving overall quality of life.

**Keywords:** Cocoa; Phytochemical compounds; Polyphenols.

### Resumen

**Objetivos:** Destacar los compuestos fitoquímicos presentes en el cacao y correlacionarlos con las actividades farmacológicas de las especies vegetales. Debido a su amplio uso y su potencial terapéutico, se investigó esta especie, generando datos que se organizaron y ordenaron en esta revisión, con el fin de brindar una visión general de diferentes aspectos de *Theobroma cacao*. **Metodología:** Consiste en una revisión integrativa de la literatura para analizar artículos publicados entre 2014 y 2024 encontrados en las bases de datos virtuales: Biblioteca Nacional de Medicina (PubMed), ScienceDirect, Scientific Electronic Library Online (SciELO) y Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS) utilizando los descriptores en inglés y portugués : "Theobroma cacao, Uso tradicional, Botánica, Composición química, Actividad farmacológica" y sus combinaciones, refinando los hallazgos con el operador booleano AND y OR. **Resultados:** Durante el período de búsqueda inicial se encontraron 2.887 artículos, siendo 123 de estas publicaciones potencialmente elegibles según los criterios de inclusión y exclusión adoptados en la revista, luego de la lectura de los resúmenes, quedaron 35 y de estos, sólo 4 artículos fueron seleccionados para el análisis. . Por tanto, los artículos demostraron que la especie *T. cacao* es rica en polifenoles y metilxantinas, que tienen capacidades antimicrobianas, antioxidantes y cognitivas. Por tanto, comprender estos aspectos puede abrir nuevas perspectivas para el desarrollo de intervenciones dietéticas y farmacológicas destinadas a prevenir o tratar trastornos neurodegenerativos y mejorar la calidad de vida en general.

**Palabras clave:** Cacao; Compuestos fitoquímicos; Polifenoles.

## 1. Introdução

O gênero *Theobroma* (Malvaceae) compreende dez espécies vegetais brasileiras, porém apenas três destas são cultivadas no estado do Pará, sendo elas: *Theobroma cacao*, *T. grandiflorum* e *T. subincanum*, todas apresentam valor econômico para o estado (Instituto Agrônomo do Norte, 1949). Dentre estas, destaca-se o *Theobroma cacao*, popularmente conhecido como cacau, cacao ou cacau verdadeiro (Ramôa, 2011). Nativo das áreas da várzea, o cacau é cultivado há mais de 400 anos na região do Baixo Tocantins. No entanto, foi na região Transamazônica que o cacau ganhou expansão (CEPLAC, 2023).

É um fruto de grande importância econômica. Da sua polpa fresca prepara-se o suco e o sorvete, a partir das sementes obtêm-se o líquido e chocolate, e dos seus subprodutos teremos a manteiga de cacau (Ramôa, 2011). No Brasil, foram produzidas 270 mil toneladas de amêndoas de cacau no ano de 2020 e 2021, de acordo com o Instituto Nacional de Geografia e Estatística (IBGE). Aproximadamente 150 mil dessa produção é da Região Norte, sendo o Pará o responsável por 96% dessa produção (IBGE, 2022). O Pará produz cerca de 50% de todo cacau comercializado e representa um dos maiores polos de cacau em todo o mundo (CEPLAC, 2023).

O *Theobroma cacao* L. apresentam atividades antioxidantes (Oracz e Nebesny, 2016; Decroix *et al.*, 2017), antimicrobianas (Santos *et al.*, 2014; Lawal To *et al.*, 2014) e função cognitiva (Martin *et al.*, 2020; Tuentner *et al.*, 2018). Os polifenóis encontrados na semente do cacau, apresentam propriedades biológicas, como efeito antioxidante, antiproliferativa, antiapoptótica, antiinflamatória e anticancerígena. O cacau e seus derivados, como o chocolate, são ricos em flavonoides, também pode atuar como um nutracêutico para auxiliar no tratamento de distúrbios cardíacos, doenças do sistema nervoso, problemas de circulação, dispepsia, entre outros. (Decroix *et al.*, 2017). Além do chocolate, as cascas da amêndoa do cacau é um subproduto com elevado teor de compostos bioativos antioxidantes e podem ser benéficos para a saúde (Silva., 2022; Chavez Aguilar & Vila Castro, 2017).

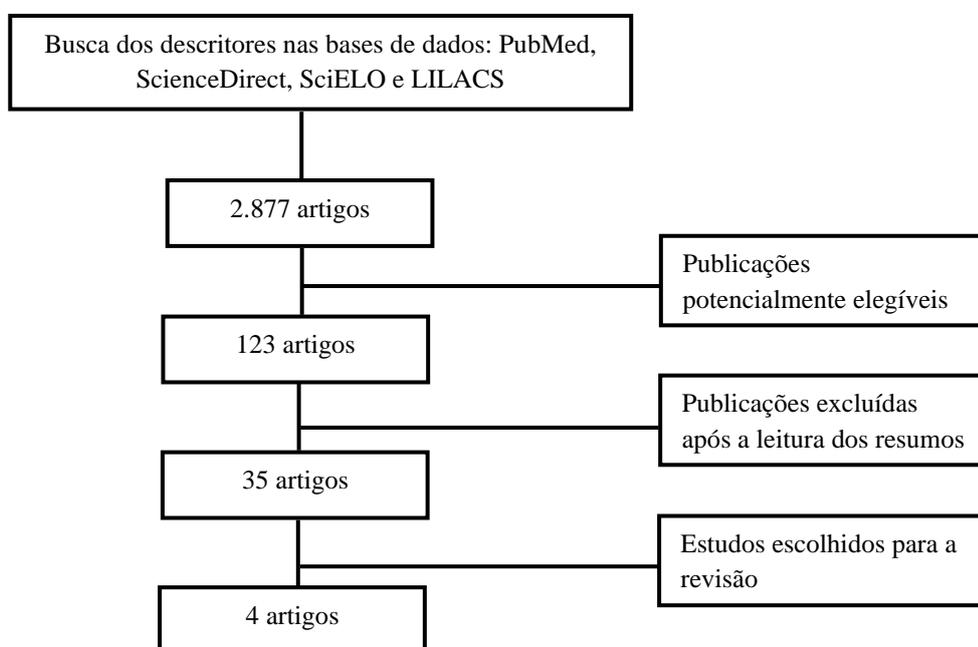
Sendo assim, neste artigo, temos como objetivo evidenciar compostos fitoquímicos presentes no cacau e correlacioná-los com as atividades farmacológicas da espécie vegetal. Devido a sua ampla utilização e ao seu potencial terapêutico, esta espécie foi investigada, produzindo dados que foram organizados e dispostos nesta revisão, a fim de fornecer uma visão geral de diferentes aspectos do *Theobroma cacao*.

## 2. Metodologia

O presente estudo trata-se de uma revisão integrativa da literatura, cujas etapas se procederão de maneira contínua e compreensível. Os critérios de Soares *et al.*, (2018) foram utilizados como base para estruturar as etapas deste estudo. As bases de dados National Library of Medicine (PubMed), ScienceDirect, Scientific Electronic Library Online (SciELO) e Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS) foram utilizadas para a pesquisa sobre o tema. Nessas bases de dados foram utilizadas as seguintes palavras chaves: “*Theobroma cacao*”, “Uso tradicional”, “Botânica”, “Composição química”, “Atividade farmacológica”. A chave de busca foi criada utilizando os operadores booleanos “OR” e “AND”. Os seguintes critérios de inclusão foram usados: artigos publicados em português e inglês durante os anos de 2014 e 2024. Toda literatura cinzenta foi excluída.

Foram encontrados 2.877 artigos durante a primeira busca, 123 elegíveis por serem possivelmente relevantes, 35 restaram após a leitura dos resumos e destes, 4 artigos foram selecionados para o estudo (Figura 1).

**Figura 1** – Fluxograma das etapas da seleção dos artigos.



Fontes: Autores (2024).

## 3. Resultados e Discussão

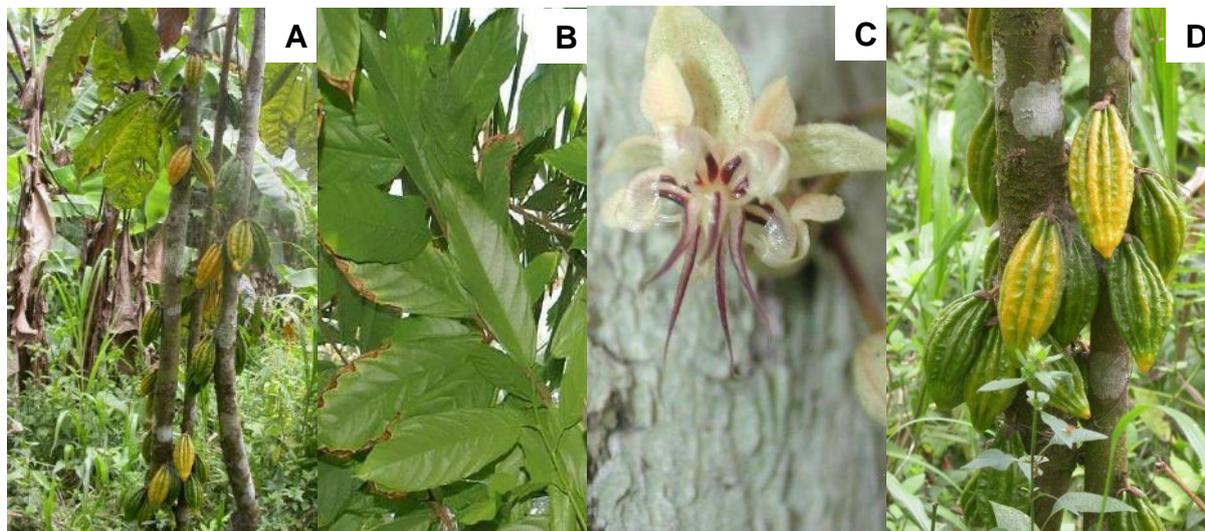
### 3.1 Aspectos botânicos

*Theobroma cacao* é natural da América Central, como o México, e América do Sul, como a Guiana Francesa à Bolívia, incluindo a Amazônia brasileira (Jean-Marie *et al.*, 2022). A espécie vegetal se caracteriza por ser uma árvore perene de pequeno porte (Figura 2.A), que pertence à família Malvaceae, gênero *Theobroma* e espécie *Cacao*, conhecido mundialmente e popularmente como a principal matéria-prima do chocolate, podendo atingir entre 4 a 8 metros de altura. As plantas da família Malvaceae apresentam folhas de formato alongado, medindo em média 15-25 cm de comprimento por 8-10 cm de largura (De souza *et al.*, 2018; Jean-Marie *et al.*, 2022; Figura 2.B).

As flores formam-se em inflorescências nos ramos lenhosos, de onde se desenvolvem e frutificam. São flores hermafroditas com a seguinte constituição: cinco pétalas, cinco estames curvados para fora e um ovário superior contendo cinco óvulos, nascem unidas ao tronco no período de abril a dezembro (De Souza *et al.*, 2018; Figura 2.C). Os frutos do cacau são oblongos, as vagens do cacau variam de 10-32 cm de comprimento, com a superfície possuindo sulcos

longitudinais, durante o amadurecimento suas cores variam de verde a vermelho ou então, uma mistura dessas cores, contendo polpa mucilaginosas envolvidas em fileiras de sementes avermelhada, a produção dos frutos ocorre entre abril a dezembro (Figura 2.D). As sementes do cacau podem variar em formas elíptica ou ovóide de 2-4 cm de comprimento. O embrião possui dois cotilédones com coloração que se diferenciam em branco ao violeta (Jean-Marie *et al.*, 2022).

**Figura 2** – (A) Árvore, (B) folhas, (C) flor e (D) frutos de *Theobroma cacao*.



Fonte: Adaptado de Trópicos (2024).

## 3.2 Aspectos fitoquímicos

### 3.2.1 Macronutrientes e micronutrientes

O *Theobroma cacao* apresenta uma ampla composição de macronutrientes e micronutrientes (Tabela 1) que se diversificam conforme sua sazonalidade, cada parte vegetativa apresenta variações em seus constituintes, sendo elas essenciais para o seu metabolismo, por exemplo, no cacau, 48% das funções das proteínas são usadas para metabolismo e energia, 13% para síntese de proteínas e aproximadamente 8% e 7% para transporte de membrana e defesa (Jean-Marie *et al.*, 2022).

**Tabela 1** - Teor de macronutrientes e micronutrientes (%) de acordo com a parte vegetativa da espécie *T. cacao*.

Órgãos Vegetativos e Reprodutores	Minerais	Carboidratos	Proteínas	Lipídeos	Referências
Polpa	-	≅ 17,1%	≅ 0,93%	≅ 0,38%	De Souza <i>et al.</i> , 2018.
Semente	≅ 8%	≅ 0,09%	≅ 14,1%	≅ 40%	Pinto, 2013; De Souza <i>et al.</i> , 2018; Jean-Marie <i>et al.</i> , 2022.
Casca	≅ 25,18%	≅ 32%	≅ 8,6%	≅ 1,50%	Pinto, 2013; De Souza <i>et al.</i> , 2018; Jean-Marie <i>et al.</i> , 2022.

Fontes: Autores (2024).

#### Carboidratos

A taxa de carboidratos na polpa de cacau representa cerca de ≅ 17,1%, sendo a sacarose o principal açúcar, e que varia de 6,62 a 8,22 g, seguida da frutose que varia de 4,41g a 5,95g e glicose 3,72 a 5,29 g. A semente apresenta uma

quantidade de  $\cong 0,09\%$ , onde a frutose é a que exhibe maior abundância de 16,82 a 66,43 g, seguido da glicose com quantidade de 21,09 a 61,94 g. Já na casca há uma quantidade de carboidratos totais de aproximadamente 32% (De Souza *et al.*, 2018).

#### Proteínas

O teor proteico da polpa de cacau é cerca de  $\cong 0,93\%$ . Nas sementes o teor proteico apresenta cerca de  $\cong 14,1\%$ . E nas cascas há 8,6% de proteínas. Nas cascas e sementes os aminoácidos totais apresentam um teor de 11,6 a 0,9% (De Souza *et al.*, 2018; Jean-Marie *et al.*, 2022).

#### Lipídios

A quantidade de lipídeos na polpa de cacau corresponde a  $\cong 0,38\%$ . Na semente contém cerca de  $\cong 40\%$  do seu peso. Na casca possui 1,50% de lipídios, sendo eles, os ácidos graxos essenciais humanos relatados, como os ácidos palmítico, esteárico, araquídico, linoleico e o pentadecanóico (De Souza *et al.*, 2018; Jean-Marie *et al.*, 2022).

#### Minerais

A composição mineral do cacau representa cerca de  $\cong 3-6\%$  entre eles, nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg) e enxofre (S). A avaliação química da casca do cacau colhidas e secas a 70 °C demonstra as seguintes quantidades dos minerais: 1,20 g kg<sup>-1</sup> de N; 1,10 g kg<sup>-1</sup> de P; 3,88 g kg<sup>-1</sup> de K; 0,52 g kg<sup>-1</sup> de Ca e 0,36 g kg<sup>-1</sup> de Mg. Os micronutrientes presentes nas amêndoas de cacau, apresenta resultados de que a quantidade de N, P, K, Ca, Mg, foram respectivamente de 25,4; 3,7; 5,3; 2,2; 3,4 g kg<sup>-1</sup>, e Fe, Zn, Cu e Mn com teor de 570,3; 241,7; 49,2 e 25,8 mg kg<sup>-1</sup> (Pinto, 2013).

### 3.2.2 Metabólitos secundários

O cacau é documentado na literatura, como fonte de polifenóis e metilxantinas, os quais são biologicamente ativos e benéficos para a saúde humana (Ceri *et al.*, 2019; Tabela 2). Esses compostos são metabólitos secundários encontrados principalmente nas cascas e sementes, armazenados nas “células de pigmento”, os cotilédones (Jean-Marie *et al.*, 2022).

**Tabela 2** - Substâncias caracterizadas da espécie *T. cacao*.

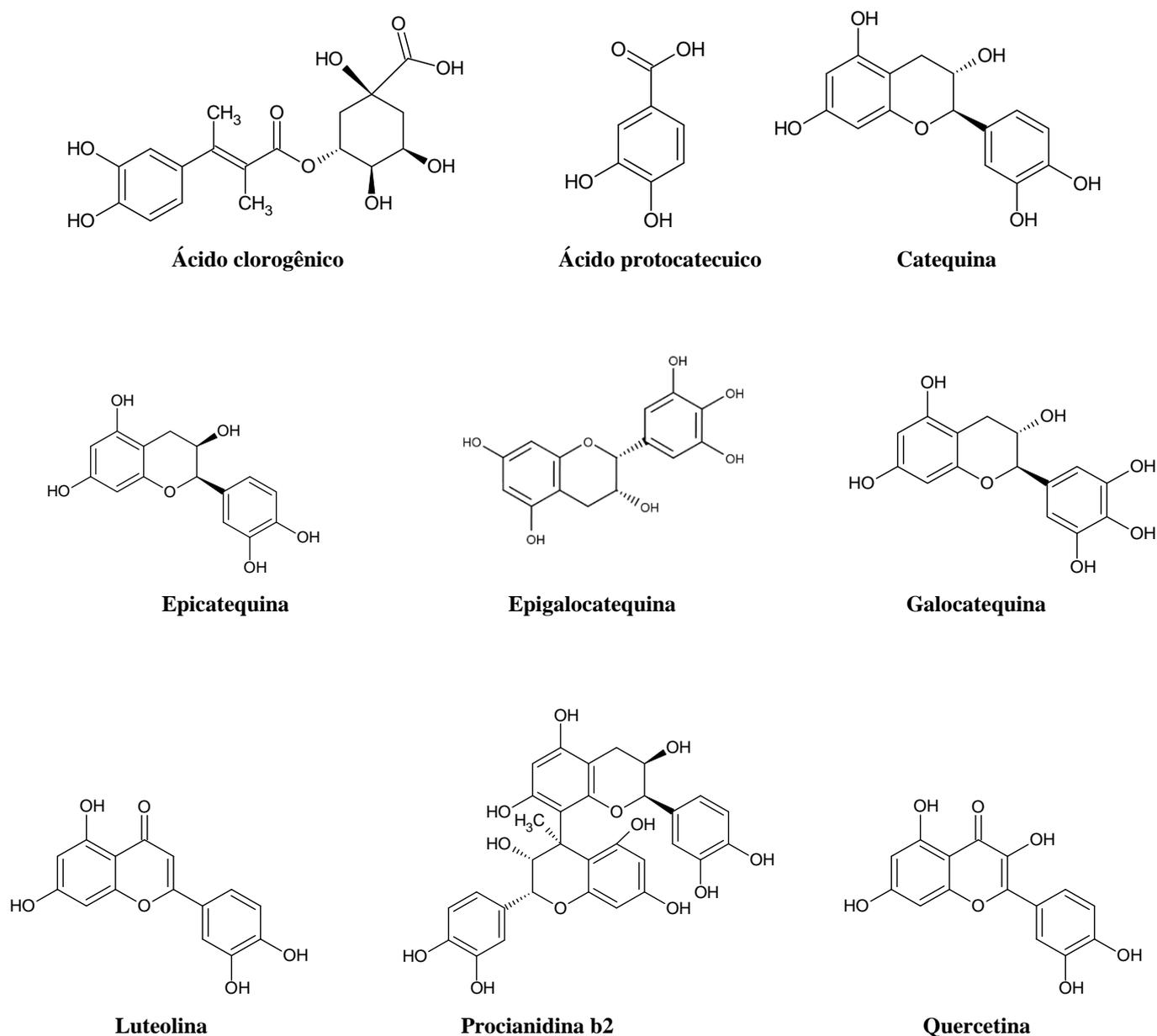
Órgão vegetativo e reprodutores	Classificação	Substâncias	Referências
Semente	Polifenóis	Ácido clorogênico Ácido protocatecuico Epicatequina Epigallocatequina Galocatequina Procianidina b2	Ramos-Escudero <i>et al.</i> , 2021; Jean-Marie <i>et al.</i> , 2022
	Metilxantinas	Cafeína Teobromina Teofilina	Grases & Costa-Bauza, 2014; Jean-Marie <i>et al.</i> , 2022
Casca	Polifenóis	Ácido clorogênico Catequina Epicatequina Luteolina Quercetina	Ramos-Escudero <i>et al.</i> , 2021; Jean-Marie <i>et al.</i> , 2022

Fontes: Autores (2024).

### Polifenóis

Os polifenóis existentes nas cascas e sementes do cacau são reportados na literatura como os mais abundantes, os quais são: as epicatequinas, classificadas como flavan-3-ols com base em sua estrutura, e são os componentes fenólicos mais predominantes do cacau, contêm principalmente epicatequina monomérica (-) e (+) catequina, galocatequina e epigalocatequina. A epicatequina representa aproximadamente 35% do conteúdo total de polifenóis presente nos grãos de cacau (Ceri *et al.*, 2019; Ramos-Escudero *et al.*, 2021). Outros polifenóis predominantes nas sementes do cacau são: Luteolina, procianidina b2, quercetina, ácido clorogênico e ácido protocatecuico (Figura 3). Vale ressaltar que a quantidade de polifenóis presente no cacau varia de acordo com alguns fatores como solo, condições de cultivo, fatores ambientais e operações de processamento. Além de existir diversificação de seu conteúdo entre as espécies do mesmo gênero (Ramos-Escudero *et al.*, 2021; Jean-Marie *et al.*, 2022).

**Figura 3** - Estrutura química dos polifenóis da espécie *T. cacao*.



Fonte: Autores (2024).

### Metilxantinas

As principais metilxantinas encontradas no cacau em maior quantidade são teobromina e cafeína, e em menor a teofilina (Grases & Costa-Bauza, 2014; Jean-Marie *et al.*, 2022; Figura 4). Os grãos de cacau são a fonte mais concentrada de teobromina. A teobromina e a cafeína fazem parte de um grupo de substâncias que foram amplamente revisadas em relação à cognição e ao desempenho mental. As metilxantinas (teobromina e cafeína) são compostos presentes em café, chá, chocolate e seus derivados. Teobromina, é o principal composto bioativo das metilxantinas de *Theobroma cacao* L. e é responsável pelo sabor amargo desta fruta. Quimicamente conhecida como (3,7-dimetilxantina ou 3,7-di-hidro-3,7-dimetil-1H-purina-2,6-diona), quando pura, é semelhante a um pó branco, solúvel em ácidos e bases, possui solubilidade em água e álcool etílico e apresenta insolubilidade em éter etílico. A cafeína é um alcalóide, uma substância sólida cristalina com coloração branca e de sabor amargo, possui propriedades psicoativas e estimuladora. Mas a dosagem de cafeína modifica conforme as operações de processamento e a espécie de *T. cacao* (Bardón Centurión *et al.*, 2017; Bardella *et al.*, 2018).

**Figura 4** - Estrutura química das metilxantinas da espécie *T. cacao*.



Fontes: Autores (2024).

## 3.3 Aspectos farmacológicos

### 3.3.1 Atividade antimicrobiana

O *Theobroma cacao* juntamente com seus subprodutos é um fruto consumido como alimento em todo mundo. A espécie têm demonstrado benefícios no tratamento de doenças, sendo possuidor de altas concentrações de polifenóis e outros antioxidantes, assim como também, é relatado que esta espécie vegetal possui atividades antimicrobianas contra microrganismos patogênicos (Lawal To *et al.*, 2014). Tanto que, o extrato bruto da casca de *T. cacao*, foi testado *in vitro* e demonstrou que os seus metabólitos possuem atividade contra quatro cepas gram-negativas de relevância médica, as quais são *Pseudomonas aeruginosa* e *Salmonella choleraesuis*, como também atividade antifúngica contra as cepas *Moniliophthora perniciosa* e *Saccharomyces cerevisiae*. Sendo que, a atividade antimicrobiana, inibição de crescimento e o teste de Concentração Inibitória Mínima (CIM), revelou uma alta atividade inibitória para *P. aeruginosa* e *S. choleraesuis* com apenas 5 mg/mL. Enquanto, para bactérias gram-positivas, o extrato da casca não foi eficaz para essa inibição. Bactérias gram-positivas e gram-negativas geralmente diferem nas características da parede celular que está associado com as características da superfície e propriedades de permeabilidade. O provável composto químico ou grupo de compostos responsáveis pela ação bactericida específica do extrato bruto da casca sobre bactérias gram-negativas pode ter sido extraído do solvente polar (água). É bem conhecido que a membrana externa que envolve a parede celular de bactérias gram-negativas facilita a difusão de compostos hidrofílicos através de seus canais de proteínas, especialmente porinas com características hidrofílicas (Santos *et al.*, 2014).

Se tratando das sementes de *T. cacao*, esta parte vegetativa dispõe de compostos químicos que apresentam atividades bactericidas. O extrato metanólico das sementes foi utilizado contra 12 cepas isoladas de *Helicobacter pylori*. A Concentração Inibitória Mínima (CIM) foi realizada em variações de 80 mg/mL e 90 mg/mL, tal atividade foi comparada com as drogas de controle ofloxacina e gentamicina em altas concentrações, pois são microrganismos resistentes em baixas concentrações. O potencial antibacteriano das sementes desta espécie se atribui aos compostos secundários como saponinas, alcalóides e antraquinonas. Os alcalóides encontrados nesta espécie vegetal apresentam atividades na doença gástrica e duodenal, bem como capacidade preventiva de ulcerações. Este estudo também demonstrou a capacidade deste derivado vegetal de penetrar na parede celular de bactérias gram-negativas, como *Helicobacter pylori*, e interagir com componentes celulares para inibir seu crescimento e proliferação (Lawal To *et al.*, 2014).

### 3.3.2 Função cognitiva

O *Theobroma cacao* é possuidor de uma alta concentração de polifenóis dietéticos, especificamente os flavonoides monoméricos como (-)-epicatequina e (+)-catequina, como também seus dímeros procianidinas B2 e B1. O consumo de alimentos ricos em flavonoides foi evidenciado por meio de estudos clínicos em humanos uma eficácia no desempenho da cognição, principalmente na população idosa sendo esta, mais suscetível a apresentar declínios cognitivos (Martin *et al.*, 2020). Os efeitos benéficos dos flavonoides e sua classe atuam no sistema nervoso central através de sinalizações específicas, o flavonol mais abundante do cacau responsável por esses efeitos, é a epicatequina a qual atua reduzindo os processos neurodegenerativos e da neuroinflamação, além disso, estimulam a neurogênese e a angiogênese no hipocampo (Tuenter *et al.*, 2018).

As pesquisas individuais revelam que consumir cacau pode ter impactos positivos em diversos aspectos cognitivos. Estudos apontam que após a ingestão, é possível observar um aumento no fluxo sanguíneo cerebral ou na oxigenação do sangue cerebral. Além disso, jovens adultos que consomem os flavonoides do cacau apresentam um desempenho cognitivo melhor, juntamente com níveis mais elevados de neurotrofinas (Martin *et al.*, 2020). Em um estudo randomizado, revelou que o consumo diário de bebidas lácteas de cacau enriquecidas com concentrações de flavonoides (FC) apresentou melhoras no desenvolvimento cognitivo em idosos, o qual não foi avaliado nenhum tipo de efeito adverso. Além do mais, o consumo contínuo de cacau em alimentos dietéticos ricos em flavonoides auxilia na melhora cognitiva (Mastroiacovo *et al.*, 2015). Apesar do cacau ser especialmente rico em flavonoides, uma subclasse de uma vasta categoria de compostos, em comparação com outras fontes de alimentos, parece que os benefícios para a cognição são comuns a diversos tipos de flavonoides, e não específicos apenas a esta classe. Mesmo que os flavonoides tenham um papel essencial na melhora cognitiva proporcionada pelo cacau, é pouco provável que apenas estes compostos sejam responsáveis pelos efeitos positivos ligados à cognição, considerando a reputação única do cacau e do chocolate (Tuenter *et al.*, 2018).

### 3.3.3 Atividade antioxidante

Os polifenóis são considerados em várias investigações os constituintes bioativos do *T cacao*, e com propriedades antioxidantes mais importantes do grão de cacau e seus derivados. Os compostos fenólicos realizam um papel significativo na formação das propriedades sensoriais dos grãos de cacau e dos produtos derivados de seu processamento, devido às interações com polissacarídeos, proteínas e outros polifenóis. As altas propriedades antioxidantes dos grãos de cacau cru e dos produtos de cacau ricos em flavonóis estão geralmente relacionadas ao teor de flavon-3-óis em grandes quantidades, principalmente (-)-epicatequina e (+)-catequina, bem como procianidinas oligoméricas e poliméricas (Oracz *et al.*, 2015).

Outros compostos fenólicos que também são encontrados nos grãos desta espécie vegetal são sobretudo antocianinas (cianidina-3-O-arabinosídeo e cianidina-3-O-galactósido), bem como flavonóis (aglicona de quercetina e seus glicosídeos),

flavonas e fenóis (clovamida e deoxicloramida). Muitos flavonoides, como as procianidinas, exibem alta atividade antioxidante, raptando radicais livres, quelando íons metálicos, ligando-se a proteínas e inibindo enzimas que geram radicais superóxidos (Kothe *et al.*, 2013). As propriedades antioxidantes destes compostos dependem da intensidade de polimerização e da substituição dos grupos de hidroxila (Lagouri *et al.*, 2014). Os teores elevados de compostos antioxidantes nos grãos de cacau são responsáveis por seu importante papel na prevenção de doenças (Oracz *et al.*, 2015).

Em um estudo, o extrato metanólico de *T.cacao* foi testado *in vitro* para determinar a capacidade antioxidante dos grãos. Foram utilizados diferentes métodos, como o ensaio de 2,2-difenil-1-picrilidrazila (DPPH), de potência antioxidante redutora férrica (FRAP) e de 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico - ABTS). Neste estudo foram observados resultados distintos para os ensaios de DPPH, FRAP e ABTS, respectivamente nas amostras de grãos de cacau crus (P4), grãos de cacau torrados (R15) e grãos de cacau desengordurados. Foi analisado que conforme a pressão de expansão aumentava, a capacidade antioxidante dos grãos de cacau expandidos diminuía. No entanto, nas amostras de sementes desengorduradas a capacidade antioxidante mostrou-se mais elevada em comparação com as amostras que passaram pelo processo de torrefação e folhagem. Isso acontece devido aos compostos antioxidantes estarem mais concentrados na parte sólida do cacau (Hu *et al.*, 2016).

As informações dos artigos escolhidos foram organizadas em uma tabela (Tabela 3), discorrendo a atividade biológica, parte do vegetal/ derivado vegetal/ concentração, tipo de estudo/ método/ ensaio, efeitos observados, composto químico/ substância(s) responsável e, autoria e ano de publicação. Os artigos consistem em estudos experimentais desenvolvidos em seres humanos, animais e em estudos *in vitro* com o objetivo de observar as evidências científicas da espécie *T. cacao*.

**Tabela 3** – Artigos definidos para esta revisão.

Atividade biológica	Parte do vegetal / Derivado vegetal	Tipo de estudo / Método / Ensaio	Efeitos observados	Composto químico / Substância(s) responsável	Autoria e Ano de publicação
Antimicrobiana	Casca/ Extrato bruto e subfrações	<i>In vitro</i>	A fermentação aeróbica espontânea da casca de cacau produz um extrato bruto da casca (CHE) com atividade antimicrobiana, observando-se atividade inibitória mais forte do extrato de CHE contra <i>Pseudomonas aeruginosa</i> e <i>Salmonella choleraesuis</i> com CIM de 5,0 mg/mL. Das 12 frações, apenas CHE8, CHE9 e CHE12 foram eficazes contra duas bactérias: Gram-negativas <i>S. choleraesuis</i> (CIM de 1,0 mg/mL) e Gram-positivo <i>S. epidermidis</i> , (CIM de 2,5 mg/mL).	CHE continha alcaloides e compostos fenólicos. A fração CHE8 apresentava flavonoides, compostos fenólicos, esteróides e terpenos. CHE9 constituía-se dos mesmos compostos citados, e CHE12 abrangia os mesmos, com exceção dos flavonoides.	Santos <i>et al</i> (2014)
	Sementes/ Extrato metanólico	<i>In vitro</i>	Atividade antibacteriana de amplo espectro do extrato metanólico das sementes de <i>T. cacao</i> na concentração teste de 100 mg/mL contra cepas de <i>Helicobacter pylori</i> . A cepa BAA029 exibiu a maior suscetibilidade (17±0,0 mm) e observou-se que a atividade bactericida é dependente do tempo e da dose/concentração, pois a redução percentual na contagem viável da população sobrevivente aumentou com o aumento do tempo de exposição e concentração dos extratos. O extrato metanólico continha altas quantidades de alcaloides e cardenolídeos, com baixa concentração de antraquinonas e saponinas enquanto os taninos estavam ausentes.	As propriedades antimicrobianas exibidas pela espécie vegetal podem ser atribuídas à presença de taninos, saponinas, cardenolídeos e, principalmente, alcalóides e antraquinonas detectados pelos autores.	Lawal <i>et al</i> (2014)
Função Cognitiva	Sementes/ Bebidas lácteas de cacau	Estudo duplo-cego, randomizado	As bebidas continham teor de macronutrientes, minerais, teobromina e cafeína, variando significativamente apenas no teor de FCs. Observou-se que o consumo de bebidas com a concentração de flavonoides (alto teor de flavonóides - HF; 993 mg de flavonóides/porção e flavonóides intermediários - IF; 520 mg de flavonóides/porção) durante 8 semanas, melhorou o desempenho cognitivo de grupo de idosos. Também foi observado que o	Flavanóis	Mastroiacovo <i>et al</i> (2015)

			consumo de FC contribuiu para a redução significativa da pressão arterial e de marcadores metabólicos, possivelmente através de uma melhora na sensibilidade à insulina, sugerindo um possível papel influente do metabolismo da glicose na modulação da função cognitiva. Estes dados sugerem que a ingestão habitual de flavanóis pode apoiar a função cognitiva saudável com a idade.		
Antioxidante	Sementes/ Extrato metanol aquoso a 70%/ Grãos de cacau torrados e inchados	<i>In vitro</i>	A capacidade antioxidante está relacionada com o conteúdo de flavonoides totais e polifenóis totais, a teobromina e epicatequina apresentaram maior correlação com a atividade antioxidante. Ademais, os ensaios DPPH, FRAP e ABTS mostraram também resultados promissores quanto a capacidade antioxidante dos compostos bioativos presentes nas sementes do cacau. Entretanto, o conteúdo total de flavonoides pode contribuir com a maior parte da capacidade antioxidante dos grãos de cacau.	Polifenóis, flavonoides, teobromina, catequina, epicatequina e procianidina B2.	Hu <i>et al</i> (2016)
	Sementes/ Extrato aquoso a 70%/ Grãos de cacau fermentados e secos	<i>In vitro</i>	A capacidade antioxidante está relacionada com o alto teor de compostos fenólicos, além disso, os grãos de cacau crus apresentaram maior potencial antioxidante, eliminador de radicais livres e da eliminação de quelantes de metal. Também foi observado que as amostras torradas de cacau apresentaram alterações significativas no conteúdo de fenólicos totais, na capacidade de eliminação de radicais livres e na atividade quelante de metais, logo essa redução está relacionada com as condições de torrefação, temperatura e cultivo. Entretanto, mesmo depois de torrados os grãos de cacau são uma considerável fonte de compostos antioxidantes.	Polifenóis, flavonoides, catequina, epicatequina e teobromina.	Oracz e Nebesny (2016)

Legenda – CIM: concentração inibitória mínima; CHE8: Água; CHE9: Água:metanol (7:3); DPPH: 2,2-difenil-1-picrilidrazila; FRAP: potência antioxidante redutora férrica; ABTS: 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico); FC: Concentração de flavonoides. Fonte: Autores (2024).

Investigou-se a atividade antimicrobiana das sementes de *T. cacao* secas através do estudo experimental *in vitro* realizado em amostras *Helicobacter pylori*. O teste de suscetibilidade antimicrobiana demonstrou a inibição de todas as cepas pelo extrato metanólico diferente do extrato de hexano que não teve atividade inibitória. A concentração inibitória mínima (CIM) do extrato metanólico contra as 12 cepas suscetíveis apresentou entre 80 mg/mL e 90 mg/mL, tais resultados revelou que o extrato possui uma atividade antimicrobiana semelhante às drogas controle (ofloxacina e gentamicina). A atividade bactericida do extrato metanólico também foi testada através do ensaio de tempo de morte, pois este permite determinar a velocidade da atividade bactericida do extrato. Foi observado que após 8 horas de exposição aos extratos de metanol em doses equivalentes a CIM, 2x CIM e 4x CIM houve uma diminuição das bactérias, posteriormente uma morte total em 24h. Também foi observada maior taxa de morte nas concentrações maiores (4x CIM) do extrato. Logo, o extrato apresentou uma atividade de amplo espectro na concentração de teste de 100 mg/mL e a taxa de morte do extrato pareceu ser dependente do tempo e da concentração (Lawal *et al.*, 2014)

Há poucas informações disponíveis sobre a presença de compostos antimicrobianos na casca do cacau, esses resultados justificam mais estudos sobre a análise dos constituintes ativos do CHE e para determinar seu potencial para aplicação terapêutica. A partir deste estudo, pode-se concluir que o consumo regular da semente de *Theobroma cacao* L. ou seus derivados/produtos pode reduzir a incidência de úlcera péptica, bem como suprimir doenças gastrointestinais agudas e crônicas. inflamação causada por *H. Pylori* (Lawal *et al.*, 2014). Pesquisas extensas mostraram que *T. cacao* contém polifenóis e outros antioxidantes levando ao seu uso no tratamento de doenças como doenças cardiovasculares, diabetes mellitus, doenças imunomoduladoras (Vinson *et al.*, 2006). A maioria dos estudos anteriores sobre *T. cacao* L. relataram a atividade antimicrobiana dos polifenóis (Ferrazzano *et al.*, 2009), massa de cacau (Takahashi *et al.*, 1999), casca da vagem (Fapohunda e Afolayan, 2012) e inibição por extratos de cacau da biossíntese de polissacarídeo por bactérias orais humanas (Paolino e Kashket, 1985).

Um estudo duplo-cego randomizado envolvendo 90 indivíduos selecionados aleatoriamente para avaliar o desempenho cognitivo em idosos sob os efeitos do consumo de flavonol do cacau. Os participantes consumiram diariamente durante 8 semanas uma certa quantidade de bebidas lácteas à base de cacau contendo alto teor de flavonol cerca de 993 mg, teor mediano de flavonóides cerca de 520 mg ou baixo teor de flavonóides cerca de 48 mg. Os critérios para selecionar os indivíduos foram participantes que se autodeclararam despreocupados com a saúde cognitiva e que não apresentavam condições clínicas significativas, as quais incluem eventos cerebrovasculares, amnésia evidente, doenças inflamatórias, distúrbios tireoidianos e doenças cardiovasculares. Os escolhidos passaram por uma triagem com nutricionista para avaliar seus hábitos alimentares e foram estimulados a prosseguir com a atividade física no decorrer do estudo. Depois de 1 semana, os participantes foram instruídos a consumir uma vez ao dia as bebidas que eram fornecidas em sachês individuais como uma mistura seca para reconstituição em água. O teste cognitivo foi realizado no início e após 8 semanas, uma combinação de 4 teste foi utilizada para avaliação da cognição: O Mini Exame de Estado Mental (MEEM), o Teste de Trilha (TMT) A e B e o Teste de Fluência Verbal (VFT). Neste estudo foi observado que o consumo diário de concentração de flavonóides (FC) melhorou o desempenho cognitivo em um grupo de idosos, sem efeitos adversos notáveis. Além disso, o consumo regular do cacau, isto é, alimentos dietéticos ricos em flavonóides podem contribuir para manutenção e melhoria da função cognitiva, sendo eficazes na reversão de declínios cognitivos relacionados à idade (Mastroiacovo *et al.*, 2015).

Pesquisa experimental *in vitro* envolvendo as sementes (grãos) de cacau fermentados e secos, foi avaliado a propriedade físico-química e a capacidade antioxidante dos grãos, o mesmo investigou os compostos bioativos e suas atribuições presentes nas sementes do cacau. Na preparação da amostra foi realizado o método de torrefação e de sopro. Para a extração fenólica da amostra de cacau foi utilizado o metanol, 1g de semente do cacau triturado para 25mL de metanol a 70% por 2h no banho-maria a 40%. Para a identificação de polifenóis totais, o extrato fenólico de cacau foi avaliado pelo ensaio de

Folin e Ciocalteu (Singleton & Rossi, 1965). Para a determinação de flavonoides totais foi de acordo com o método de Jia, Tang e Wu (1999). A capacidade antioxidante foi avaliada pelo método DPPH, FRAP e ABTS. O método de DPPH, utilizado para este ensaio foi adaptado por Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995). A solução de DPPH utilizada foi 0,1 mM em 80% de metanol (Hu *et al.*, 2016).

Diante do exposto, a pesquisa demonstra que a quantidade total de polifenóis e flavonoides das sementes de cacau diminuíram diante dos métodos de torrefação e sopro. Entre as amostras, P4 exibiu maior quantidade tanto de polifenóis, quanto de flavonoides. A diminuição de polifenóis de cacau é consequência da oxidação de compostos fenólicos, seguida de polimerização e formação de compostos insolúveis de alto peso molecular. Os resultados indicam que os polifenóis são menos sensíveis à temperatura e à pressão do que os flavonoides. Na avaliação da atividade antioxidante nas sementes de cacau crus, torrados e tufados foi observado resultados diferentes para os ensaios de DPPH, FRAP e ABTS nas amostras, respectivamente grãos de cacau crus (P4) e grãos de cacau torrados (R15) e grãos de cacau desengordurados. Foi observado que à medida em que a pressão de expansão aumentava, a capacidade antioxidante dos grãos de cacau expandidos diminuía. Porém, as amostras de sementes desengorduradas apresentaram uma capacidade antioxidante maior comparada às sementes que passaram pelo processo de torrefação e folhagem. Tal fato ocorre, pois os compostos antioxidantes, como polifenóis e flavonoides estão localizados na parte sólida do cacau. Ademais, neste estudo foi observado que os flavonoides totais apresentam uma maior correlação com a capacidade antioxidantes dos grãos de cacau do que os polifenóis totais. Os compostos bioativos (teobromina, catequina, epicatequina e procianidina b2) também foram avaliados quanto a sua correlação com a atividade antioxidante, a teobromina e a epicatequina foram os compostos que apresentaram maior correlação com a atividade antioxidante (Hu *et al.*, 2016).

#### 4. Considerações Finais

Este estudo apresentou evidências científicas de que *Theobroma cacao L.*, bem como seus derivados é provedor de efeitos farmacológicos. Observamos que a espécie vegetal mostrou ser eficaz nas atividades antimicrobiana, antioxidante e na função cognitiva. Entretanto as pesquisas apresentam limitações, visto que, três estudos são *in vitro* e um estudo duplo-cego randomizado. Ademais, se tratando da caracterização de constituintes químicos da espécie, não observamos teor de minerais na polpa e demais órgãos vegetativos como folhas, caule e raiz, muito menos de substâncias caracterizadas, o que seria interessante para descobrirmos os teores e concentrações de fitoquímicos, quem sabe até promissores de atividades biológicas. Embora observamos evidências de atividades farmacológicas, estas ainda são escassas pois não encontramos atividade antimicrobiana para polpa e demais órgãos vegetativos bem como os reais responsáveis por esta atividade, a capacidade antioxidante foi determinada somente pelos grãos e a função cognitiva foi atribuída apenas aos grãos de cacau.

Portanto, estudos futuros são necessários para que sejam avaliados a segurança e tolerabilidade de *Theobroma cacao* em humanos, como caracterização da composição química de todos os órgãos vegetativos e reprodutivos da espécie, bem como avaliação de atividades biológicas através de seus derivados/extratos. Pois, há divergências nas concentrações das doses utilizadas nos estudos, uma vez que ainda não existe uma dose padrão que seja eficaz e segura, além do controle sobre a preparação de *Theobroma cacao*, a qual é necessária para garantir a qualidade e a segurança. Com isso, é importante elucidar completamente os mecanismos subjacentes e estabelecer recomendações específicas de consumo para a promoção da saúde. Pois, o entendimento desses aspectos pode abrir novas perspectivas para o desenvolvimento de intervenções dietéticas e farmacológicas destinadas a prevenir ou tratar distúrbios e melhorar a qualidade de vida em geral.

## Referências

- Bardón Centurión, N. I. (2017). Selección de cacao (*Theobroma cacao* L.) según índice de teobromina–cafeína, determinación de metilxantinas, catequinas en grano fresco, fermentado, seco, licor y análisis sensorial del licor. <https://hdl.handle.net/20.500.14292/1266>
- Bartella, L., Di Donna, L., Napoli, A., Siciliano, C., Sindona, G., & Mazzotti, F. (2019). A rapid method for the assay of methylxanthines alkaloids: Theobromine, theophylline and caffeine, in cocoa products and drugs by paper spray tandem mass spectrometry. *Food chemistry*, 278, 261-266. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.11.072>
- Cerri, M., Reale, L., & Zadra, C. (2019). Armazenamento de metabólitos em sementes de *Theobroma cacao* L.: Análises cito-histológicas e fitoquímicas. *Fronteiras em fitotecnia*, 10, 454587. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01599>
- Chavez Aguilar, C. P., & Vila Castro, J. L. *Evaluación preliminar de las cáscaras de cacao como una fuente de materia prima en la Industria Cosmética (Theobroma cacao)* (Doctoral dissertation). <http://repositorio.umsa.bo/xmlui/handle/123456789/16313>
- De Souza, P. A., Moreira, L. F., Sarmiento, D. H., & da Costa, F. B. (2018). Cacao—*Theobroma cacao*. In *Exotic fruits* (pp. 69-76). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803138-4.00010-1>
- Decroix, Lieselot et al. (2017). Acute cocoa flavanols intake has minimal effects on exercise-induced oxidative stress and nitric oxide production in healthy cyclists: a randomized controlled trial. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, 14(1), 28. <https://doi.org/10.1186/s12970-017-0186-7>
- Grases, F., Rodriguez, A., & Costa-Bauza, A. (2014). Theobromine inhibits uric acid crystallization. A potential application in the treatment of uric acid nephrolithiasis. *PLoS one*, 9(10), e111184. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0111184>
- Hu, S., Kim, B. Y., & Baik, M. Y. (2016). Physicochemical properties and antioxidant capacity of raw, roasted and puffed cacao beans. *Food chemistry*, 194, 1089-1094. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.08.126>
- IBGE. Instituto Nacional de Geografia e Estatística. (2022). Consultado a 20 de 03 de 2023. <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/cacau/pa>
- INSTITUTO AGRONÔMICO DO NORTE (1949). Boletim técnico do Instituto Agronômico do Norte. O Instituto.
- Jean-Marie, E., Jiang, W., Bereau, D., & Robinson, J. C. (2022). *Theobroma cacao* and *Theobroma grandiflorum*: Botany, Composition and Pharmacological Activities of Pods and Seeds. *Foods*, 11(24), 3966. <https://doi.org/10.3390/foods11243966>
- Kothe, L., Zimmermann, B. F., & Galensa, R. (2013). Temperature influences epimerization and composition of flavanol monomers, dimers and trimers during cocoa bean roasting. *Food chemistry*, 141(4), 3656-3663. DOI: 10.1016/j.foodchem.2013.06.049
- Lagouri, V., Prasianaki, D., & Krysta, F. (2014). Antioxidant properties and phenolic composition of Greek propolis extracts. *International Journal of Food Properties*, 17(3), 511-522. <https://doi.org/10.1080/10942912.2012.654561>
- Lawal, T. O., Olorunnipa, T. A., & Adeniyi, B. A. (2014). Susceptibility testing and bactericidal activities of *Theobroma cacao* Linn.(cocoa) on *Helicobacter pylori* in an in vitro study. *Journal of herbal medicine*, 4(4), 201-207. <https://doi.org/10.1016/j.hermed.2014.09.004>
- Martín, M. A., Goya, L., & de Pascual-Teresa, S. (2020). Effect of cocoa and cocoa products on cognitive performance in young adults. *Nutrients*, 12(12), 3691. doi: 10.3390/nu12123691
- Mastroiacovo, D., Kwik-Urbe, C., Grassi, D., Necozione, S., Raffaele, A., Pistacchio, L., ... & Desideri, G. (2015). Cocoa flavanol consumption improves cognitive function, blood pressure control, and metabolic profile in elderly subjects: the Cocoa, Cognition, and Aging (CoCoA) Study—a randomized controlled trial. *The American journal of clinical nutrition*, 101(3), 538-548. <https://doi.org/10.3945/ajcn.114.092189>
- Ministério da Agricultura e Pecuária. CEPLAC - Comissão Executiva do Plano de Lavoura Cacaueira. (2023). Consultado a 20 de 03 de 2023. <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/ceplac>
- Oracz, J., & Nebesny, E. (2016). Antioxidant properties of cocoa beans (*Theobroma cacao* L.): influence of cultivar and roasting conditions. *International journal of food properties*, 19(6), 1242-1258. <https://doi.org/10.1080/10942912.2015.1071840>
- Oracz, J., Zyzelewicz, D., & Nebesny, E. (2015). The content of polyphenolic compounds in cocoa beans (*Theobroma cacao* L.), depending on variety, growing region, and processing operations: A review. *Critical reviews in food science and nutrition*, 55(9), 1176-1192. <https://doi.org/10.1080/10408398.2012.686934>
- Pinto, F. C. (2013) Fertilidade do solo e partição de nutrientes em cacauzeiros. [Dissertação de Mestrado não publicada]. Universidade Estadual de Santa Cruz.
- Ramôa, a. g. a. (2011). *Comportamento cinético de compostos polifenólicos e enzimas oxidativas na fermentação de cacau da Amazônia*. [Dissertação mestrado em tecnologia em alimentos]. Universidade Federal do Pará, UFPA, Belém.
- Ramos-Escudero, F., Casimiro-Gonzales, S., Fernández-Prior, Á., Chávez, K. C., Gómez-Mendoza, J., de la Fuente-Carmelino, L., & Muñoz, A. M. (2021). Colour, fatty acids, bioactive compounds, and total antioxidant capacity in commercial cocoa beans (*Theobroma cacao* L.). *LWT*, 147, 111629. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111629>
- Santos, RX et al. Atividade antimicrobiana do extrato fermentado da casca da vagem de cacau *Theobroma*. *Genética e pesquisa molecular*, 13(3), 7725-7735, 2014. <https://dx.doi.org/10.4238/2014.September.26.10>
- Silva, R. P. (2022). Produção e desenvolvimento de creme hidratante a partir de extratos vegetais de cacau (*Theobroma cacao*) e da amora (*Morus nigra*). <http://repositorio.ifg.edu.br:8080/handle/prefix/1020>

Soares, A., Dorlivete, P., Shitsuka, M., Parreira, F., & Shitsuka, R. (n.d.). Metodologia da pesquisa científica. [https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/15824/Lic\\_Computacao\\_Metodologia-Pesquisa-Cientifica.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/15824/Lic_Computacao_Metodologia-Pesquisa-Cientifica.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

Tuenter, E., Foubert, K., & Pieters, L. (2018). Mood components in cocoa and chocolate: the mood pyramid. *Planta medica*, 84(12/13), 839-844. DOI <https://doi.org/10.1055/a-0588-5534>

Takahashi, T., Taguchi, H., Yamaguchi, H., Osaki, T., Sato, S., Kamei, M., ... & Kamiya, S. (1999). Antibacterial effects of cacao mass on enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157: H7. *Kansenshogaku zasshi. The Journal of the Japanese Association for Infectious Diseases*, 73(7), 694-701. DOI <https://doi.org/10.11150/kansenshogakuzasshi1970.73.694>

Vinson, J. A., Proch, J., Bose, P., Muchler, S., Taffera, P., Shuta, D., ... & Agbor, G. A. (2006). Chocolate is a powerful ex vivo and in vivo antioxidant, an antiatherosclerotic agent in an animal model, and a significant contributor to antioxidants in the European and American diets. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(21), 8071-8076. DOI <https://doi.org/10.1021/jf062175j>

Paolino, V. J., & Kashket, S. (1985). Inhibition by cocoa extracts of biosynthesis of extracellular polysaccharide by human oral bacteria. *Archives of oral biology*, 30(4), 359-363. DOI [https://doi.org/10.1016/0003-9969\(85\)90011-1](https://doi.org/10.1016/0003-9969(85)90011-1)

Fapohunda, S.O., & Afolayan, A.O. (2012). Fermentation of Cocoa Beans and Antimicrobial Potentials of the pod Husk Phytochemicals.

Ferrazzano, G. F., Amato, I., Ingenito, A., De Natale, A., & Pollio, A. (2009). Anti-cariogenic effects of polyphenols from plant stimulant beverages (cocoa, coffee, tea). *Fitoterapia*, 80(5), 255-262. DOI <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2009.04.006>