



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA



EDUARDO LOLATO

CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA CASCA DA AMÊNDOA DE CACAU

Londrina

2024

EDUARDO LOLATO

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA CASCA DA
AMÊNDOA DE CACAU**

Dissertação apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, nível Mestrado, da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do Título de Mestre em Ciência de Alimentos.

Orientador: Dra. Karla Bigetti Guergoletto.

Co-orientador: Dr. André Luiz Buzzo Mori.

Londrina

2024

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

E24c Lolato, Eduardo .
Caracterização Físico-química da Casca da Amêndoa do Cacau / Eduardo Lolato. - Londrina, 2024.
60 f.

Orientador: Karla Bigetti Guergoletto.
Coorientador: André Luiz Buzzo Mori.
Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, 2024.
Inclui bibliografia.

1. Cacau - Tese. 2. Antioxidantes - Tese. 3. Resíduo - Tese. 4. Cromatografia - Tese. I. Guergoletto, Karla Bigetti. II. Buzzo Mori, André Luiz. III. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos. IV. Título.

CDU 641.1

EDUARDO LOLATO

CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA CASCA DA AMÊNDOA DE CACAU

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, nível mestrado, da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência de Alimentos

COMISSÃO EXAMINADORA:

Profª. Dra. Karla Bigetti Guergoletto
Orientadora: Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, UEL

Profª. Dra. Marta de Toledo Benassi
Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, - UEL

Profª. Dra. Maria Luiza Zeraik
Departamento de Química, -UEL

Londrina, 11 de Março de 2024.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente aos meus pais, Armelindo Zanella Lolato e Inês Anastacia Schneider Lolato, que aguentaram meus choros e me deram todo o suporte necessário, seja ele emocional ou financeiro. Estou no mestrado graças a todas as contribuições que eles tiveram. Amo muito eles.

Agradeço a professora Dra Karla Bigetti Guergoletto e ao professor Dr André Buzzo Mori, pelas contribuições feitas durante todo o andamento do mestrado até o dado momento. Foram pessoas muito importantes para a construção do trabalho e contribuíram também para o desenvolvimento da minha personalidade acadêmica.

A professora Dra Marta Benassi, que foi crucial para o desenvolvimento da pesquisa e é um grande exemplo de profissional para mim!

A todos os meus amigos que estiveram comigo durante o percurso, Deborá Pinhatari, Kawany de Faria Forato, Vinicus Domingues Santos, Danielly Moraes, Fabiola Carvalho, Thiago Okagawa, Maikon Nascimento, Estafani Redondo, Cláudia Diana Oliveria e Bruna Lunardi, que compartilhamos momentos de pesquisa, surtos e muita diversão.

A todos os profissionais da Universidade Estadual de Londrina, que desempenham papéis muito importante para o desenvolvimento da sociedade.

That's my way and I go
Esse é meu caminho e nele eu vou!
Eu gosto de pensar que a luz do Sol vai iluminar o
meu amanhecer

Edi Rock

LOLATO, Eduardo. Caracterização físico-química da Casca da Amêndoa do Cacau. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina – PR, 2024.

RESUMO

O Brasil é o 7º maior produtor e exportador de cacau e derivado do mundo, responsável pela movimentação econômica do país, com uma grande variabilidade em suas matérias-primas. A casca da amêndoa de cacau (CAC) é um resíduo que possui uma composição rica e variada, com alto teor de compostos fenólicos, metilxantinas, minerais e lipídeos. Tendo em vista o descarte deste material e ampla disponibilidade de matérias-primas, o objetivo foi coletar cascas dos biomas Amazônico e Atlântico para caracterização físico-química, a fim de elucidar os constituintes destas amostras. Foram coletadas 11 CAC em que foram caracterizadas quanto a umidade (estufa 105 °C), proteína bruta (*Kjeldahl*), lipídios (*Bligh-dyer*), cinzas (mufla a 550° C), açúcares redutores (Somogyi-Nelson), fenólicos e metilxantinas (UHPLC-PDA), fenólicos totais (Folin-Ciocalteu,) atividade antioxidante (ABTS+ e DPPH°), e minerais (espectrômetro de emissão atômica, espectrofotômetro UV-vis e fotômetro de chama). As amostras apresentaram um elevado teor de lipídeos (3,64 – 19,65 g 100 g⁻¹), teobromina (14,26 – 21,18 mg 100 g⁻¹), compostos fenólicos (11,05 – 22,54 mg 100 g⁻¹) e atividades antioxidantes por DPPH (137,86 – 267,42 mmol eq trolox g⁻¹), ABTS+ (267,06 - 511 mmol eq trolox g⁻¹) e minerais principalmente, P (1,34 – 1,58 g 100 g⁻¹) e K (1,03 – 3,26 g 100 g⁻¹). As análises de componentes principais indicam pouca relação dentre origem e cultivo em função das respostas. Tais, resultados indicam potencialidade da casca da amêndoa de cacau para inserção na dieta humana, porém, faz-se necessário maior investigação deste resíduo.

Palavras-chave: Resíduo; Antioxidantes; Cacaueira; ACP (Análise dos Componentes Principais); Cabruca; Selvagem.

LOLATO, Eduardo. Physicochemical Characterization of Cocoa Bean Shell. Dissertation (Master's in Food Science) – State University of Londrina, Londrina – PR, 2024.

ABSTRACT

Brazil is the 7th largest producer and exporter of cocoa and its derivatives globally, playing a significant role in the country's economy, with a wide variability in its raw materials. Cocoa bean shell (CAC) is a residue that has a rich and varied composition, with a high content of phenolic compounds, methylxanthines, minerals, and lipids. Considering the disposal of this material and the ample availability of raw materials, the objective was to collect shells from the Amazonian and Atlantic Rainforests for physicochemical characterization to elucidate the constituents of these samples. Eleven CAC samples were collected and characterized for moisture (105°C oven), crude protein (Kjeldahl method), lipids (Bligh-Dyer method), ash (muffle furnace at 550°C), reducing sugars (Somogyi-Nelson method), phenolics and methylxanthines (UHPLC-PDA), total phenolics (Folin-Ciocalteu method), antioxidant activity (ABTS+ and DPPH^o), and minerals (atomic emission spectrometer, UV-vis spectrophotometer, and flame photometer). The samples exhibited high levels of lipids (3.64 – 19.65 g per 100 g), theobromine (14.26 – 21.18 mg per 100 g), phenolic compounds (11.05 – 22.54 mg per 100 g), and antioxidant activities by DPPH (137.86 – 267.42 mmol eq trolox g⁻¹) and ABTS+ (267.06 - 511 mmol eq trolox g⁻¹), as well as minerals, primarily phosphorus (1.34 – 1.58 g per 100 g) and potassium (1.03 – 3.26 g per 100 g). Principal component analyses indicate little relationship between origin and cultivation regarding the responses. These results indicate the potential of cocoa bean shell for inclusion in the human diet; however, further investigation of this residue is necessary.

Keywords: Residue; Antioxidants; Cocoa tree; PCA (Principal Component Analysis); Cabruca (Cocoa Agroforestry System); Wild.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

CAPITULO I

Figura 1: Árvore de cacau (cacaueiro) e fruto.	16
Figura 2: Variedades de cacau (<i>Theobroma cocoa</i>).	17
Figura 3: Morfologia do fruto de cacau.	17
Figura 4: Fluxograma do beneficiamento (verde) e do processamento (marrom) da amêndoa de cacau.	18
Figura 5: Almofada floral do cacaueiro.	19
Figura 6: “Cochos” ou caixotes de fermentação.	20
Figura 7: Mudanças das amêndoas durante a fermentação.	20
Figura 8: Sistema de secagem das amêndoas.	21
Figura 9: (a) Nibs de cacau e (b) cascas da amêndoa de cacau.	22
Figura 10: Resíduos da indústria de cacau: (a) Casca do cacau, (b) casca da amêndoa, (c) mel e (d) mucilagem.	24
Figura 11: Estrutura química de principais compostos fenólicos e metilxantinas.	29

CAPITULO II

Figura 1: Projeção das Variáveis para a Análise dos Componentes Principais das amostras de casca da amêndoa do cacau dos biomas Amazônico e Atlântico em função dos resultados de cromatografia, compostos fenólicos totais e atividade antioxidante. (a) análises e (b) amostras	47
Figura 2: Análise Hierárquica de agrupamento.	49

CAPITULO III

Figura 14: Projeção das Variáveis para a Análise dos Componentes Principais das amostras de casca da amêndoa do cacau dos biomas Amazônico e Atlântico em função dos resultados de composição centesimal e minerais (a) s e amostras (b)...	65
Figura 2: Análise Hierárquica de agrupamento.	67

LISTA DE TABELAS

CAPITULO I

Tabela 1: Composição centesimal da casca da amêndoa de cacau conforme a literatura.....	27
--	----

CAPITULO II

Tabela 1: Informações de origem e cultivo das cascas da amêndoa do cacau.....	39
Tabela 2: Teores de teobromina, catequina, cafeína, procianidina b2, ácido cafeíco e quercetina nas Cascas da Amêndoa do Cacau.	42
Tabela 3: Resultados de teor de compostos fenólicos totais e atividades antioxidantes para as amostras.....	45

CAPITULO III

Tabela 1: Informações de origem e cultivo das cascas da amêndoa do cacau.....	58
Tabela 2: Composição centesimal da casca da amêndoa do cacau.	61
Tabela 3: Conteúdo Mineral da casca da amêndoa do cacau.	63

SUMÁRIO

CAPITULO I

1 INTRODUÇÃO	13
2 OBJETIVO	15
2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
3.1 O CACAU	16
3.3 PROCESSAMENTO DO CACAU	18
3.3.1 Beneficiamento do Cacau	19
3.3.2 Processamento do Cacau	22
3.4 RESÍDUOS DO PROCESSAMENTO DO CACAU	23
3.5 CASCA DA AMÊNDOA DE CACAU	26
3.5.1 Composição da Casca da Amêndoa do Cacau	26
3.5.2 Compostos fenólicos	28
3.5.3 Metilxantinas	30
REFERÊNCIAS	31

CAPITULO II - Compostos Fenólicos e Atividade Antioxidante da Casca da Amêndoa do Cacau com Origem do Bioma Amazônico e Atlântico.....

1. INTRODUÇÃO	37
2. MATERIAIS E MÉTODOS	38
2.1 Materiais.....	38
2.2 Extração dos Compostos	39
2.3 Perfil de Compostos fenólicos por UHPLC.....	40
2.4 Determinação de Compostos Fenólicos totais	41
2.5 Atividade Antioxidante	41
2.6 Análise estatística	41
3. RESULTADOS E DISCUSSÕES	42
3.1 Perfil de compostos fenólicos e metilxantinas	42
3.2 Compostos Fenólicos totais e Atividade Antioxidante	45

3.3 Análise dos componentes principais (ACP).....	46
4. CONCLUSÃO.....	50
REFERÊNCIAS.....	50

CAPITULO III - Composição Mineral da Casca da Amêndoa do Cacau do Bioma Amazônico e

Atlântico.....	56
1. INTRODUÇÃO	57
2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	58
2.1 Materiais.....	58
2.2 Composição centesimal	59
2.3 Conteúdo de Mineral	59
2.4 Análise estatística	59
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	60
3.1 Composição centesimal	60
3.2 Perfil Mineral	62
3.3 Análise dos Componentes Principais (ACP)	64
4. CONCLUSÃO.....	67
REFERÊNCIAS.....	68

CONCLUSÃO GERAL.....	73
-----------------------------	-----------

A dissertação de mestrado será apresentada em 3 capítulos, descritos abaixo, seguindo com conclusão e anexos:

I – Introdução, objetivos E revisão bibliográfica;

II – Artigo 1: Compostos Fenólicos e Atividade Antioxidante da Casca da Amêndoa do Cacau com Origem no bioma Amazônico e Atlântico;

III – Artigo 2: Composição Mineral da Casca da Amêndoa do Cacau do Bioma Amazônico e Atlântico.

CAPITULO I

1 INTRODUÇÃO

O cacau é um fruto do gênero *Theobroma cacao* L. oriundo do cultivo do cacauzeiro da família Malvaceae, que apresenta uma estrutura semelhante dentre suas variedades que são caracterizadas pela cor da casca, tamanho de fruto e intensidade de sabor. As variedades são criollo, forasteiro, trinitário e híbrido. Seu cultivo se expande pelo mundo em regiões equatoriais, por sua grande importância econômica e a necessidade de matéria-prima para o processamento de produtos, com destaque o chocolate, apreciado sensorialmente por povos de diferentes nacionalidades (AFOAKWA, 2014; SOUZA, 2018).

No Brasil, o cacau é originário do bioma Amazônico, porém se expandiu por todo território equatorial, tornando a região Norte e Nordeste as maiores produtoras de cacau do Brasil, que presam por um cultivo responsável, em plantações selvagens e *cabruca*, mantendo o bioma nativo, contribuindo para a fauna e flora brasileira (BRITO, 2020).

A amêndoa de cacau é a principal matéria-prima para o processamento de produtos derivados do cacau e são obtidas durante o beneficiamento e tratadas durante o processamento, para que ocorram transformações físicas, químicas e bioquímicas, e assim obtenha-se o produto com características desejadas. Em 2023, o Brasil foi responsável pela produção de 220 mil toneladas de amêndoa de cacau, sendo o 7º maior produtor do mundo, com um aumento de 7 % na produção em comparação a 2022, 205 mil toneladas (ICAIPC, 2024).

É importante destacar que a produção de qualquer alimento possui um impacto ambiental, por causa dos seus resíduos sólidos, líquidos e gasosos. Buscar alternativas que reduzam ou favoreçam a reutilização ou redirecionamento de tais materiais são muito importantes, porque além de auxiliar no equilíbrio do ecossistema, auxilia na investigação e desenvolvimento de novos produtos. A produção de cacau é responsável por diferentes resíduos orgânicos em toda a cadeia produtiva e estes representam de 80 a 90 % em massa do fruto, sendo eles casca, mucilagem, mel e casca da amêndoa (GUIRLANDA; SILVA; TAKASHASHI, 2021).

A casca da amêndoa de cacau é obtida após a fermentação, secagem e torra da amêndoa e sua presença na formulação de produtos é vista como sujidade, já que

causa amargor ao chocolate e podem danificar equipamentos. É um resíduo representativo que ocupa 10 % da massa da amêndoa seca, e que vem chamando a atenção da própria indústria processadora de chocolate, devido sua composição rica em compostos fenólicos e características sensoriais muito semelhantes a amêndoa e ao chocolate (ICAIPC, 2024). É um resíduo que apresenta uma composição dependente das várias características advindas de influências do cultivo, variedades e processamento (OKYWAMA *et al.*, 2017; CINAR *et al.*, 2021).

Observando que o Brasil é o 7º maior produtor de amêndoa de cacau do mundo e a casca da amêndoa corresponde a 10 % da massa total, estima-se que são produzidas mais de 20 mil toneladas de casca da amêndoa, um montante expressivo, levando em consideração o impacto da má administração de tal material. A casca apresenta potencialidades, tendo grande destaque por sua alta concentração de compostos fenólicos e sua resposta em atividade antioxidante, conforme relatado pela literatura a algumas variedades (NETANIA *et al.*, 2021; ROSSIN *et al.*, 2021).

Portanto, o objetivo desta pesquisa foi realizar a caracterização físico-química da casca da amêndoa de cacau, coletadas nos biomas Amazônico e Atlânticos do Brasil, em termos físico-químicos para elucidar os potenciais usos deste subproduto e assim contribuir com a redução de descartes e aplicações para a indústria de alimentos.

2 OBJETIVO

Realizar a caracterização físico-química da casca da amêndoa de cacau dos biomas Amazônico e Atlântico, e comparar os resultados observando as variáveis origem e técnica de cultivo, para elucidar as potencialidades deste resíduo nacional.

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar a composição centesimal e mineral das cascas da amêndoa de cacau dos biomas Amazônico e Atlântico e analisar as diferenças em relação ao local de plantio e técnica de cultivo.
- Determinar a atividade antioxidante e composição fenólica das cascas coletadas nos dois biomas e analisar as diferenças em relação ao local de plantio.
- Analisar os resultados obtidos e elucidar as diferentes características para as potencialidades deste resíduo.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 O CACAU

O cacaueteiro (Figura 1) é uma planta pertencente à família Malvaceae do gênero *Theobroma* (“alimento dos deuses” do grego) presente em regiões e matas equatoriais. Seu fruto, o cacauete (Figura 1), possui uma grande importância histórica e econômica devido aos principais usos, no processamento do chocolate, manteiga e óleos (SILVA, 2019).

Figura 1: Árvore de cacau (cacaueteiro) e fruto.



Fontes: GUEVARA e MST, 2020.

É um fruto milenar que teve origem na América do Sul e ao leste dos Andes, utilizado a mais de 5300 anos pela população nativa, ou seja, aproximadamente 1500 anos antes de sua domesticação (ICCO, 2020). Em consequência da domesticação do fruto e a popularização do chocolate, ocorreu uma expansão do seu cultivo que demarcou o desenvolvimento de três variedades da espécie *Theobroma cacao* L. (Figura 2): O criollo é predominante cultivado na América Central, México e região norte da Bolívia e Venezuela; o forasteiro é característico da Amazônia e outras localidades da América do Sul, África e Ásia e; o trinitário é oriundo do cruzamento das duas espécies anteriores, característico de Trinidad, Equador, Camarões, Samoa, Sri Lanka, Java e Papua Nova Guiné. A expansão geográfica do cacau está relacionada a compatibilidade da planta ao clima e solo (ICCO, 2020; SOUZA, 2018).

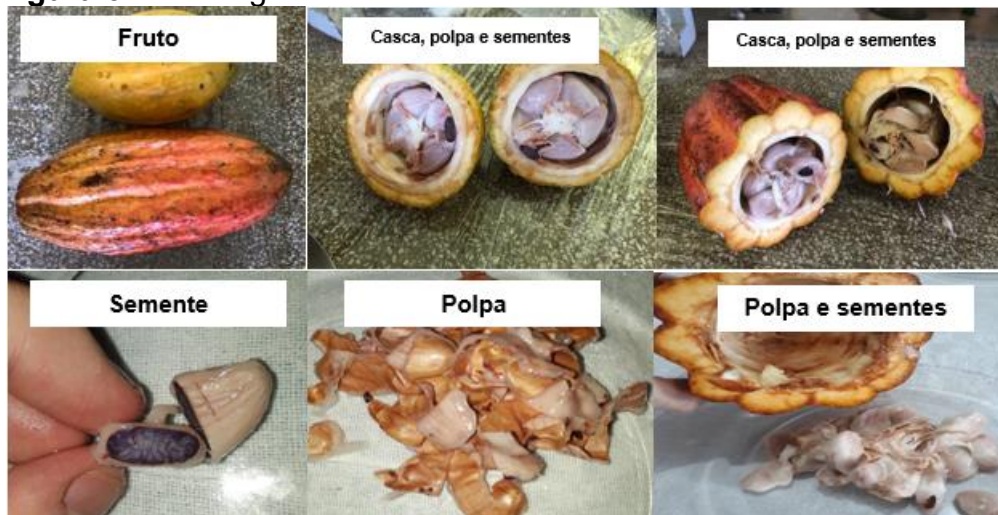
Figura 2: Variedades de cacau (*Theobroma cacao* L.).



Fonte: FERREIRA, 2017.

No geral, o fruto possui aparência cor, rugosidades e forma variada, fica preso em torno do tronco do cacauero e sua maturação é definida de acordo com a cor, suculência da polpa e densidade da casca. A casca externa é dura e recoberta de sulcos compridos e superficiais com cerca de 20 cm de comprimento e a cor é dependente da variedade sendo: laranja para o criollo, amarelo ouro para o forasteiro e violeta para o trinitário (Figura 3). Interiormente o fruto contém a polpa rósea ou branca, mucilaginososa que envolve cerca de 5 a 6 carreiras de semestres vermelhas, roxas ou purpuras (Figura 3), sendo cada carreira denominada de бага (AFOAKWA, 2014; FERREIRA, 2017; SILVA, 2021).

Figura 3: Morfologia do fruto de cacau.



Fonte: Do autor Novembro/2021.

Além das variedades apresentarem diferenças em suas características morfológicas, é observado mudanças nos aspectos sensoriais e químicos no fruto *in natura* e nos produtos finais, devido influência de técnica e localização de cultivo (AFOAKWA, 2014). Conforme relatado por Efraim *et al.*, (2022) e Panda *et al.*, (2022), amostras de chocolate coletadas do Brasil apresentaram maiores níveis de atividade

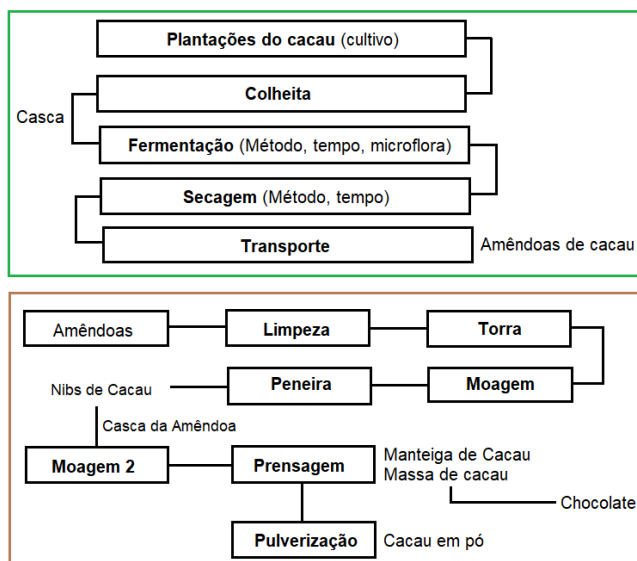
antioxidante, ácido cítrico, γ -tocoferol e α -tocoferol, enquanto as de manteiga demonstraram diferença no perfil dos triacilgliceróis (EFRAIM *et al.*, 2022; PANDA *et al.*, 2022).

3.3 PROCESSAMENTO DO CACAU

De acordo a *World Chocolate Day* o Brasil é o 7º maior produtor e exportador de cacau e derivados no mundo com uma produção de 33.521 toneladas de chocolate e 54.756 toneladas de outros produtos, garantindo em 2022 a movimentação de \$ 226 milhões de dólares (AIPC, 2024). Os produtos exportados foram direcionados para Argentina, USA e Chile. Dentre estes, o cacau amazônico é considerado um dos melhores do mundo, tendo em observação as características sensoriais dos produtos processados (AIPC, 2024)

A produção do cacau é dividida em três etapas essenciais, o beneficiamento e processamento, que visam a transformação do fruto em produtos. O objetivo do beneficiamento é obter as amêndoas de cacau, enquanto que no processamento tem-se produtos finais, tais como chocolate, manteiga, óleo e cacau em pó (Figura 4). O objetivo das duas etapas é atender o mercado interno e externo e assim, fomentar a indústria de processadora do cacau.

Figura 4: Fluxograma do beneficiamento (verde) e do processamento (marrom) da amêndoa de cacau



Fonte: SOUZA; HADLICH; MAAHS, 2013; AFOAKWA, 2014; GIACOMETTI; JOLIC; JOSIC, 2015; Adaptado.

3.3.1 Beneficiamento do Cacau

O cultivo do cacau pode-se dar por três técnicas: convencional, cabruca e selvagem. Na convencional tem-se as plantações de cacau presentes no ecossistema do ambiente, mas ao mesmo tempo completamente manipuladas visando produtividade do cacauzeiro, constatando a manipulação genética, adubação, irrigação e controle de pragas na plantação. Já na cabruca modifica da convencional pois, o cacau faz parte do ecossistema, ainda se vislumbra produtividade, mas a fauna e a flora do ambiente fazem uso do cacauzeiro e dos frutos produzidos. Na selvagem diferente das anteriores, o cacauzeiro faz parte do bioma nativo do ambiente, ou seja, a árvore faz parte naturalmente da flora e a fauna faz uso dela para manutenção da vida.

A colheita do cacau é definida pela maturação do fruto, que dependerá do tipo de cacau cultivado, outra característica importante é a rigidez da casca e o sabor da polpa. Nesta etapa necessita-se cuidado na remoção do fruto do cacauzeiro para que, não aconteça o desprendimento da almofada floral (Figura 5) e também a ruptura da casca, pela perda de novos frutos e ação da enzima polifenoloxidase. Após a colheita os frutos podem ficar armazenados por no máximo 3 dias (SILVA, 2021).

Figura 5: Almofada floral do cacauzeiro.



Fonte: GUEVARA, 2020.

No próprio campo ocorre a separação da polpa e as sementes do cacau para que sejam destinadas à fermentação. As bagas são acondicionadas em “cochos” ou caixotes de fermentação (Figura 6) que são recobertos por folhas de bananeiras e em seguida são transportadas para a casa de fermentação (IMBERTI, 2017).

Figura 6: “Cochos” ou caixotes de fermentação.



Fonte: GUEVARA, 2020.

A fermentação deixa a semente infértil e desenvolve características sensoriais específicas do cacau, transformando as sementes em amêndoas devido reações químicas, bioquímicas e estruturais, as principais mudanças observáveis são: alteração da cor para marrom (Figura 7), aroma acético e aumento da temperatura interna (AFOAKWA, 2014).

Figura 7: Mudanças das amêndoas durante a fermentação.



Fonte: BRAY, 2012.

Não é evidenciado microrganismos no interior do fruto, mas em consequência do manuseio e o contato das bagas com o ambiente, a fermentação torna-se dependente da microflora ambiental. O tempo de fermentação depende do tipo de fruto trabalhado e também das características finais desejadas, mas em média dura de 5 a 7 dias e é dividida em três etapas: fermentação alcoólica, láctica e acética (AFOAKWA, 2014; IMBERTI, 2017; GUEVARA, 2020).

Na fermentação alcoólica ocorre a transformação de açúcar em etanol, por leveduras anaeróbicas em pH abaixo de 4,0, com duração de 24 a 36 horas. Em seguida, ocorre a fermentação láctica, que perdura de 48 a 96 horas, em que ocorre

a metabolização de açúcares em ácidos orgânicos como, ácido láctico. E por último, ocorre a fermentação acética, em que ocorre a transformação de etanol em ácido acético e demora de 48 a 96 hora. É importante destacar que as fermentações láctica e acética ocorrem em paralelo (IMBERTI, 2017).

O início da fermentação é demarcado pelo odor característico e pela alteração da temperatura demarcada em ± 58 °C. Após o final de cada ciclo fermentativo, realiza-se a homogeneização das amêndoas e a troca de “cochos” para que ocorra maior homogeneidade do processo (GUEVARA, 2020).

Ao final da fermentação, todas as amêndoas seguem para a etapa de secagem. No Brasil, a técnica de secagem ao sol é mais predominante, devido a facilidade de execução e também ao baixo custo, entretanto outras técnicas como secagem em estufa e por circulação de ar forçada também podem ser empregadas. Nesta etapa, as amêndoas são acondicionadas em camas de tela dentro de estufas ou cobertas por sombrite (Figura 8). O objetivo desta etapa é reduzir o teor de umidade das amêndoas, mas também, ocasionar a evaporação de ácidos oriundos da fermentação, intensificando o sabor do cacau (ANDRADE, 2018). A duração estimada é de 5 a 7 dias, dependendo das condições climáticas e possíveis contaminações por mofo. Durante a secagem é muito importante mexer as amêndoas para que se tenha maior homogeneidade da umidade, que ao final é de ± 7 % (IMBERTI, 2017; GUEVARA, 2020).

Figura 8: Sistema de secagem das amêndoas.



Fonte: BRAY, 2012.

O armazenamento das amêndoas secas é feito em sacas de rafia e dispostas em galpões ou salas frescas e arejadas que contribuem para estabilidade do teor de umidade e conservação do produto. As amêndoas ficam retidas até surgir a demanda pela indústria que à processará (GUEVARA, 2020).

3.3.2 Processamento do Cacau

Durante o processamento do cacau ocorre a transformação das amêndoas preparadas pelas fazendas produtoras em produtos finais. O primeiro produto obtido pelo processamento são os *nibs* (AFOAKWA, 2015).

A torra é uma etapa importante pois desempenha uma função no *flavour* do cacau, comumente desenvolvidos durante a fermentação, além disso, favorece o desprendimento das cascas da amêndoa. Realizada em uma faixa de temperatura de 90 a 170 °C, a um tempo que dependerá da intensidade de torra desejada, desenvolvendo ao fim *nibs* e casca de amêndoa do cacau com um teor médio de ± 2 % de umidade (GIACOMETTI; JOLIC; JOSIC, 2015; ABBALLE *et al.*, 2021).

A separação do *nibs* de cacau (Figura 9) visa a separação da casca da amêndoa, que é vista como resíduo e sujidade na conformação da matéria-prima. A separação ocorre através da aplicação de múltiplas peneiras que têm esta função (AFOAKWA, 2015).

Figura 9: (a) Nibs de cacau e (b) cascas da amêndoa de cacau.



Fonte: ANDRADE, 2018.

Os *nibs* seguem a linha de produção e são direcionados para a etapa de moagem e prensagem, que em conjunto terão a produção da manteiga e massa de cacau. Durante a moagem, o *nibs* são transformados em uma pasta também denominado de *liquor* de cacau. A separação da manteiga e a massa de cacau é realizada através de prensa hidráulica com pressão média de 520 kg/cm², resultando ao final uma massa de cacau que poderá ter de 10 a 24 % de gordura (ABBALLE *et al.*, 2021).

Com o objetivo de atender as exigências do mercado consumidor e também pela “gourmetização” do chocolate, o mercado originou dois tipos de produtos o *bean-to-bar* e *tree-to-bar* (GALLO; ANTOLIN-LOPEZ; MONTIEL, 2018; CHRIST; SALAZAR,

2020). *Bean-to-bar* são produtos em que as empresas monitoram todas as etapas desde as amêndoas de cacau. A tradução do termo é literal pois, significa do “grão ou amêndoa para o chocolate”, assim o produto é desenvolvido em uma cadeia produtiva mais curta. Já produtos *tree-to-bar* (“árvore ao chocolate”) as empresas monitoram todas as etapas de processamento levando em consideração desde o cultivo do cacau até a obtenção do produto final, ou seja, a própria fazenda produtora é responsável pelo processamento do chocolate (GALLO; ANTOLIN-LOPEZ; MONTIEL, 2018; CHRIST; SALAZAR, 2020).

Estes dois segmentos de mercado possuem maior destaque pois, proporcionam ao consumidor um produto com qualidade e, para a indústrias, maior valor agregado, considerando que a indústria tradicional trabalha com o processamento do chocolate a partir da massa de cacau (GALLO; ANTOLIN-LOPEZ; MONTIEL, 2018; CHRIST; SALAZAR, 2020).

3.4 RESÍDUOS DO PROCESSAMENTO DO CACAU

De acordo com a lei 12.305/2010 que regulamenta Política Nacional de Resíduos Sólidos (PNRS) e a NBR 10004/2004, definem resíduo como um material sólido, semissólidos e gases de recipientes líquidos que possuem descarte inviável em redes de esgoto ou corpos de água, que são resultantes da atividade humana sendo ela, doméstica ou industrial. Grande parte dos materiais consideradas resíduos perante a indústria responsável pelo beneficiamento de produtos, bem como pela população em geral, apresentam na maioria das vezes grande capacidade de “reutilização”. Devido isso, a valorização de resíduos para a o desenvolvimento de novos produtos vem sendo uma alternativa viável, tendo em vista, aspectos econômicos e ambientais, principalmente quando trata-se de resíduos agroindustriais que possuem potencial de uso. Atualmente estima-se que a agroindústria produz cerca de 50 % da produção mundial de resíduos (MENDOZA-MENESES; FERREGRINO-P´EREZ; GUTI´ERREZ-ANTONIO, 2021).

Uma das principais responsáveis por esta produção é a indústria de alimentos e bebidas a qual, vem inovando constantemente e observando novas tecnologias para aproveitamento máximo de suas matérias-primas. De acordo com IBAMA (2019), no Painel de Geração de Resíduos Sólidos, a indústria de alimentos produziu cerca de

51 milhões de toneladas por ano no Brasil, nesta estatística estão inseridos diferentes segmentos.

A indústria do cacau vem tomando espaço no cenário econômico mundial produzindo diferentes produtos, visto isso, a mesma toma um grande espaço na produção de resíduos agroindustriais pois, é necessário a produção de 10 toneladas de cacau para cada tonelada de amêndoas secas, carecendo de uma grande área de descarte destes, que são sólidos e líquidos (MARIATTI *et al.*, 2021). Cerca de 80 a 90 % do peso úmido do fruto é transformado em resíduo. Cada cacaueiro pode produzir em média 0,4 a 2 kg de fruto, conseqüentemente 0,32 a 1,6 kg destes seriam resíduos (Figura 10) subdivididos em: casca de cacau, casca da amêndoa, mucilagem e mel (GUIRLANDA; SILVA; TAKASHASHI, 2021).

Figura 10: Resíduos da indústria de cacau: (a) Casca do cacau, (b) casca da amêndoa, (c) mel e (d) mucilagem.



Fonte: GUEVARA, 2020; ANDRADE, 2018; GUIRLANDA, SILVA e TAKAHASHI, 2021.

A casca do fruto (Figura 10a) é o primeiro resíduo gerado após a colheita, na etapa de corte do cacau e remoção das bagas de sementes, que são destinadas a fermentação. Em comparação com os outros, é o de maior volume, representando 67 - 76 % da massa total do fruto *in natura*, composta pelo epicarpo, mesocarpo e endocarpo (OUATTARA *et al.*, 2021). Quando utilizado como adubo nas plantações de cacau, oferece um risco ao cultivo pela disseminação de insetos e pragas e também pelo processo de decomposição, liberando odores e *chorume*, conseqüentemente desenvolvendo doenças no cacaueiro que podem comprometer a colheita e a saúde da planta. É uma biomassa de lignocelulose rica em minerais (potássio), fibras (lignina, celulose e pectina) e antioxidantes (MARIATTI *et al.*, 2021).

Neste momento, durante a quebra das bagas do cacau e anteriormente a fermentação, grande parte da mucilagem do fruto pode ser removida pela pressão exercida. Além disso, ao fim da fermentação pela alteração do pH do meio e reações

de hidrólise, ocasionam o desprendimento da mucilagem da estrutura da semente, que agora passa a ser amêndoa. A mucilagem (Figura 10d) representa de 3 a 5 % da massa do fruto *in natura* e apresenta composição rica em açúcares fermentescíveis (10 - 14 %) como a sacarose, glicose e frutose e, por isso, desempenha papel importante durante a fermentação, além de sais minerais e fibras (MENDOZA-MENESES; FERREGRINO-PÉREZ; GUTIÉRREZ-ANTONIO, 2021).

O mel do cacau (Figura 10c), é o único subproduto líquido obtido durante o beneficiamento do cacau e o mesmo é resultante do processo de fermentação, que devido a ação de enzimas sobre a pectina, favorecem a liquefação da polpa e obtém um suco ou exsudado agridoce e translúcido, denominado de mel. O mel do cacau é obtido em maior quantidade durante a fermentação, porém, ele já é observado logo após a quebra do fruto no campo. Suas características químicas e sensoriais são semelhantes a polpa do cacau. (GUIRLANDA; SILVA; TAKASHASHI, 2021).

Já as cascas da amêndoa (Figura 10b) representam 10 a 17 % da massa da amêndoa, e a mesma pode ser obtida após a torra das amêndoas sendo separadas dos *nibs* de cacau, conforme descrito anteriormente. As cascas das amêndoas apresentam um grande destaque para a fermentação bem como na torra. Durante a fermentação disponibiliza de substrato e na torra protege as amêndoas do calor (MARIATTI *et al.*, 2021). Normalmente utilizada como fertilizante nas próprias plantações de cacau, porém tornam-se importantes ao observar que durante a fermentação muitos compostos migram da amêndoa para a casca e por isso, possui uma composição variada e alto teor de compostos fenólicos e alcaloides, em destaque alguns neurotransmissores (MENDOZA-MENESES; FERREGRINO-PÉREZ; GUTIÉRREZ-ANTONIO, 2021; MARIATTI *et al.*, 2021).

Os resíduos do cacau apresentam características e composição específicas, dependentes do tipo de processamento, cultivo e variedade, bem como as amêndoas (MARIATTI *et al.*, 2021). Devido ao aumento da demanda global, a indústria de cacau enfrenta barreiras para a produção e desenvolvimento de uma cadeia sustentável, buscando alternativas inovadoras para utilização destes subprodutos, devido sua alta potencialidade e riqueza de composição, além de que representam 80 a 90 % da massa do fruto *in natura*, transformando em uma pauta de grande importância nos países produtores (GUIRLANDA; SILVA; TAKASHASHI, 2021).

3.5 CASCA DA AMÊNDOA DE CACAU

A casca da amêndoa do cacau é considerada um resíduo perante a indústria pois, quando presente na constituição dos produtos, confere amargor e danifica equipamentos, causando abrasão. Estima-se que foram produzidos mais de 1035 milhões de toneladas de casca da amêndoa de cacau em todo o mundo, um montante expressivo (NETANIA *et al.*, 2021). Prioritariamente utilizada como fertilizante para o solo na própria fazenda, “combustível” nas caldeiras ou outros sistemas de aquecimento, e inserido na alimentação de animal (OKYWAMA *et al.*, 2017; CINAR *et al.*, 2021).

Minimizar o descarte de resíduos no processamento do cacau é uma prerrogativa a ser atendida, além disso, é evidenciado que a casca da amêndoa apresenta grande potencial de reutilização pela presença de componentes que tem ação anti-hipertensiva, anticarcinogênica, anti-inflamatória e antiglicêmica (ROSSIN *et al.*, 2021).

3.5.1 Composição da Casca da Amêndoa do Cacau

A Tabela 1 contém a composição centesimal da casca da amêndoa do cacau em que foram reportados valores por diferentes autores, que analisaram diferentes amostras em diferentes localidades.

Devido ao alto teor de fibras, as cascas podem ser aplicadas em formulações de produtos com baixo teor calórico, principalmente pela baixa concentração de carboidratos digeríveis, possibilitando a redução do índice de glicose e colesterol sanguíneo. Além disso, podem ser atribuídas outras funções às fibras, como prebiótica ou redução do estresse oxidativo e inflamatório no intestino, pela possibilidade de adsorverem polifenóis que possuem alta capacidade antioxidante (ROJO-POVEDO *et al.*, 2020).

De acordo com Lecumberri *et al.* (2007), quantificou as frações com 45 % compostos pécnicos, 35 % celulose e 20 % hemicelulose.

Tabela 1: Composição centesimal da casca da amêndoa de cacau conforme a literatura.

Literatura	ARLORI O <i>et al.</i> , 2001.	LECUMBER Ri <i>et al.</i> , 2006.	MARTÍNE Z <i>et al.</i> , 2012.	NSOR- ATINDAN A <i>et al.</i> , 2012	OKIYAM A <i>et al.</i> , 2019a.	ROJO- POVED A <i>et al.</i> , 2019.	BOTELLA - MARTÍNE Z <i>et al.</i> , 2021.
Localidade	Gana, África; Equador ; Costa do Marfim, África.	Nr	Cone e Taura, Equador.	Nr	Bahia, Brasil.	São Tomé, Guiné.	Bahia, Brasil.
Variedade	Nr	Nr	Trinitário	Forasteir o	Nr	Forasteir o	Nr
Carboidratos	Nr	Nr	20,4	Nr	3 ± 2	7,85	14,1
Proteína	18,1 ± 8	16,7 ± 2	15,0 ± 2	16,93 ± 0,59	17,0 ± 0,7	20,9	14,6
Lipídeos	6,8 ± 2	6,6 ± 4	2,02 ± 0,3	6,87 ± 0,52	18,2 ± 0,6	2,3	19,7
Fibras	60,6 ± 6	60,5 ± 3	Nd	60,02	46,43	55,1	37,5
Umidade	10,1 ± 6	Nr	7,7 ± 1	3,73 ± 0,46	9,6 ± 0,3	5,9	8,20
Cinzas	8,1 ± 4	11,42 ± 0,4	7,3 ± 1	5,96 ±0,26	6,30 ± 0,6	7,9	5,9

*Valores expressos em g 100 g⁻¹ (%); Nr (Não reportado).

Outras características que chamam atenção é o teor de lipídeos, relativamente “baixo”, porém, quando observado e comparado com outras fontes é constatado que apresenta um perfil semelhante a manteiga de cacau. De acordo com o observado por Lessa *et al.* (2018) e Okywama *et al.* (2019a), cerca de 40 - 50 % da fração lipídica são de ácidos graxos insaturados (oleico e linoleico) e a outra porção predominante são os saturados, palmítico e esteárico, em média 40 % da fração. Tais valores indicam a possibilidade de aplicação da fração como substituto da manteiga de cacau.

O teor de proteína, 10 – 20 %, instiga a investigação da amostra enquanto uma fonte de proteína, observando a busca constante por novas fontes. Rojo-Poveda *et al.* (2019), constatou que cerca de 78% da porção proteica presentes são digestíveis. Vale ressaltar que o valor de proteínas não está referido somente a cadeias proteicas, mas também a compostos nitrogenados que podem ser derivados como peptídeos, aminoácidos e aminas. Do total, aproximadamente 44,7 % da fração é de aminoácidos essenciais. Quando os compostos nitrogenados são observados na constituição do produto, desempenham papéis importantes nas características sensorial de odor, em seguida, ao processo de fermentação e torra (CHUNG; LIYAMA; HAN, 2003).

Já o teor de cinzas está relacionado a presença de minerais na conformação da amostra, ou seja, a matéria inorgânica, estes apresentem papéis importantes ao observar a necessidade dos mesmos na nutrição humana, sendo que potássio e sódio estão em maiores proporções. É importante destacar que o teor de minerais presentes na amostra está diretamente relacionado ao cultivo, tipo de solo e fertilizantes utilizados (ROJO-POVEDO *et al.*, 2020; BARBOSA-PEREIRA *et al.*, 2021).

A composição nutricional da casca da amêndoa de cacau possibilita desde já, a valorização da amostra para o direcionamento ao processamento ou incorporação em novos produtos, conseqüentemente tem-se o aproveitamento máximo e uma cadeia produtiva mais sustentável, com grande potencial de uso de suas matérias-primas e também baixo descarte de resíduos.

3.5.2 Compostos fenólicos

Os compostos bioativos desempenham papéis importantes no organismo humano, de acordo com Barbosa-Pereira *et al.* (2021) foram identificados a presença de 39 compostos na casca da amêndoa do cacau, que são classificados enquanto bioativos, dentre eles estão os flavonoides e metilxantinas (Figura 11).

Os compostos fenólicos são definidos quimicamente como estruturas orgânicas que possuem ao menos um fenol, compostos simples ou ligados a açúcares, proteínas e fibras. Desempenham um papel importante ao observar sua atividade antioxidante, prevenindo reações oxidativas, que podem estar relacionadas a doenças degenerativas (OKIYAMA *et al.*, 2017; CINAR *et al.*, 2021). São identificados como compostos secundários do metabolismo de plantas produzidos pelo estresse que está relacionado a defesa contra doenças ou condições extremas de cultivo envolvendo o solo, água e temperatura ambiental, sendo assim, essenciais para o crescimento e reprodução da planta (NETANIA *et al.*, 2022).

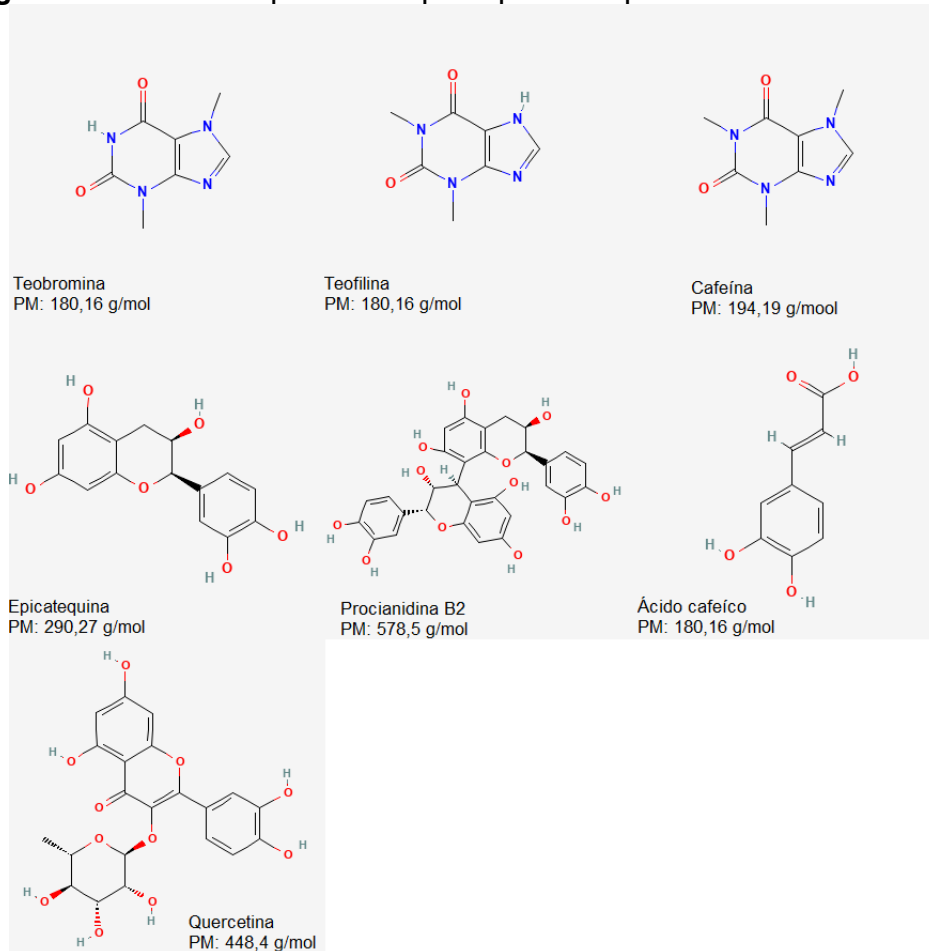
Conforme o destacado por Barbosa-Pereira *et al.*, (2021), polifenóis, subgrupo de classificação, são os mais significativos na casca da amêndoa e cacau, o teor varia de 237,1 a 1319,6 mg kg⁻¹ de amostra. Quando essa fração é caracterizada, tem-se presentes a epicatequina, catequina e procianidina-B2, nas concentrações de 0,178 – 19,5, 0,99 - 3,5 e 1,38 – 7,7 mg g⁻¹ em média, respectivamente. Tal faixa é observada devido a influência do processamento do cacau e da técnica e solvente extrator

utilizado pelos autores (OKYAMA *et al.*, 2017; 2018; CINAR *et al.*, 2021; BARBOSA-PEREIRA *et al.*, 2021).

Estes compostos já são observados no cacau e também em produtos derivados, porém a ação do processamento sobre o teor deste é intensa, podendo ter a redução de até 90 % da concentração inicial, do cacau (GUIRLANDA; SILVA; TAKASHASHI, 2021). Além destes compostos, foram observados a presença quercetina e ácidos fenólicos com destaque para os derivados de ácido protocateíco, hidrobenzoíco e o cafeíco. (BARBOSA-PEREIRA *et al.*, 2021).

Mesmo diante do efeito que o processamento tem sobre o teor destes compostos, o cacau torrado apresenta uma das maiores respostas para polifenóis quando comparado com outros produtos, que são consumidos e apreciados sensorialmente, mas possuem um apelo nutricional, tal como, café e vinho (OKYWAMA *et al.*, 2017).

Figura 11: Estrutura química de principais compostos fenólicos e metilxantinas.



Fonte: Adaptado, OKIYAMA *et al.*, 2018.

3.5.3 Metilxantinas

São conhecidas como pseudoalcalóides que estimulam do sistema nervoso central. Em amostras gerais de cacau e produtos derivados já foram observadas a presença de cafeína (1,3,7 – dimetilxantina) e teobramina (3,7 – dimetilxantina) em maiores proporções, e a teofilina (1,3-dimetil-7h-purina-2,6-diona) em traços. A investigação das mesmas em diferentes amostras de origem vegetal justifica-se principalmente, pelo efeito positivo em relação ao humano, tal como, ação anticarcinogênica, diurética e anti-obesidade (BARBOSA-PEREIRA *et al.*, 2021).

Na casca da amêndoa de cacau os níveis de teobromina podem ser de 5 a 7 vezes mais alto, quando comparado com a cafeína, apresentando níveis dentre 0,39-1,83 mg/100 g de amostra e 0,04-0,42 mg 100 g⁻¹, respectivamente (ROJO-POVEDA *et al.*, 2019). Já para teofilina, de acordo com Barbosa-Pereira *et al.*, (2021), os níveis são baixos, porém, destaca uma grande influência da torra, cultivo, processamento e variedade estes compostos já são adicionados a formulação de fármacos, porém desempenham papel sensorial importante no consumo de diferentes produtos. São incolores e inodoras, e apresenta amargor, característica compatível aos derivados de cacau. Em comparação, a teobromina possui 2 a 3 vezes menos receptores do que a adenosina e a cafeína, porém é um broncodilatador no tratamento de asma (ROJO-POVEDA *et al.*, 2019; OUATTARA *et al.*, 2021).

Devido a presença de tais compostos na conformação da casca da amêndoa do cacau a utilização para formulação de alimentos animais é evitada em função de sua toxicidade aos organismos de alguns animais (ADAMAFIO, 2013).

REFERÊNCIAS

ARLORIO, M.; COISSON, J. D.; RESTANI, P.; MATINELLI, A. Characterization of pectins and some secondary compounds from *Theobroma cacao* Hulls. **JFS Food Chemistry and Toxicology**, v. 66, (n. 5), 2001.

ADAMAFIO, N. A. Theobromine toxicity and remediation of cocoa byproducts: An overview. **Journal of Biological Sciences**, v. 13, pg. 570 – 576, 2013.

AFOAKWA, E. O. **Cocoa Production and Processing Technology**. Editora CRC Press, London, 2014.

ANDRADE, C. Nibs de Cacau. *In: Vonin Maquinários*. 2018. Disponível em: <<https://www.voninmaquinas.com.br/nibs-de-cacau/>>. Acesso em: 17/01/2022.

ANDRADE, C. Nibs de Cacau. *In: Vonin Maquinários*. 2018. Disponível em: <<https://www.voninmaquinas.com.br/como-fazer-nibs-de-cacau/>>. Acesso em: 17/01/2022.

ABBALLE, C.; GOMES, F. M. L.; LOPES, B. D.; OLIVEIRA, A. P.; BERTO, M. I.; EFRAIM, P.; TFOUNI, S. A. V. Cocoa Bean derived products: Effect of processing on polycyclic aromatic hydrocarbons levels. **LWT**, v. 135, 2021.

AIPC: Associação Nacional de Industria Processadoras de Cacau. Recebimento de cacau cresce em 2023 e é 7% maior que o do ano anterior. *In: AIPC*, 2024. Disponível em: <<https://aipc.com.br/recebimento-de-cacau-cresce-em-2023-e-e-7-maior-que-o-do-ano-anterior-2/>>. Acesso em: 05/01/2024.

BRAY, J. From cacau tree to bean: the beginning of fermentation. *In: On the cocoa trail*, 2012. Disponível em: <<https://onthecocoatrail.com/2012/06/20/from-tree-to-bean-the-beginning-of-fermentation/>>. Acesso em: 17/01/2022.

BRITO, D. Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira (CEPLAC): Brasil quer ganhar posições na produção mundial de cacau e chocolate. *In: Gov.br*, 2020. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/noticias/brasil-quer-retomar-protagonismo-no-cenario-global-de-cacau-e-chocolate>>. Acesso em: 17/01/2022.

BARBOSA-PEREIRA, L.; BELVISO, S.; FERROCIANO, I.; ROJO-POVEDA, O.; ZEPPA, G. Characterization and Classification of Cocoa Bean Shells from Different Regions of Venezuela Using HPLC-PDA-MS/MS and Spectrophotometric Techniques Coupled to Chemometric Analysis. **Foods**, v. 10, 2021.

BOTELLA-MARTÍNEZ, Carmen *et al.* Ghanaian cocoa (*Theobroma cacao* L.) bean shells coproducts: Effect of particle size on chemical composition, bioactive compound content and antioxidant activity. **Agronomy**, v. 11, (n. 2), p. 401, 2021

CHUNG, B.Y.; IYAMA, K.; HAN, K.W. Compositional Characterization Of Cacao (*Theobroma cacao* L.) Hull. **Journal Applications Biological Chemistry**, v. 46, pg. 12–16, 2003.

CHIRST, M. L.; SALAZAR, V. Do cacau ao chocolate: Estratégias de Internacionalização do chocolate tree-to-bar da Bahia. **XLIV Encontro da ANDAP**, p. 2177 – 2576, 2020.

CINAR, Z. O.; ATANASSOVA, M.; TUMER, T. B.; CARUSO, G.; ANTIKA, G.; SHARMA, S.; SHARIFI-RAD, J.; PEZZANI, R.. Cocoa and cocoa bean shells role in human health: An updated review. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 103, 2021.

EFRAIM, Priscilla *et al.* Characteristics of cocoa butter and chocolates obtained from cocoa varieties grown in Bahia, Brazil. **European Food Research and Technology**, v. 237, p. 419-428, 2013.

FERREIRA, A. C. R. **Beneficiamento de Cacau de Qualidade Superior**. Editora PTCSB, Ilhéus – BA, 2017.

GIACOMETTI, J.; JOLIC, S. M.; JOSIC, D. **Cocoa Processing and Impacto on Composition**. Editora Elsevier, cap. 17, 2015.

GALLO, P. J.; ANTOLIN-LOPEZ, R.; MONTIEL, I. Associative Sustainable business Models: Case in the bean-to-bar chocolate industry. **Journal of Cleaner Production**, ed. 174, p. 905 – 916, 2018.

GUEVARA, J. Um passo-a-passo da colheita e processamento do cacau. *In: Perfect Daily Grind*, 2020. Disponível em: <<https://perfectdailygrind.com/pt/2020/11/24/passo-a-passo-colheita-processamento-do-cacau/>>. Acesso em: 17/01/2022.

GUILANDA, C. P.; SILVA, G. G.; TAKAHASHI, J. A. Cocoa honey: Agro-industrial waste or underutilized cocoa by product?. **Future Foods**, v. 4., 2021.

IMBERTI, R. M. **Estudo da secagem artificial de amêndoas de cacau visando ao aproveitamento na indústria de chocolate**: Otimização estrutural do processo e eficiência energética. Universidade Federal do Espírito Santo, ES, 2017.

IBAMA. Painel de Geração de Resíduos Sólidos. *In: IBAMA*, 2019. Disponível em: <<https://app.powerbi.com/view?r=eyJrljoiNjVkNmZhNjgtNTFjYS00NTEwLTkyZDQtNGE3Y2VINzc2MzdkliwidCI6IjM5NTdhMzY3LTZkMzgtNGMxZi1hNGJhLTMzZThmM2M1NTBINyJ9>>. Acesso em: 06/02/2022.

ICCO: International Cocoa Organisations. Growing Cocoa. *In: ICCO*, 2020. Disponível em: <<https://www.icco.org/growing-cocoa>>. Acesso em: 17/01/2022.

ICCO: International Cocoa Organisations. Cocoa Market report: November. Novembro/2021^a. Disponível em: <<https://www.icco.org/wp-content/uploads/ICCO-Monthly-Cocoa-Market-Report-November-2021.pdf>>. Acesso em: 17/01/2022.

ICCO: International Cocoa Organisations. Production of Cocoa Beans. ICCO Quaterly Bulletin of Cocoa Statistics. *In: ICCO*, 2021^b. Disponível em: <https://www.icco.org/wp-content/uploads/Production_QBCS-XLVII-No.-4.pdf>. Acesso em: 17/01/2022.

LUCUMBERRI, E.; MATEOS, R.; IZQUEIRO-PULIDO, M.; RUPÉREZ, P.; GOYA, L.; BRAVO, L. Dietary fiber composition, antioxidant capacity and physico-chemical properties of a fiber-rich from cocoa (*Theobroma cacao* L.). **Food Chemistry**, v. 104, p. 948-954, 2007.

Lei nº 12.305: Institui a Política Nacional de Resíduos Sólidos; altera a Lei no 9.605, de 12 de fevereiro de 1998; e dá outras providências. BRASIL, 2010.

LESSA, O.A.; DOS SANTOS REIS, N.; LEITE, S.G.F.; GUTARRA, M.L.E.; SOUZA, A.O.; GUALBERTO, S.A.; DE OLIVEIRA, J.R.; AGUIAR-OLIVEIRA, E.; FRANCO, M. Effect of the solid state fermentation of cocoa shell on the secondary metabolites, antioxidant activity, and fatty acids. **Food Science and Biotechnology**, v. 27, pg. 107–113, 2018.

MARTÍNEZ-Cervera, S; SALVADOR, A; MUGUERZA, B; MOULAY, L; FISZMAN, S. M. Cocoa fibre and its application as a fat replacer in chocolate muffins. **Food Science and Technology**, v. 44, p.729-736, 2012.

MST, Movimento dos Trabalhadores Rurais sem Terra. “Vassoura de Bruxa”: do latifúndio do cacau devastado à produção orgânica. *In: MST*, 2021. Disponível em: <<https://mst.org.br/2020/12/01/vassoura-de-bruxa-do-latifundio-do-cacau-devastado-a-producao-organica/>>. Acesso em: 17/01/2022.

MARIATTI, F.; GUNJEVIC, V.; BOFFA, L.; CRAVOTTO, G. Process intensification Technologies for the recovery of valuable compounds from cocoa by-products. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 63, 2021.

MENDOZA-MENESES, C. J.; FEREGRINO-PÉREZ, A. A.; GUTIÉRREZ-ANTONIO, C. Potential Use of Industrial Cocoa Waste in Biofuel Production. **Journal of Chemistry**, v. 2021, p. 1-11, 2021.

NBR 10004: Resíduo sólido – Classificação. Brasil, 2004.

NSOR-ATINDANA, J.; ZHONG, F.; MOTHIBE, K. J. In vitro hypoglycemic and cholesterol lowering effects of dietary fiber prepared from cocoa (*Theobroma cacao* L.) shells. **Food & Function**, v. 3, pg. 1044 - 1050, 2012.

NETANIA, G.; PERMANA, T.; EFFENDY, J.; SANTOSO, F.; OSLO, E. A. A Review on the Potential Applications of Cocoa Shell in Food Industry. **Advances in Biological Sciences Research**, v. 16, 2022.

OKIYAMA, D.; NAVARRO, S. L. B.; RODRIGUES, C. E. Cocoa shell and its compounds: Applications in the food industry. *Trends in Food Science e Technology*, v. 63, pg 103-102, 2017.

OKIYAMA, D.; SOARES, I. D.; CUEVAS, M. S.; CREVELIN, E. J.; MORAES, L. A. B.; MELO, M. P.; OLIVEIRA, A. L.; RODRIGUES, C. E. Pressurized liquid extraction of flavanols and alkaloids from cocoa bean shell using ethanol as solvent. *Food Research International*, v. 14, pg. 20 – 29, 2018.

OKIYAMA, D.; SOARES, I. D.; TODA, T. A.; OLIVEIRA, A. L.; RODRIGUES, C. E. Effect of the temperature on the kinetics of cocoa bean shell fat extraction using pressurized ethanol and evolution of the lipid fraction and degatted meal. *Industrial Crops & Products*, v. 130, pg. 96 -103, 2019.

OUATTARA, L. Y.; KOUASSI, E. K. A.; SORO, D.; SORO, Y.; YAO, K. B.; ADOUBY, K.; DROGUI, A. P.; TYAGI, D. R.; AINA, P. M. Cocoa Pod Husks as potential sources of renewable high-value-added: A review of current valorizations and future prospects. **Bioresources**, v. 16, 2021.

PAVLOVIC, N.; JOKIĆ, M S.; JAKAVLJEVIC, M.; BLAZIC, M.; MOLNAR, M. Green Extraction Methods for Active Compounds from Food Waste: Cocoa Bean Shell. **Foods**, v. 9, p. 140, 2020.

PANDA, António *et al.* Influence of cocoa origin on the nutritional characterization of chocolate. **European Food Research and Technology**, v. 248, n. 10, p. 2569-2577, 2022.

REDGWELL, R.; TROVATO, V.; MERINAT, S.; CURTI, D.; HEDIGER, S.; MANEZ, A. Dietary fibre in cocoa shell: Characterisation of component polysaccharides. **Food Chemistry**, v. 81, pg. 103 – 112, 2003.

ROJO-POVEDA, O.; BARBOSA-PEREIRA, L.; MATEUS-RUGUENGO, L.; BERTOLINO, M.; STÉVIGNY, C.; ZEPPA, G. Effect of particle size and extraction methods on cocoa bean shell functional beverage. **Nutrients**, v. 11, p. 867, 2019.

ROJO-POVEDA, Olga *et al.* Cocoa bean shell—a by-product with nutritional properties and biofunctional potential. **Nutrients**, v. 12, n. 4, p. 1123, 2020.

ROSSIN, D.; BARBOSA-PEREIRA, L.; IAIA, N.; SOTTERO, B.; DANZERO, A. C.; POLI, G.; ZEPPA, G.; BIASE, F. Protective Effect of Cocoa Bean Shell against Intestinal Damage: An Example of Byproduct Valorization. **Antioxidants**, v. 10, p. 280, 2021.

DE SOUZA, José; HADLICH, Debora Patrícia Fischer; MAAHS, Thales Rômulo. Automação da produção de chocolates em escala não industrial. *Revista Liberato*, v. 14, n. 22, p. 187-198, 2013.

SOUZA, E. C. M. **Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB)**: Cacau (Amêndoa). *Análise Mensal*, 2018.

SILVA, L. F. **Cacau: Sul da Bahia**. Editora Porto Alegre: PLUS, ed. 1, 2019.

DA SILVA, Joilna Alves *et al.* Caracterização química e fitoquímica, toxicidade e atividade antioxidante In Vitro, de Clones de Pedúnculos de Caju (*Anacardium Occidentale* L.). **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 8, p. 79458-79470, 2021.

CAPITULO II: Compostos Fenólicos e Atividade Antioxidante da Casca da Amêndoa do Cacau com Origem do Bioma Amazônico e Atlântico

Resumo

As cascas da amêndoa de cacau (CAC) são resíduos originários da produção do chocolate, com potencial uso pela indústria de alimentos. O objetivo desta pesquisa foi analisar CAC de origem Amazônicas e Atlânticas, cultivadas como cabruca e selvagem, afim de observar a influência destes fatores na composição fenólica e no perfil de metilxantinas. Para isso, foram coletadas 11 CAC, e o perfil de fenólicos e metilxantinas foram determinados por UHPLC-PDA, fenólicos totais por Folin-Ciocalteu, e a atividade antioxidante por ABTS+ e DPPH°. As diferentes CAC apresentaram valores elevados de teobromina de 14,26 a 21,18 mg 100 g⁻¹, compostos fenólicos 11,05 a 22,54 mg EAG g⁻¹ e atividade antioxidantes para ABTS+ 267,06 a 511 mmol eq trolox g⁻¹ e DPPH° 137,86 a 267,42 mmol eq trolox g⁻¹. A Análise dos Componentes Principais (ACP), indicou a formação de grupos distintos com explicação de 68,94 %. As CAC possuem grande potencial de uso e aplicação na indústria de alimentos.

Palavras-chaves: Resíduos; Cacaueira; Metilxantinas; Bioma; Radical Livres.

Situação: Artigo a ser submetido à *Food Chemistry*
Eduardo Lolato^{1*}; André Luiz Buzzo Mori¹; Karla Bigetti Guergoletto¹.

¹Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos (DCTA), Universidade Estadual de Londrina (UEL), Rodovia Celso Garcia Cid, PR-445, km 380 – Campus Universitário, Londrina – PR, 86057-970. eduardoololato@gmail.com/eduardo.lolato@uel.br - +55 49 99191-0737

1. INTRODUÇÃO

A *World Chocolate Day* destaca que o Brasil é o 7º maior produtor e exportador de cacau e derivados no mundo com uma produção de 33.521 toneladas de chocolate e 54.756 toneladas de outros produtos, garantindo em 2022 a movimentação de \$ 226 milhões de dólares (AIPC, 2024).

O Brasil é um país de clima tropical com biomas que caracterizam a região, sendo eles: Amazônia, Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica, Pampa e Pantanal. Observando que o cacau é um fruto com desenvolvimento em regiões de mata equatorial, os biomas Amazônicos e Atlânticos tomam uma grande porção na produção anual brasileira (AFOAKWA, 2014; SILVA, 2019). Além disto, é observado que variáveis do cultivo, origem e processamento impactam diretamente nas características da composição química do cacau (ROJO-POVEDO *et al.*, 2020; BARBOSA-PEREIRA *et al.*, 2021).

A produção do cacau impacta diretamente diferentes sistemas econômicos, que estão presentes em cada etapa da cadeia produtiva. Um dos fatores observados é o descarte de resíduos agroindustriais oriundos desse processamento, já que, cadeias produtivas sustentáveis estão em evidência e agregam valor aos produtos disponibilizados. No geral, a produção do cacau é dividida em três etapas essenciais, a colheita, beneficiamento e o processamento, sendo a colheita, a fermentação e a torra fatores determinantes destas etapas para qualidade do produto (AFOAKWA, 2014).

Os resíduos são produzidos em toda a cadeia produtiva do chocolate, em destaque, a casca (67 – 76 %), mucilagem (3 – 5 %), mel e casca da amêndoa do cacau (CAC) (GUIRLANDA; SILVA; TAKASHASHI, 2021). A CAC ocupa de 10 a 17 % em massa do fruto e é obtida após a torra da amêndoa. Quando presente na formulação dos produtos, é vista como uma sujidade por conferir amargor e adstringência. Atualmente a CAC não possui um destino adequado e geralmente é indicada para adubação nas próprias fazendas de cultivo, porém, a mesma vem despertando interesse já que apresenta uma composição variada e rica em lipídeos, compostos fenólicos e metilxantinas (MENDOZA-MENESES; FERREGRINO-PÉREZ; GUTIÉRREZ-ANTONIO, 2021; MARIATTI *et al.*, 2021).

Neste contexto a CAC tem sido investigada a fim de observar suas potencialidades, que de acordo com Okiyama *et al.*, (2017) apresenta elevados teores

de metilxantinas dentre elas, teobromina e cafeína. Além do perfil de fenólicos semelhantes ou superior ao observado no chocolate, predominando a catequina, procianidina B2 e quercetina, uma vez que é observado uma transferência destes compostos da amêndoa para a casca durante a fermentação e torra. Outro fator importante é a atividade antioxidante do resíduo.

Tendo em vista a produção e as diferentes cadeias produtivas do cacau presentes no Brasil e a escassez de estudos relatando a influência do cultivo e origem nas características e composição da CAC, o objetivo do presente trabalho foi analisar CAC coletadas nos biomas Amazônico e Atlântico, cultivadas pelos métodos cabruca e selvagem, a fim de elucidar a possível influência dos métodos de cultivo e/ ou bioma no conteúdo de compostos fenólicos, metilxantinas e atividade antioxidante.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Materiais

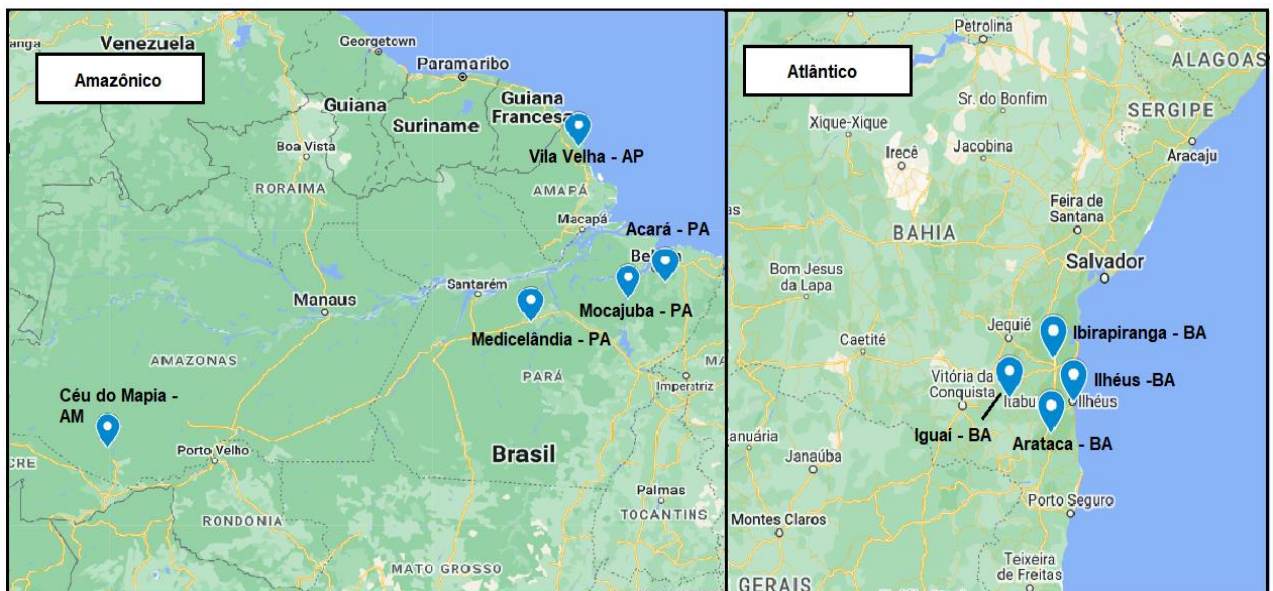
Foram coletadas 11 cascas de amêndoa de cacau (CAC) que diferem em origem e cultivo, conforme a tabela 1 e figura 1. Assim que recebidas as amostras foram fracionadas (250 g) e acondicionadas à vácuo em embalagens de polínylon, a temperatura de congelamento (- 22° C) ao abrigo de luz. Somente antes da execução das análises estas foram moídas em moinho (moinho *Penter 3100*).

Os padrões teobromina (≥ 98 %; CAS 83-67-0), teofilina (≥ 99 %; CAS 58-55-9) catequina (≥ 98 %; CAS 225937-10-0), cafeína (≥ 99 %; CAS 58-08-2), procianidina B2 (≥ 99 %; CAS 29106-49-8), ácido caféico (≥ 98 %; CAS 331-39-5), quercetina (≥ 95 %; CAS 117-39-5); as fases moveis metanol (≥ 99 %; CAS 67-56-1) e ácido fórmico (≥ 95 %; CAS 64-18-6); e DPPH^o (2,2-difenil-1-picrilhidrazil; ≥ 98 %; CAS 1898-66-4), ABTS+ [dicloridrato de 2,2'-azobis(2-metilpropionamida) ≥ 98 %; CAS 30931-67-0], Trolox [(S)-6-metoxi-2,5,7,8-ácido tetrametilcromano-2-carboxílico] e ácido gálico (≥ 99 %; CAS 5995-86-8) foram adquiridos da Sigma-Aldrich e Supelco (St. Louis, MO, USA).

Tabela 1: Informações de origem e cultivo das cascas da amêndoa do cacau.

Código	Variedade	Origem (Bioma)	Localidade	Cultivo
AM 1	Trinitário	Amazônica	Acará - PA	Selvagem
AM 2	Trinitário	Amazônica	Vila Velha - AP	Selvagem
AM 3	Trinitário	Amazônica	Vila Céu Mápia - AM	Selvagem
AM 4	Trinitário	Amazônica	Macajuba - PA	Selvagem
AM 5	Ni	Amazônica	Madicelândia - PA	Cabruca
AM 6	Forasteiro	Amazônica	Madicelândia - PA	Cabruca
AL 1	Forasteiro Catongo	Atlântica	Ilhéus - BA	Cabruca
AL 2	Ni	Atlântica	Ibirapiranga - BA	Cabruca
AL 3	Trinitário	Atlântica	Arataca - BA	Cabruca
AL 4	Geneticamente modificado	Atlântica	Arataca - BA	Cabruca
AL 5	Forasteiro	Atlântica	Iguaí - BA	Cabruca

*Ni = Não informado.

Figura 12: Mapa de localização de coleta de amostras nos biomas Amazônico e Atlântico.

Fonte: Google Maps, 2024.

2.2 Extração dos Compostos

A extração dos fenólicos e metilxantinas das CAC foi realizada conforme Okiyama *et al.*, (2018) e Barbosa-Pereira *et al.*, (2021), com adaptações. 1,5 g de

casca moída e 30 mL de etanol 50 % (v/v), foram homogeneizadas em *shaker* com 3 oscilações/s por 2 h a temperatura ambiente e ao abrigo de luz. Em seguida o extrato foi centrifuga, o extrato foi separado em rotação de 4200 g/g por 10 min a 4 °C e o sobrenadante filtrado em filtro PTFE 0,45 µm. A extração foi realizada em duplicata e o extrato foi mantido ao abrigo de luz a - 22 °C, até o uso nas respectivas análises.

2.3 Perfil de Compostos fenólicos por UHPLC-UV/DAD

O método de determinação de compostos fenólicos das cascas foi executado conforme as metodologias de Barbosa-Pereira *et al.*, (2021). Os compostos foram separados em cromatógrafo líquido de ultra alta eficiência (UHPLC – *Water Acquity*, Warrer, Milford, CT, USA) equipado com injetor automático de amostras, sistema de bombeamento de solvente quaternário, aquecimento e resfriamento de coluna e detector de arranjo de diodos (PDA - *Water Acquity*, Warrer, Milford, CT, USA). O volume de injeção do extrato foi de 10 µL. A separação foi realizada em coluna de C18 Kinetex® (100 x 2,1 mm, 1,7 µm tamanho de partícula) a 30 °C com vazão de 0,3 mL/min, utilizando (A) ácido fórmico 0,2 % (v/v) e (B) metanol com seguinte gradiente: 0 – 1 min, 99 A: 1 B; 1 – 5 min, 70 A: 30 B; 6 – 9 min, 1 A: 99 B; 9,01 – 13 min, 99 A: 1 B. Os compostos quantificados em 272 nm foram, teobromina (TEO), teofilina (TEOF), cafeína (CAF), catequina (CAT), procianidina B2 (PB2), ácido cafeico (ACAF) em 320 nm e quercetina (QUER) em 370 nm, foram quantificados utilizando curva padrão com 7 níveis, e o limites de quantificação e detecção estão na tabela 2.

Tabela 2: Limites de Detecção e Quantificação para Cromatografia.

Composto	Limite de Detecção - LD	Limite de Quantificação - LQ	r ² e p
Teobromina	0,473502	1,578340756	0,991 e p<0,01
Teofilina	0,862582	2,875274917	0,995 e p<0,01
Cafeína	1,664659	5,548862448	0,998 e p<0,01
Catequina	1,126582	3,755272051	0,990 e p<0,01
Procianidina B2	0,476824	1,589412899	0,999 e p<0,01
Ácido cafeico	2,401489	8,004962026	0,999 e p<0,01
Quercetina	1,222516	4,075052202	0,992 e p<0,01

*Os valores de LD e LQ estão em mg L⁻¹

2.4 Compostos Fenólicos totais

A determinação dos compostos fenólicos totais foi realizada pelo método colorimétrico de Folin Ciocalteau, de acordo com a metodologia de Kumazawa *et al.*, (2002) e Singleton, Orthofer e Lamuela Reventos (1999), adaptada por Handa *et al.*, (2015), utilizando curva analítica de ácido gálico com 7 níveis ($r^2=0,9934$) e a leitura feita em espectrofotômetro (BioChrom, Libra S22) a 760 nm. O conteúdo de compostos fenólicos totais foi expresso em mg equivalente ácido gálico (EAG) 100 g⁻¹ de amostra. A análise foi realizada em triplicata.

2.5 Atividade Antioxidante

A determinação da atividade antioxidante por DPPH (2,2 difenil-1-picril hidrazil), foi executada conforme metodologia de Denis, Madeira e Almeida (1994) adaptada por Handa *et al.*, (2015). Com isso, foi pipetado 50 µL de extrato, 1 mL de solvente extrator e 50 µL da solução de radical DPPH° (250 µmol L⁻¹ em etanol), homogeneizado em agitador de tubos por 10 segundos e após 15 min de reação a leitura foi realizada em espectrofotômetro (BioChrom, Libra S22) em 517 nm. A curva analítica de trolox foi feita com 7 níveis ($r^2=0,9921$) e a atividade antioxidante foi expressa mmol equivalente de trolox g⁻¹.

Para ABTS+ foi feita de acordo com a metodologia de Re *et al.*, (1996) adaptada por Handa *et al.*, (2015). Foi preparado uma solução de ABTS+ a 7 mmol L⁻¹ em persulfato de potássio 2,25 mmol L⁻¹, e após 16 horas de reação foi diluído em tampão fosfato a 20 mmol L⁻¹ até absorvância de $0,700 \pm 0,020$, em 730 nm. Para a reação foi utilizado 15 µL de extrato e 4 mL de ABTS+ diluído, a leitura foi realizada em 730 nm em espectrofotômetro (BioChrom, Libra S22). A curva de trolox foi feita com 7 níveis ($r^2=0,9988$) em triplicata e a atividade antioxidante foi expressa mmol equivalente de trolox g⁻¹.

2.6 Análise estatística

Os resultados foram apresentados como média ($n = 3$) \pm desvio padrão e analisados por ANOVA seguido do teste de comparação múltipla *Tukey* a um nível e significância de 5 %, em *Statistic 7.1* (*StartSoft*, Tusa, OK, EUA), considerando todas

as amostras e posteriormente a divisão das amostras por tipo de bioma (Amazônico e Atlântico)

Adicionalmente, os resultados foram analisados pela Análise dos Componentes Principais (ACP) e Análise Hierárquica de Agrupamento no *Statistic 7.1* (StartSoft, Tusa, OK, EUA). As variáveis ativas foram compostos fenólicos, teobromina, cafeína, catequina, procianidina B2, ácido cafeico, quercetina, DPPH e ABTS+.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1 Perfil de compostos fenólicos e metilxantinas

O perfil dos compostos fenólicos e metilxantinas obtidos para as CAC das origens Amazônicas e Atlânticas estão apresentados na tabela 3. Nas 11 amostras avaliadas, a teofilina não foi quantificada e isto pode ser em decorrência do calor durante a torra das amêndoas de cacau, que conforme reportado por Lo Coco *et al.*, (2007) e Okiyama *et al.*, (2018), os baixos níveis desta metilxantina é observado em altas temperaturas. Em amostras de cupuaçu e cacau analisadas por cromatografia líquida, somente foi possível detectá-lo no grupo que não sofreu este tipo de tratamento (LO COCO *et al.*, 2007).

Tabela 3: Teores de teobromina, catequina, cafeína, procianidina b2, ácido cafeico e quercetina nas Cascas da Amêndoa do Cacau.

Amostra	TEO	CAT	CAF	PB2	ACAF	QUER
AM 1	14,26 (±0,12) ^{aF}	<LQ	1,75 (±0,06) ^{aBC}	<LQ	<LQ	2,04 (±0,01) ^{aA}
AM 2	14,87 (±0,7) ^{aEF}	2,12 (±0,14) ^{aD}	1,59 (±0,03) ^{aBC}	<LQ	<LQ	<LQ
AM 3	15,21 (±0,09) ^{aD} EF	1,68 (±0,08) ^{bE}	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
AM 4	16,16 (±0,31) ^{aC} DE	<LQ	1,74 (±0,04) ^{aAB}	<LQ	<LQ	2,06 (±0,01) ^{aA}
AM 5	19,09 (±1,0) ^{aB}	<LQ	2,34 (± 0,8) ^{aAB}	<LQ	<LQ	<LQ
AM 6	16,63 (±0,35) ^{aC} D	<LQ	1,91 (±0,02) ^{aBC}	<LQ	<LQ	<LQ
AL 1	14,64 (±0,13) ^{cBC}	3,78 (±0,14) ^{aA}	2,79 (±0,08) ^{bA}	2,78 (±0,01) ^{aA}	<LQ	<LQ

AL 2	17,38 (±0,4) ^{cC}	3,58 (±0,16) ^{abA}	2,61 (±0,1) ^{bcABC}	<LQ	<LQ	<LQ
AL 3	19,22 (±0,42) ^{bB}	2,99 (±0,14) ^{cC}	2,45 (±0,09) ^{cdAB} C	<LQ	<LQ	<LQ
AL 4	21,18 (±0,5) ^{aA}	3,29 (±0,13) ^{bB}	3,03 (±0,1) aA	1,95 (±0,03) ^{bB}	8,78 ± (0,2)	<LQ
AL 5	17,13 (±0,4) ^{cC}	2,82 (±0,12) ^{cC}	2,29 (±0,07) ^{dABC}	1,56 (±0,08) ^{dB}	<LQ	<LQ

Os valores apresentados estão em base seca, mg 100 g⁻¹ de casca da amêndoa do cacau. <LQ = Valor inferior ao limite de quantificação. TEO – Teobromina; CAT – Catequina; CAF – Cafeína; PB2 – Procianidina B2; ACAF – Ácido cafeico; QUER – Quercetina.

As amostras AM são Amazônicas e AL são Atlânticas.

^aLetras minúsculas apresentam diferenças significativas 5 % dentre os biomas, Atlântica e Amazônica.

^ALetras maiúsculas apresentam diferença significativa 5 % dentre as amostras do mesmo bioma.

A cafeína e teobromina foram as metilxantinas mais representativas observadas nas CAC, em geral, os resultados foram maiores para a teobromina, com uma faixa de 14,26 a 21,18 mg 100 g⁻¹, que foram menores do que o observado em amostras analisadas por Okywama *et al.*, (2018) e Barbosa-Pereira *et al.*, (2021), que quantificaram para amostras originárias do Brasil (799 mg 100 g⁻¹) e Venezuela (84 a 515 mg 100 g⁻¹). A amostra AL 4 apresentou o maior valor de teobromina (21,18 mg 100 g⁻¹) e teve diferença significativa do restante das amostras, está é caracterizada por origem Atlântica, geneticamente modificada e cultivo cabruca.

Conforme o observado por Chang *et al.*, (2024) os teores de teobromina para a pasta de cacau são superiores ao observados para a amostra AL 4, que foi relatado um teor de 1990 mg 100 g⁻¹ e Martins *et al.*, (2023) que analisou chocolate amargo e quantificou teores de 767 mg 100 g⁻¹ para teobromina e 108 mg 100 g⁻¹ para cafeína em amostras de chocolate da CCN51.

Esses valores mais baixos podem ter sido influenciados pelo processo de torra, já que é observado a migração das metilxantinas da amêndoa para a casca, dependendo do binômio tempo e temperatura aplicado no processo. Desta forma a migração pode ser maior ou menor, além dos fatores como origem e variedade das amostras, e técnica de extração dos compostos, podem ser determinantes para a quantificação destes (TIMBIE, SECHRIST e KEENEY, 1978).

Para catequina as amostras Atlânticas apresentaram maiores valores. Os valores encontrados neste trabalho (1,56 a 2,78 mg 100 g⁻¹) são inferiores ao reportado por Barbosa-Pereira, Guglielmetti e Zeppa (2017), 6440 – 43940 mg 100 g⁻¹, porém o autor utilizou da técnica de Extração Assistida por Campo Eletromagnético,

visando maior extração de fenólicos. Já Vargas-Arana *et al.*, (2022), quantificou catequina em uma farinha de resíduos do cacau da variedade AL 4 e observou níveis 22 a 111 mg 100 g⁻¹, ou seja, cerca \pm 15 % a mais do que o observado nas amostras.

Já para a procianidina B2 foi quantificada somente nas amostras do bioma Atlântico e a AL 1 obteve o maior valor (2,78 mg 100 g⁻¹) que é caracterizada como uma amostra *catonga*. O cacau *catongo* é muito comum no Sul da Bahia, é um fruto que sofre mutação genética no grupo amelonado, ou seja, é recessivo para antocianinas, que conferem coloração roxa as sementes (SANT'ANA *et al.*, 2020).

A variação dos valores de catequina e procianidina B2 sofrem grande influência da fermentação. Já que durante esta etapa os compostos podem ser oxidados ou migrados para outros resíduos, em destaque o mel de cacau (FABRIANTO, WANG e ZHU, 2021; GUIRLANDA *et al.*, 2021). De acordo com Efraim, Alves e Jardim (2011) pode-se ter uma redução de até 70 % do valor inicial de polifenóis encontrados no fruto.

É possível observar com relação ao fator origem, que somente uma amostra Atlântica foi detectada a presença de ácido cafeíco, 1,95 mg 100 g⁻¹ (CCN51). De acordo com Hernández-Hernández *et al.*, (2018), o ácido caféico sofre uma grande influência do cultivo, principalmente em função da adubação. O autor ressalta que em amostras do México analisadas por diferentes solventes extratores em cacau comercial fermentado ou não, somente uma amostra apresentou uma concentração de 66 mg 100 g⁻¹.

Somente duas amostras amazônicas apresentaram quercetina, AM 1 e AM 4 (cerca de 2 mg 100 g⁻¹). Assim como a catequina e a procianidina B2, a quercetina sofre uma grande influência das etapas de fermentação e torra. De acordo com URBAŃSKA *et al.*, (2019) a alcalinização realizada em etapas de produção do cacau, pode reduzir em 90 % do teor observado no fruto. A alcalinização é realizada com carbonato de potássio ou sódio e pode ser realizada na amêndoa, pó ou na polpa do cacau, porém de acordo com as informações disponibilizadas pelos fornecedores da presente pesquisa, não é possível concluir que este processo foi executado nas amostras analisadas. Além disso, não existem relação dentre o teor de quercetina, bioma ou técnica de cultivo, necessitando de maiores investigações nas amostras, a fim de observar tais influências sobre o valor.

3.2 Compostos Fenólicos totais e Atividade Antioxidante

O teor de compostos fenólicos totais em mg EAG 100 g⁻¹ e atividade antioxidante em mmol eq Trolox 100 g⁻¹ para as amostras estão apresentados na Tabela 4. Em geral, os compostos fenólicos totais das amostras apresentaram uma variação nos teores, observando uma influência das etapas do processamento sobre os resultados, já que fatores como oxidação e temperatura podem ser limitantes (FABRIANTO, WANG e ZHU, 2021).

Os maiores valores de fenólicos totais observados foram nas amostras originárias do bioma Atlântico (AL 4 e AL 5) pondo em observação a origem. A AM 6 apresentou diferença significativa e o menor valor dentre as amostras Atlânticas, esperado, já que a mesma é *catonga*. Nas amazônicas as amostras selvagens não apresentaram valores altos de fenólicos totais, levando em consideração, que a condição de estresse no cultivo favorece a concentração de fenólico, esperava-se que as mesmas obtivessem maiores resultados, já que são cultivadas naturalmente na bioma em que estão inseridas e não dispões de adubação, controle hídrico ou controle de pragas e doenças (PÉREZ-CLEMENTE *et al.*, 2012).

Tabela 4: Resultados de teor de compostos fenólicos totais e atividades antioxidantes para as amostras de cascas de amêndoa de cacau dos biomas Amazônico e Atlântico.

Amostra	Fenólicos totais	ABTS+	DPPH
AM 1	15,50 (±0,10) ^{aBCD}	334,57 (±3,97) ^{bD}	220,74 (±1,94) ^{aAB}
AM 2	12,36 (±0,11) ^{abD}	336,22 (±1,79) ^{bD}	138,49 (±1,86) ^{bCD}
AM 3	14,33 (±0,96) ^{abCD}	267,06 (±3,13) ^{dD}	114,51 (±3,00) ^{bD}
AM 4	13,18 (±0,55) ^{abC}	412,98 (±4,10) ^{aC}	235,57 (±1,81) ^{aA}
AM 5	11,05 (±0,06) ^{bD}	295,45 (±2,91) ^{cE}	137,86 (±1,24) ^{bCD}
AM 6	14,40 (±0,08) ^{abCD}	412,38 (±1,61) ^{aC}	152,17(±3,51) ^{bACD}
AL 1	14,22 (±0,11) ^{bCD}	511,00 (±4,78) ^{aA}	250,74 (±6,51) ^{abA}
AL 2	22,54 (±0,11) ^{aAB}	420,90 (±1,38) ^{dC}	267,42 (±2,78) ^{aA}
AL 3	17,99 (±0,23) ^{abABC}	422,67 (±2,69) ^{dC}	183,31 (±4,22) ^{cBC}
AL 4	21,79 (±0,17) ^{aA}	476,70 (±5,01) ^{bB}	220,74 (±8,14) ^{bAB}
AL 5	22,54 (±0,11) ^{aAB}	448,92 (±1,38) ^{cD}	259,89 (±2,78) ^{aA}

Os valores apresentados em base seca, mg g⁻¹ para fenólicos totais e mmol eq Trolox g⁻¹ para ABTS+ e DPPH, de casca da amêndoa do cacau. As amostras AM são Amazônicas e AL são Atlânticas.

^aLetras minúsculas apresentam diferenças significativas 5 % dentro dos biomas, Atlântico e Amazônico.

^ALetras maiúsculas apresentam diferença significativa 5 % dentre as amostras do mesmo bioma.

Os resultados de compostos fenólicos totais foram superiores (11,05 a 22,54 mg EAG g⁻¹) aos encontrados em produtos processados do cacau, como chocolate ao leite e amargo, que segundo Barisic *et al.*, (2020) foi de 0,73 - 7,52 e 2,41 – 3,61 mg EAG g⁻¹, respectivamente. Já em amostras de CAC originárias de Carenero – PA, *Criollo* e Caucagua – VE, *Trinitário*, apresentaram resultados de 5,87 e 9,12 mg EAG g⁻¹. Em comparação com a análise cromatográfica das amostras existe uma necessidade de maior investigação do perfil de fenólicos das amostras, já que os valores de fenólicos totais foram maiores em comparação aos compostos quantificados.

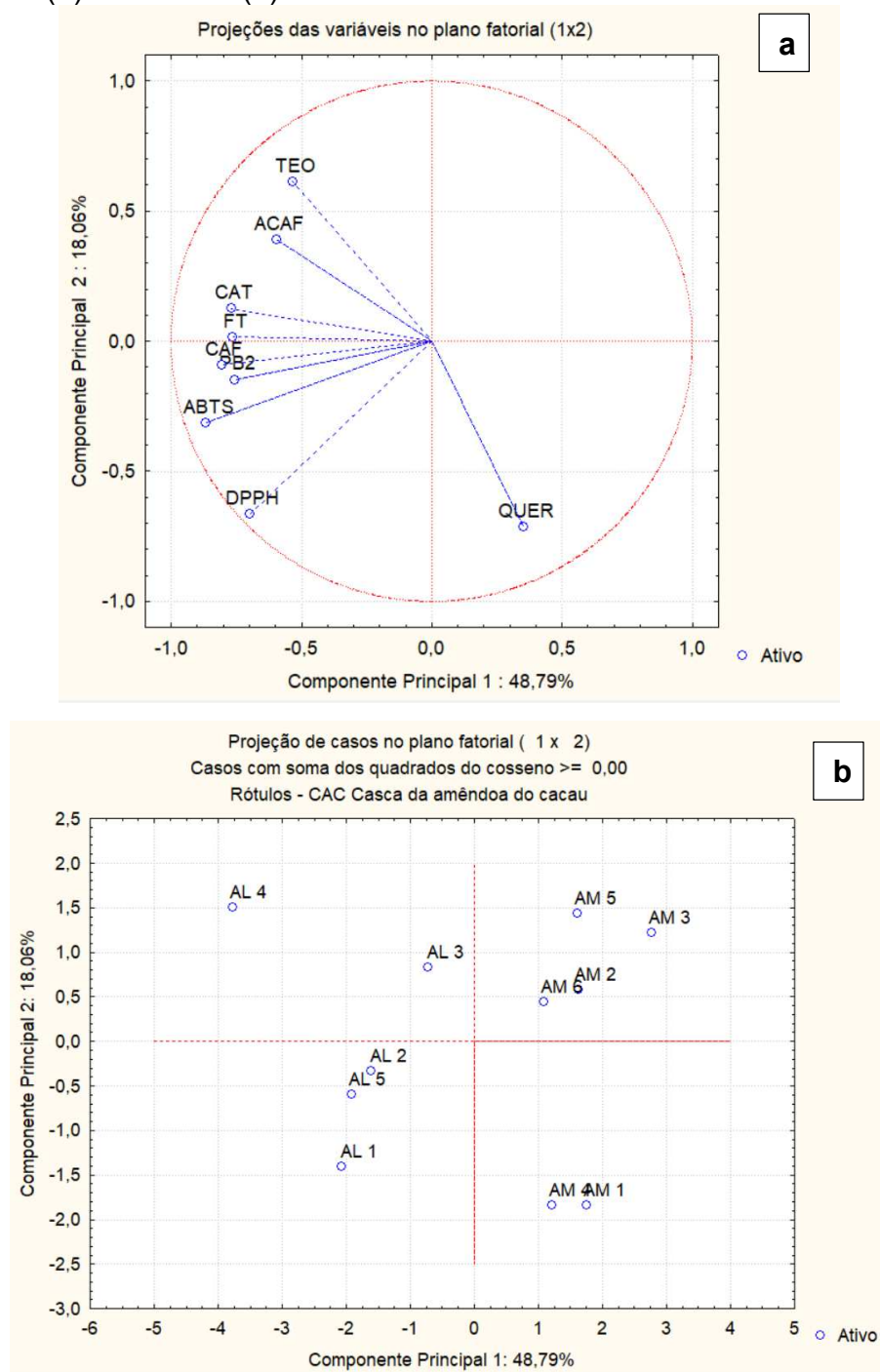
Os valores elevados são um indicativo que a CAC possui potencial antioxidante. Em amostras de farinha de resíduos da AL 4 foram observados níveis de 0,155, para ABTS+ e 0,087 mmol eq Trolox g⁻¹ para DPPH. Em amostras originárias da Bahia na bioma Atlântico teve para DPPH, uma atividade antioxidante de 0,036 – 0,065 mmol eq Trolox g⁻¹ para amostras extraídas em temperaturas de 60, 75 e 90° C (OKIYAMA *et al.*, 2018).

As atividades antioxidantes das amostras AL 1 e AL 5 apresentaram os maiores valores para ABTS+ e DPPH, 511 e 448,92 mmol eq Trolox g⁻¹ respectivamente. Esperava-se uma relação dentre os maiores teores de compostos fenólicos e atividade antioxidantes, porém, não foi o encontrado (GRANATO *et al.*, 2016).

3.3 Análise dos componentes principais (ACP)

A análise dos componentes principais foi utilizada a afim de observar o comportamento das amostras em função das repostas obtidas nas análises de cromatografia, compostos fenólicos totais e atividade antioxidante por ABTS+ e DPPH, em que todos os dados foram utilizados como variáveis ativas. Com a execução da análise foi possível observar pela figura 1 que os dados foram explicados pela Componente Principal 1 com 48,79 % e a Componente Principal 2 com 18,06 %, totalizando 66,85 % de explicação.

Figura 13: Projeção das Variáveis para a Análise dos Componentes Principais das amostras de casca da amêndoa do cacau dos biomas Amazônico e Atlântico em função dos resultados de cromatografia, compostos fenólicos totais e atividade antioxidante. (a) análises e (b) amostras



TEO – Tebromina; CAT – Catequina; CAF – Cafeína; PB2 – Procianidina B2; ACAF – Ácido cafeíco; QUER – Quercetina; FT – Fenólicos totais.

As atividades antioxidantes das amostras estão positivamente correlacionadas com as respostas de fenólicos totais, cafeína e catequina. E grande parte das amostras do bioma Atlântico estão alocadas no quadrante II e III. Além disso, estas

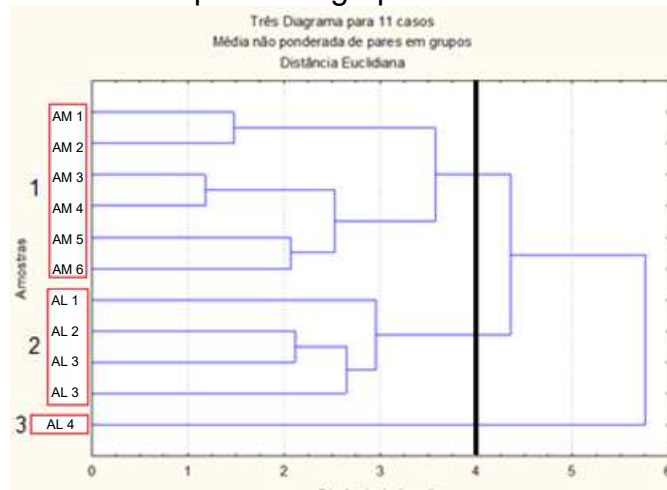
mesmas amostras se assemelham quando é observado a técnica de cultivo (cabruca). Tais características podem ter contribuído para resposta, já que as mesmas apresentaram os maiores valores conforme tabela 2 e 3.

Somente duas amostras apresentaram conteúdo acima do LQ ($4,07 \text{ mg L}^{-1}$) para quercetina, e estas amostras são caracterizadas como as Amazônicas e cultivadas pelo método selvagem. Porém, não existe relação entre a concentração de quercetina em amostras originárias na Amazônia, necessitando de maiores investigações para observar a correlação de cultivo sobre o teor deste composto.

Já os compostos teobromina, ácido cafeico e procianidina B2 estão concentrados no quadrante III do gráfico (figura 1). E os maiores valores destes compostos estiverem nas amostras AL 4, cultivada em bioma Atlântico e pela técnica cabruca, mas além destes fatores a mesma é geneticamente modificada. Esta amostra apresentou muitas diferenças em comparação com as 10 amostras restantes, principalmente nos resultados postos em discussão, até mesmo com a amostra AL 3 que foi coletada da mesma fazenda de cultivo. A modificação genética é executada para melhorar as condições e resistência no cultivo de frutas e vegetais em geral, porém, em função desta manipulação pode ter efeitos na bioquímica da planta (OLIVEIRA *et al.*, 2020). A amostra AL 4 é da variedade CCN51, que é conhecida como Clone Comum Nacionais 51, e foi desenvolvida a fim de garantir maior produtividade e resistência a doenças, em destaque a vassoura-de-bruxa, porém ao mesmo tempo é conhecida por desenvolver sabores complexos e distintos em seus produtos finais (VARGAS-ARANA *et al.*, 2022).

Grande parte das amostras cultivadas pela técnica selvagem obtiveram baixos valores e estão setorizadas no quadrante I da figura 1. Levando em consideração o discutido no tópico anterior, esperava-se que as mesmas obtivessem resultados maiores, pensando nas condições de cultivos, porém, de acordo com Pérez-Clemente *et al.*, (2012), nem sempre as condições de cultivo selvagem podem ser limitantes ou causarem estresse para as plantas já que as mesmas pertencem ao sistema.

Figura 2: Análise Hierárquica de agrupamento.



*AL com o número, representam as amostras Atlânticas; AM com número, representam as amostras Amazônicas, conforme a tabela 1.

Foi possível realizar a análise hierárquica de agrupamento das amostras, e pela distância Euclidiana, observar a formação de grupos das amostras. Levando em consideração distância euclidiana de 4 intersecção na figura 2, foi observado a formação de 3 grupos distintos, conforme o destacado na imagem.

No grupo 1 estão as amostras AM 1 a 5, que são todas amostras Amazônicas, porém, 4 selvagens (AM 1,2,3 e 4) e 2 do cultivo cabruca (AM 5 e 6). Já no grupo 2 estão as amostras AL 1, 2 e 3, que possuem origem Atlântica e cultivadas pelo método cabruca e o 3º grupo que ficou setorizado somente com a amostra AL 4, que também tem as mesmas características que o grupo 2, porém ela possui modificação genética.

A análise de agrupamento indica que as amostras, de acordo com os resultados das tabelas 2 e 3, possuem semelhanças em função a origem de cultivo das mesmas. Nas amostras Amazônicas é observado valores médios e baixos, enquanto que nas amostras Atlânticas são observados valores superiores, segmentando-as em grupos distintos. Vale ressaltar, que a amostra AL 4 apresentou maiores discrepâncias indicando, possivelmente, uma influência da modificação genéticas nos resultados observados, principalmente quando a mesma é comparada com a amostra AL 3, que possui mesma origem, cultivo e foi coletada na mesma fazenda em Ibirapiranga.

4. CONCLUSÃO

As amostras avaliadas apresentaram valores inferiores para os teores de compostos fenólicos e metilxantinas ao reportado na literatura, sendo que as Amazônicas obtiveram menores valores em comparação com as Atlânticas. Além disso, a amostra geneticamente modificada AL 4, apresentou valores elevados para os compostos quantificados por cromatografia.

Foi observada uma tendência de influência do modo de cultivo e bioma nos resultados observados na análise de componentes principais onde teve-se a formação de 3 grupos de amostras, porém, ainda é necessária uma investigação mais aprofundada para elucidar estas influências.

Diante dos resultados obtidos, a casca da amêndoa de cacau apresenta um grande potencial de uso e aplicação em diferentes segmentos da indústria de alimentos, visto que o potencial antioxidante e de compostos com efeitos benéficos à saúde, permaneceram após o processamento da amêndoa independentemente do local de cultivo, o que torna um importante resíduo a ser reutilizado.

Agradecimentos:

Agradeço ao Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos da UEL pela disposição da estrutura e o aprendizado obtido durante a duração da pesquisa. E a CAPES pela disposição bolsas para execução da pesquisa.

REFERÊNCIAS

ARLORIO, M.; COISSON, J. D.; RESTANI, P.; MATINELLI, A. Characterization of pectins and some secondary compounds from *Theobroma cacao* Hulls. **JFS Food Chemistry and Toxicology**, v. 66., (nº.5), 2001.

AFOAKWA, E. O. **Cocoa Production and Processing Technology**. Editora CRC Press, London, 2014.

ABBALLE, C.; GOMES, F. M. L.; LOPES, B. D.; OLIVEIRA, A. P.; BERTO, M. I.; EFRAIM, P.; TFOUNI, S. A. V. Cocoa Bean derived products: Effect of processing on polycyclic aromatic hydrocarbons levels. *LWT*, ed. 135, 2021.

AIPC: Associação Nacional de Industria Processadoras de Cacau. Recebimento de cacau cresce em 2023 e é 7% maior que o do ano anterior. In: AIPC, 2024. Disponível

em: < <https://aipc.com.br/recebimento-de-cacau-cresce-em-2023-e-e-7-maior-que-o-do-ano-anterior-2/>>. Acesso em: 05/01/2024.

BRAY, J. From cacao tree to bean: the beginning of fermentation. *In: On the cocoa trail*, 2012. Disponível em: < <https://onthecocoatrail.com/2012/06/20/from-tree-to-bean-the-beginning-of-fermentation/>>. Acesso em: 17/01/2022.

BRITO, D. Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira (CEPLAC): Brasil quer ganhar posições na produção mundial de cacau e chocolate. *In: Gov.br*, 2020. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/noticias/brasil-quer-retomar-protagonismo-no-cenario-global-de-cacau-e-chocolate>>. Acesso em: 17/01/2022.

BARIŠIĆ, Veronika *et al.* Difficulties with use of cocoa bean shell in food production and high voltage electrical discharge as a possible solution. **Sustainability**, v. 12., (n. 10), p. 3981, 2020.

BARBOSA-PEREIRA, Letricia; GUGLIELMETTI, Alessandro; ZEPPA, Giuseppe. Pulsed electric field assisted extraction of bioactive compounds from cocoa bean shell and coffee silverskin. **Food and bioprocess technology**, v. 11, p. 818-835, 2018.

BARBOSA-PEREIRA, L.; BELVISO, S.; FERROCIANO, I.; ROJO-POVEDA, O.; ZEPPA, G. Characterization and Classification of Cocoa Bean Shells from Different Regions of Venezuela Using HPLC-PDA-MS/MS and Spectrophotometric Techniques Coupled to Chemometric Analysis. **Foods**, ed. 10, 2021.

CHUNG, B.Y.; IIYAMA, K.; HAN, K.W. Compositional Characterization of Cacao (*Theobroma cacao* L.) Hull. **Journal Applications Biological Chemistry**, v. 46, pg. 12–16, 2003.

CINAR, Z. O.; ATANASSOVA, M.; TUMER, T. B.; CARUSO, G.; ANTIKA, G.; SHARMA, S.; SHARIFI-RAD, J.; PEZZANI, R. Cocoa and cocoa bean shells role in human health: An updated review. **Journal of Food Composition and Analysis**, ed. 103, 2021.

CHANG, V.; VÁSQUEZ, R. L.; FLOR, I. F.; Perfil Químico de 12 clones tipo nacional de pasta de cacau (*Theobroma cacao* L.). **Universidad y sociedad**, 16(1), 126-136, 2024.

DENIS, T. C; MADEIRA, V. M; ALMEIDA, L. M. Action of phenolic derivatives (acetaminophen, salicyte and 5-aminosalicyte) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxy radical scavengers. **Archives of Biochemistry and Biophysics**. 1994, p. 161-169.

EFRAIM, Priscilla; ALVES, Adriana Barreto; JARDIM, Denise Calil Pereira. Revisão: Polifenóis em cacau e derivados: teores, fatores de variação e efeitos na saúde. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 14, p. 181-201, 2011.

EFRAIM, Priscilla *et al.* Characteristics of cocoa butter and chocolates obtained from cocoa varieties grown in Bahia, Brazil. **European Food Research and Technology**, v. 237, p. 419-428, 2013.

FEBRIANTO, Noor Ariefandie; WANG, Sunan; ZHU, Fan. Chemical and biological properties of cocoa beans affected by processing: A review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 62, (n. 30), p. 8403-8434, 2022.

GUIRLANDA, Christiano Pedro; DA SILVA, Geisa Gabriela; TAKAHASHI, Jacqueline Aparecida. Cocoa honey: Agro-industrial waste or underutilized cocoa by-product?. **Future Foods**, v. 4, p. 100061, 2021.

GIACOMETTI, J.; JOLIC, S. M.; JOSIC, D. **Cocoa Processing and Impacto on Composition**. Editora Elsevier, cap. 17, 2015.

GRANATO, D; NUNES, D. S. **Análises químicas, propriedades funcionais e controle de qualidade de alimentos e bebidas**: Uma abordagem teórico-prática. Rio de Janeiro: Elsevier, 2016. p. 537.

GALLO, P. J.; ANTOLIN-LOPEZ, R.; MONTIEL, I. Associative Sustainable business Models: Case in the bean-to-bar chocolate industry. **Journal of Cleaner Production**, ed. 174, p. 905 – 916, 2018.

GUILANDA, C. P.; SILVA, G. G.; TAKAHASHI, J. A. Cocoa honey: Agro-industrial waste or underutilized cocoa by product?. **Future Foods**, ed 4., 2021.

HANDA, C. L; LIMA, F. S; GUELFY, M. F. G; GEOGETTI, S. R; IDA, E. I. Multi-respons optimisation of the extraction solvent system for phenolics and antioxidant activities from fermented soy flour using a simplex-centroid design. **Food Chemistry**, 197, p. 175-184, 2015.

HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ, C.; VIERIA-ALCAIDE, I.; MORALES-SILLERO, A., M.; FERNÁNDEZ-BOLANOS, J.; RODRÍGUEZ-GUTIÉRREZ, G. Bioactive compounds in Mexican genotypes of cocoa cotyledon and husk. **Food chemistry**, v. 240, p. 831-839, 2018.

LUCUMBERRI, E.; MATEOS, R.; IZQUEIRO-PULIDO, M.; RUPÉREZ, P.; GOYA, L.; BRAVO, L. Dietary fiber composition, antioxidant capacity and physico-chemical properties of a fiber-rich from cocoa (*Theobroma cacao* L.). **Food Chemistry**, ed. 104, p. 948-954, 2007.

LO COCO, Filippo *et al.* Determination of theobromine, theophylline, and caffeine in by-products of cupuacu and cacao seeds by high-performance liquid chromatography. **Journal of chromatographic science**, v. 45, n. 5, p. 273-275, 2007.

Lei nº 12.305: Institui a Política Nacional de Resíduos Sólidos; altera a Lei no 9.605, de 12 de fevereiro de 1998; e dá outras providências. BRASIL, 2010.

LESSA, O.A.; DOS SANTOS REIS, N.; LEITE, S.G.F.; GUTARRA, M.L.E.; SOUZA, A.O.; GUALBERTO, S.A.; DE OLIVEIRA, J.R.; AGUIAR-OLIVEIRA, E.; FRANCO, M. Effect of the solid state fermentation of cocoa shell on the secondary metabolites, antioxidant activity, and fatty acids. **Food Science and Biotechnology**, ed. 27, pg. 107–113, 2018.

MARTÍNEZ-Cervera, S; SALVADOR, A; MUGUERZA, B; MOULAY, L; FISZMAN, S. M. Cocoa fibre and its application as a fat replacer in chocolate muffins. **Food Science and Technology**, ed. 44(3), p.729-736, 2012.

MARIATTI, F.; GUNJEVIC, V.; BOFFA, L.; CRAVOTTO, G. Process intensification Technologies for the recovery of valuable compounds from cocoa by-products. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, ed. 63, 2021.

MENDOZA-MENESES, C. J.; FERREGRINO-PÉREZ, A. A.; GUTIÉRREZ-ANTONIO, C. Potential Use of Industrial Cocoa Waste in Biofuel Production. **Journal of Chemistry**, v. 2021, p. 1-11, 2021.

MARTINS, Lucimara Miranda *et al.* Phenolic compounds, methylxanthines, and preference drivers of dark chocolate made with hybrid cocoa beans. **Research, Society and Development**, v. 12, (n. 4), p. e22912440782-e22912440782, 2023.

NSOR-ATINDANA, J.; ZHONG, F; MOTHIBE, K. J. In vitro hypoglycemic and cholesterol lowering effects of dietary fiber prepared from cocoa (*Theobroma cacao* L.) shells. **Food & Function**, ed. 3(10), pg. 1044 - 1050, 2012.

NETANIA. G.; PERMANA, T.; EFFENDY, J.; SANTOSO, F.; OSLO, E. A. A Review on the Potential Applications of Cocoa Shell in Food Industry. **Advances in Biological Sciences Research**, v. 16, 2022.

OKIYAMA, D.; NAVARRO, S. L. B.; RODRIGUES, C. E. Cocoa shell and its compounds: **Applications in the food industry. Trends in Food Science e Technology**, ed. 63, pg 103-102, 2017.

OKIYAMA, D.; SOARES, I. D.; CUEVAS, M. S.; CREVELIN, E. J.; MORAES, L. A. B.; MELO, M. P.; OLIVEIRA, A. L.; RODRIGUES, C. E. Pressurized liquid extraction of flavanols and alkaloids from cocoa bean shell using ethanol as solvent. **Food Research International**, ed. 14, pg. 20 – 29, 2018.

OKIYAMA, D.; SOARES, I. D.; TODA, T. A.; OLIVEIRA, A. L.; RODRIGUES, C. E. Effect of the temperature on the kinetics of cocoa bean shell fat extraction using pressurized ethanol and evolution of the lipid fraction and degatted meal. **Industrial Crops & Products**, ed. 130, pg. 96 -103, 2019.

DE OLIVEIRA, Bruno Felipe *et al.* Efeito do tratamento enzimático no despolpamento de cacaos do clone CCN-51: características físico-químicas, teor de polifenóis e atividade antioxidante. **Research, Society and Development**, v. 9, (n. 7), p. e142973999-e142973999, 2020.

OUATTARA, L. Y.; KOUASSI, E. K. A.; SORO, D.; SORO, Y.; YAO, K. B.; ADOUBY, K.; DROGUI, A. P.; TYAGI, D. R.; AINA, P. M. Cocoa Pod Husks as potential sources of renewable high-value-added: A review of current valorizations and future prospects. **Bioresources**, ed. 16, 2021.

PÉREZ-CLEMENTE, Rosa M. *et al.* Biotechnological approaches to study plant responses to stress. **BioMed research international**, v. 2013, 2013.

PAVLOVIC, N.; JOKIĆ, M S.; JAKAVLJEVIC, M.; BLAZIC, M.; MOLNAR, M. Green Extraction Methods for Active Compounds from Food Waste: Cocoa Bean Shell. **Foods**, ed. 9, p. 140, 2020.

PANDA, António *et al.* Influence of cocoa origin on the nutritional characterization of chocolate. **European Food Research and Technology**, v. 248, (n. 10), p. 2569-2577, 2022.

REDGWELL, R.; TROVATO, V.; MERINAT, S.; CURTI, D.; HEDIGER, S.; MANEZ, A. Dietary fibre in cocoa shell: Characterisation of component polysaccharides. **Food Chemistry**, ed. 81, pg. 103 – 112, 2003.

ROJO-POVEDA, O.; BARBOSA-PEREIRA, L.; MATEUS-RUGUENGO, L.; BERTOLINO, M.; STÉVIGNY, C.; ZEPPA, G. Effect of particle size and extraction methods on cocoa bean shell functional beverage. **Nutrients**, ed. 11, v. 867, 2019.

ROJO-POVEDA, Olga *et al.* Cocoa bean shell—a by-product with nutritional properties and biofunctional potential. **Nutrients**, v. 12, (n. 4), p. 1123, 2020.

ROSSIN, D.; BARBOSA-PEREIRA, L.; IAIA, N.; SOTTERO, B.; DANZERO, A. C.; POLI, G.; ZEPPA, G.; BIASE, F. Protective Effect of Cocoa Bean Shell against Intestinal Damage: An Example of Byproduct Valorization. **Antioxidants**, v. 10, ed. 280, 2021.

DE SOUZA SANTANA, Cristiano *et al.* Influência do período de colheita na qualidade do cacau da Indicação Geográfica Sul da Bahia. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, (n. 2), p. 8295-8306, 2020.

SILVA, Joilna Alves *et al.* Caracterização química e fitoquímica, toxicidade e atividade antioxidante In Vitro, de Clones de Pedúnculos de Caju (*Anacardium Occidentale* L.). **Brazilian Journal of Development**, v. 7, (n. 8), p. 79458-79470, 2021.

TIMBIE, D. J.; SECHRIST, L.; KEENEY, P. G. Application of high-pressure liquid chromatography to the study of variables affecting theobromine and caffeine concentrations in cocoa beans. **Journal of Food Science**, v. 43, (n. 2), p. 560-565, 1978.

URBAŃSKA, Bogumiła *et al.* Changes in the composition and content of polyphenols in chocolate resulting from pre-treatment method of cocoa beans and technological process. **European Food Research and Technology**, v. 245, p. 2101-2112, 2019.

VARGAS-ARANA, Gabriel *et al.* UHPLC–MS characterization, and antioxidant and nutritional analysis of cocoa waste flours from the peruvian Amazon. **Antioxidants**, v. 11, (n. 3), p. 595, 2022.

CAPITULO III: Composição Centesimal e Mineral da Casca da Amêndoa do Cacau do Bioma Amazônico e Atlântico

Resumo:

A casca da amêndoa do cacau (CAC) é um importante resíduo no processamento do cacau, e representa 12 % do fruto. O objetivo desta pesquisa foi coletar CAC de origens Amazônica e Atlântica para elucidar as diferenças na composição centesimal e no teor de minerais deste resíduo. Foram realizadas análises de composição centesimal e minerais, sendo Ca, Mg, Fe e Mn foram quantificados com espectrômetro de emissão atômica, P por espectrofotômetro UV-vis, K por fotômetro de chama. Os teores de lipídios variaram entre 3,64 a 19,65 g 100 g⁻¹ e minerais para P (1,34 a 1,58 g 100 g⁻¹) e K (1,03 a 3,26 g 100 g⁻¹). A análise hierárquica a separação das amostras em dois grupos com pouca variabilidade de amostras, os principais valores que influenciaram na análise foram os minerais e lipídeos, maiores para as amostras Amazônicas.

Palavras-chaves: Mata; Cacaueira; Selvagem; Cabruca; Resíduo.

Situação: Artigo a ser submetido à *Food Research International*
Eduardo Lolato^{1*}; André Luiz Buzzo Mori¹; Karla Bigetti Guergoletto¹.

¹Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos (DCTA), Universidade Estadual de Londrina (UEL), Rodovia Celso Garcia Cid, PR-445, km 380 – Campus Universitário, Londrina – PR, 86057-970. eduardoololato@gmail.com/eduardo.lolato@uel.br - +55 49 99191-0737

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é o 7º maior produtor e exportador de cacau e derivados do mundo, garantindo para o mercado interno e externo um volume de 33.521 toneladas de chocolate. Produtos derivados do cacau estão inseridos no dia a dia de vários consumidores em datas festivas ou não. Entre os variados tipos de chocolate, os produtos Amazônicos e Atlânticos são considerados um dos melhores do mundo (AIPC, 2024). O chocolate desempenha um papel importante na alimentação humana pois apresenta em sua composição uma concentração elevada de compostos bioativos e metilxantinas, sendo constantemente correlacionado a prevenção contra doenças cardiovasculares (OKIYAMA *et al.*, 2018). Além disso, vem-se discutindo a potencialidade de inserir o chocolate na dieta para suplementação mineral, já que os compostos inorgânicos desempenham papéis importante na manutenção do organismo, como no funcionamento celular e estrutura óssea (CINQUANTA *et al.*, 2016).

Atualmente a indústria de alimentos é responsável pela produção de grandes quantidades de resíduos agroindustriais, que possuem potencialidade para utilização. Com o crescente desenvolvimento da indústria e conseqüentemente, produção de resíduos, a indústria cacaeira não seria diferentes já que mais de 80 a 90 % do peso úmido do fruto é transformado em resíduo. Entre os principais resíduos produzidos são a casca, casca da amêndoa do cacau (CAC), mucilagem e mel do cacau (GUIRLANDA; SILVA; TAKASHASHI, 2021).

A CAC representa 10 % em massa da amêndoa de cacau, resultando um volume elevado de resíduos que são direcionados principalmente para adubação na própria fazenda produtora. Destino questionável já que a CAC apresenta uma composição variada e dependente de características como, origem e cultivo. Porém, de acordo com Barbosa-Pereira *et al.*, (2021) a casca apresenta uma concentração significativa de teobromina, cafeína, catequina, lipídeos e minerais. Tais afirmativas são fatores importantes e instigam a investigação deste resíduo para possível redirecionamento para a alimentação humana.

Levando a necessidade de inclusão de alimentos variados na alimentação humana e a reposição mineral, a CAC é um potencial produto para utilização com esta finalidade, já que a mesma apresenta características semelhantes ao cacau e sofre

uma grande influência durante o processo de fermentação. Entretanto, de acordo com CINAR *et al.*, (2021), os valores de minerais estão correlacionados às características de cultivo, sendo assim, fortemente influenciado pelo solo e adubação).

Tendo em vista a possível influência de fatores como origem e cultivo, o objetivo do presente trabalho foi analisar 11 CAC coletadas nos Biomas Amazônico e Atlântico, em termos de composição centesimal e mineral, a fim de elucidar a influência destes fatores nas cascas da amêndoa de cacau para indicar outros usos para este resíduo.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Materiais

Foram coletadas 11 cascas de amêndoa de cacau (CAC) que diferem em origem e cultivo, conforme a tabela 1:

Tabela 1: Informações de origem e cultivo das cascas da amêndoa do cacau.

Código	Variedade	Origem (Bioma)	Localidade	Cultivo
AM 1	Trinitário	Amazônica	Acará - PA	Selvagem
AM 2	Trinitário	Amazônica	Vila Velha - AP	Selvagem
AM 3	Trinitário	Amazônica	Vila Céu Mápia - AM	Selvagem
AM 4	Trinitário	Amazônica	Macajuba - PA	Selvagem
AM 5	Ni	Amazônica	Madicelândia - PA	Cabruca
AM 6	Forasteiro	Amazônica	Madicelândia - PA	Cabruca
AL 1	Forasteiro Catongo	Atlântica	Ilhéus - BA	Cabruca
AL 2	Ni	Atlântica	Ibirapiranga - BA	Cabruca
AL 3	Trinitário	Atlântica	Arataca - BA	Cabruca
AL 4	Geneticamente modificado	Atlântica	Arataca - BA	Cabruca
AL 5	Forasteiro	Atlântica	Iguaí - BA	Cabruca

*Ni = Não informado.

Assim que recebidas, foram fracionadas e acondicionadas à vácuo em embalagens de polínylon a- 22° C ao abrigo de luz. Somente antes da execução das análises estas foram moídas em moinho (*Penter 3100*).

2.2 Composição centesimal

As cascas de amêndoa de cacau foram caracterizadas conforme AOAC (2012), quanto ao teor de umidade (estufa 105 °C), proteína bruta (*Kjeldahl*), lipídios (*Bligh-dyer*), cinzas (mufla a 550 °C) de açúcares redutores por Somogyi-Nelson (NELSON, 1944; SOMOGY, 1945).

2.3 Conteúdo de Mineral

O conteúdo de minerais na casca da amêndoa de cacau foi feito de acordo com a metodologia de Miyazawa *et al.* (1999), adaptada por Delfini *et al.*, (2021). As cascas de amêndoa de cacau foram moídas e transformadas em um pó fino (moinho *Penter 3100*) e submetidos a digestão nitropérlórica (3:1 v/v HNO₃ 65%:HClO₄) em tubos de digestão de 80 mL. Utilizando 0,5 g amostra foi adicionado 4 mL de ácido nítrico [HNO₃ 65% (v/v)] e permanecido em repouso pelo período de 12 horas de digestão prévia, em seguida foi acondicionado em bloco digestor a 120 °C até completo desprendimento de dióxido de nitrogênio (NO₂), caracterizado por um vapor castanho. Após, foram adicionados 2 mL de ácido perclórico [HClO₄ 70 % (v/v)] e elevada a temperatura para 180°C, tampando os tubos com funis, mantendo nesta condição até o extrato ficar incolor, seguido de adição de 25 mL de água ultrapura a temperatura ambiente. O teor de mineral de cálcio (Ca), magnésio (Mg), ferro (Fe) e Manganês (Mn) foram quantificados com espectrômetro de emissão atômica (ICP - Thermo Jarrel Ash ICAP 61E), fósforo (P) por espectrofotômetro UV-vis (Micronal, AJX-1600), potássio (K), por fotômetro de chama (*Analyser*, modelo 910). As curvas analíticas foram preparadas a partir de uma solução estoque a 100 mgmL⁻¹ contendo 7 níveis em triplicata (colocar o coeficiente de correlação e o valor de p).

2.4 Análise estatística

Os resultados foram apresentados como média (n = 3) ± desvio padrão e analisados por ANOVA seguido do teste de comparação múltipla *Tukey* a um nível e significância de 5 %, em *Statistic 7.1* (*StartSoft*, Tusa, OK, EUA), considerando todas as amostras e posteriormente a divisão das amostras por tipo de bioma (Amazônico e Atlântico)

Adicionalmente, os resultados foram analisados pela Análise dos Componentes Principais (ACP) e Análise Hierárquica de Agrupamento no *Statistic 7.1* (*StartSoft*, Tusa, OK, EUA). As variáveis ativas foram umidade (UMI), cinzas (CINZ), lipídeos (LIP), proteína (PROT), carboidratos (CARB), açúcares redutores (AÇR), magnésio (Mg), cálcio (Ca), ferro (Fe), manganês (Mn), cobre (Cu), potássio (K) e fósforo (P).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Composição centesimal

Os resultados das 11 CAC analisadas no presente estudo estão apresentados na Tabela 2. É possível observar que as amostras apresentaram variabilidade mesmo tendo amostras que se assemelham em origem e técnica de cultivo.

As CAC apresentaram um teor de umidade variável dentre 4,34 a 12,14 %, esperado conforme relatado pela literatura. Esse valor é extremamente influenciável pelas etapas de secagem da amêndoa e a torra, onde fatores climáticos e de temperatura contribuem para a saída da água livre no interior da casca. Importante destacar, que a amêndoa antes de encaminhada ao processo produtivo precisa ter um teor de umidade máximo de 12 %, para contribuir para estabilidade dela até o uso.

Os valores de lipídeos foram maiores para amostra AM 2 (19,65 g 100 g⁻¹) e a mesma, apresentou diferença significativa das amostras tendo em vista a origem Amazônica e o cultivo selagem. Existe uma grande influência da variedade de cacau no valor de lipídeos, porém ao mesmo tempo este resultado sofre uma grande influência da etapa de torra e separação das cascas da amêndoa. Nesta etapa, tem-se a remoção através da quebra da amêndoa; e as cascas são removidas por diferença de granulometria, dependendo do tamanho e o sistema de peneiramento, pode-se ter o descarte de frações da amêndoa, que é definida como *nibs*. A presença dos *nibs* contribui para o acréscimo dos valores lipídeos, já que amêndoa possui de 47 a 57 g 100 g⁻¹ na sua constituição (OKIYAMA *et al.*, 2019). Além disso, existe uma grande possibilidade de uso da CAC como fonte lipídica na formulação de alimentos e bebidas, em especial na própria cadeia produtiva do cacau. Já que a mesma é um resíduo e a extração de tais compostos e a inserção na formulação do chocolate é uma possibilidade, pois segundo Netania *et al.*, (2022) o perfil de ácidos graxos

observados é muito semelhante a manteiga de cacau, produto com alto valor agregado.

Tabela 2: Composição centesimal da casca da amêndoa do cacau.

Amostr a	UMI	CINZ	LIP	PROT	AÇR	CARB
AM 1	10,64 (±0,08) ^{bB}	6,95 ± (0,16) ^{bB}	4,52 (±0,53) ^{dEF}	1,67 (±0,12) ^{cdBC} D	0,10 (±0,04) ^{bcCD}	75,16 (±0,37) ^{aCD}
AM 2	4,34 (±0,02) ^{fH}	4,04 ± (0,09) ^{fE}	19,65 (±0,22) ^{aH}	2,83 (±0,22) ^b	0,17 (±0,01) ^{abAB}	68,77 (±0,04) ^{dF}
AM 3	9,40 (±0,22) ^{dD}	8,33 ± (0,52) ^{dA}	6,36 (±0,77) ^{cCD}	1,04 (±0,01) ^{bcBC}	0,12 (±0,01) ^{abcBC} D	72,84 (±0,26) ^{cE}
AM 4	10,04 (±0,02) ^{cB} C	6,78 ± (0,83) ^{cB}	7,93 (±0,27) ^{cC}	0,95 (±0,05) ^{dDE}	0,22 (±0,01) ^{aA}	73,13 (±0,28) ^{acD} E
AM 5	12,14 (±0,15) ^{aA}	8,35 ± (0,08) ^{aA}	1,49± (±0,04) ^{eG}	7,11 (±0,57) ^{aA}	0,17 (±0,02) ^{abAB}	69,39 (±0,82) ^{dF}
AM 6	5,34 (±0,26) ^{eG}	6,71 ± (0,13) ^{eBC}	12,84 (±0,55) ^{bB}	0,925 (±0,03) ^{dDE}	0,05 (±0,01) ^{cD}	73,69 (±0,58) ^{acD} E
AL 1	9,48 (±0,53) ^{aC} D	6,25 (±0,40) ^{bC} D	5,48 (±0,27) ^{bcD} E	2,02 (0,36) ^{aBC}	0,17 ± (±0,01) ^{bAB}	76,50 (±0,83) ^{cBD}
AL 2	8,47 (±0,14) ^{bE}	5,23 (±0,09) ^{cD}	6,78 (±0,02) ^{bCD}	0,93 (0,57) ^{bDE}	0,06 ± (±0,01) ^{dD}	77,98 (±0,27) ^{cB}
AL 3	7,05 (±0,12) ^{dF}	8,16 (±0,13) ^{aB}	12,10 (±0,9) ^{aB}	2,18 (0,21) ^{aBC}	0,18 ± (±0,14) ^{aAB}	70,31 (±1,00) ^{dF}
AL 4	5,18 (±0,04) ^{eG}	5,46 (±0,05) ^{cD}	3,64 (±0,28) ^{cF}	1,17 (0,13) ^{bcDE}	0,05 ± (±0,01) ^{eD}	84,18 (±0,45) ^{aA}
AL 5	6,59 (±0,12) ^{dF}	5,98 (±0,05) ^{bc} D	4,36 (±0,16) ^{cAE} F	0,77 (0,15) ^{bE}	0,13 ± (±0,01) ^{cABC}	82,14 (±0,44) ^{bA}

UMI – Umidade; CINZ – Cinzas; LIP – Lipídeos; PROT – Proteína; AÇR – Açúcares redutores; CARB – Carboidratos.

As amostras AM são Amazônicas e AL são Atlânticas.

^aLetras minúsculas apresentam diferenças significativas 5 % dentro dos biomas, Atlântico e Amazônico.

^ALetras maiúsculas apresentam diferença significativa 5 % dentre as amostras do mesmo bioma.

O teor de proteína observados nas amostras foi inferior ao relatado por Okiyama *et al.*, (2017) que em amostras da Bahia encontrou um teor de 17 g 100 g⁻¹ e Netania *et al.*, (2022) que indica uma faixa de 15 a 22 g 100 g⁻¹ observado em amostras com diferentes origens. O teor de proteína sofre uma grande influência da etapa de fermentação, que contribui por processos bioquímicos e microbiológicos para a quebra de cadeias polipeptídicas e a liberação de aminoácidos (BALENTIC *et al.*,

2018). Conforme o discorrido por Barbosa-Pereira *et al.*, (2021) as CAC apresentam elevadas concentrações dos *N*-fenilpropil-L-aminoácido em destaque *N*-coumarinil-L-glutamato. Este composto vem chamando a atenção já que possuem alta capacidade antioxidante e possuem um indicativo o tratamento de Alzheimer (STARK *et al.*, 2008).

Com exceção das amostras AL 4 e AL 2, as demais apresentaram diferença significativa entre si quanto ao teor de cinzas. Os resultados de cinzas estão diretamente relacionados aos teores minerais e também a fatores de cultivo. Tendo em vista que as amostras AL 4 e AL 3, foram obtidas da mesma fazenda de cultivo, esperava-se resultados próximos, porém os fatores de adubação e o próprio sistema biológico da planta, também podem influenciar diretamente nestes valores (BARIŠIĆ *et al.*, 2020). Já as amostras AL 1 e AM 6, que foram cultivadas em locais diferentes, não apresentaram diferenças significativas quando comparadas entre si em relação ao teor de cinzas, observando que a primeira é Amazônica e a outra é Atlântica.

Quanto ao teor de carboidratos as amostras no geral, tiveram valores elevados, porém, tais valores estão associados, aos carboidratos totais, incluindo o teor de fibras das amostras. Isto sugere uma maior investigação para elucidar a composição da CAC e ampliar as possibilidades de utilização. Nos estudos de Okywama *et al.*, (2018), os teores de fibras nas cascas de amêndoa do cacau coletadas na Bahia apresentaram valores superiores a 46,43 g em 100 g⁻¹ em sua constituição.

3.2 Perfil Mineral

Os minerais desempenham papéis importante na manutenção do organismo humano, na manutenção do sistema cardiovascular (Fe, Mg e K), contração muscular (Ca, K), síntese proteica (Mg), na manutenção de células (K), como cofator em reações dos antioxidantes (Mn), e na manutenção de ossos e dentes (P, Ca) (BORÉM; MIRANDA; FRITSCHÉ, 2021). Para as CAC foram determinados os minerais da tabela 3, sendo os maiores valores para potássio e fósforo. Vale destacar que as amostras estiveram com teor de cobre inferior ao estabelecido pela Legislação Brasileira, de 4 mg 100 g⁻¹, possibilitando desde já a aplicação e consumo por humanos.

Tabela 3: Conteúdo Mineral da casca da amêndoa do cacau.

Amostra	Mg	Ca	Fe	Mn	Cu	K	P
LAA*	0,17 (±0,01) aA	0,0065 (±0,01) ^{cd} DE	0,101 (±0,1) ^{aAB}	0,105 (±0,03) ^a A	0,13 (±0,02) ^a C	3,32 (±0,01) ^{aA}	1,34 (±0,05) ^b B
LAC*	0,12 (±0,02) bA	0,0065 (±0,02) ^{bc} CD	0,100 (±0,12) ^{aA} BC	0,095 (±0,05) ^{cd} DE	0,16 (±0,06) ^a ABC	2,15 (±0,08) ^{cC} D	1,37 (±0,03) ^b B
LAP*	0,19 (±0,02) aA	0,0065 (±0,02) ^{cd} E	0,101 (±0,01) ^{aA} BC	0,103 (±0,01) ^b B	0,17 (±0,02) ^a ABC	2,08 (±0,17) ^{cd}	1,74 (±0,01) ^a A
LAT*	0,19 (±0,06) aA	0,065 (±0,12) ^a bBC	0,101 (±0,02) ^{aA} BC	0,094 (±0,01) ^d E	0,15 (±0,02) ^a ABC	2,89 (±0,26) ^{ab} AB	1,51 (±0,09) ^a bAB
MM*	0,18 (±0,06) aA	0,0065 (±0,06) ^a B	0,099 (±0,05) ^{cd}	0,096 (±0,09) ^c CD	0,16 (±0,03) ^a ABC	2,39 (±0,08) ^{bc} BCD	1,55 (±0,01) ^a bAB
NDP*	0,17 (±0,01) aA	0,0065 (±0,02) ^{cd} E	0,097 (±0,05) ^{bE}	0,097 (±0,06) ^c C	0,19 (±0,05) ^a A	2,64 (±0,08) ^{bc} BC	1,53 (±0,11) ^a bAB
NDC	0,17 (±0,03) aA	0,0065 (±0,12) ^d E	0,100 (±0,12) ^{bc}	0,086 (±0,06) ^b FG	0,17 (±0,02) ^b ABC	1,96 (±0,17) ^{bD}	1,58 (±0,06) ^a AB
MC	0,17 (±0,04) aA	0,0065 (±0,12) ^c BC	0,101 (±0,01) ^{aA} BC	0,084 (±0,07) ^c H	0,13 (±0,02) ^d BC	0,90 (±0,08) ^{cE}	1,44 (±0,02) ^a B
BBT	0,17 (±0,01) aA	0,0066 (±0,02) ^b AB	0,101 (±0,06) ^{aA}	0,085 (±0,0) ^{cG} H	0,16 (±0,05) ^{cA} BC	1,90 (±0,08) ^{bD}	1,46 (±0,01) ^a B
CCN51	0,19 (±0,02) aA	0,0066 (±0,03) ^a A	0,102 (±0,02) ^{aA} B	0,088 (±0,03) ^a F	0,18 (±0,01) ^a AB	3,26 (±0,08) ^{aA}	1,56 (±0,1) ^{aAB}
LC	0,16 (±0,02) aA	0,0065 (±0,12) ^d	0,101 (±0,01) ^{ab} ABC	0,085 (±0,09) ^c GH	0,14 (±0,06) ^d ABC	1,03 (±0,08) ^{cE}	1,52 (±0,09) ^a AB

Os minerais Mg, Ca, K e P estão em base seca, g 100 g⁻¹ e Fe e Cu em mg 100 g⁻¹.

As amostras AM são Amazônicas e AL são Atlânticas.

^aLetras minúsculas apresentam diferenças significativas 5 % dentro dos biomas, Atlântico e Amazônico.

^ALetras maiúsculas apresentam diferença significativa 5 % dentre as amostras do mesmo bioma

Os valores de potássio das CAC foram elevados, considerando outras frutas e vegetais, como a banana, conhecida popularmente pelo seu teor de K, que é em média de 0,358 g 100 g⁻¹ (RAMOS-ESCUADERO *et al.*, 2021). As cascas tiveram valores que variaram entre 1,03 e 3,32 g 100 g⁻¹. Considerando o fator origem, as amostras AM 1 (3,32 g 100 g⁻¹) e CCN51 (3,26 g 100 g⁻¹) não tiveram diferenças

significativas quando comparadas entre si e com os maiores valores encontrados. Esta observação é importante já que as mesmas são de biomass diferentes, Amazônica e Atlântica, respectivamente. Estes resultados diferem do esperado para as amostras AL 4 e AL 3, que diferiram entre si mesmo sendo obtidas da mesma fazenda de cultivo. De acordo com Veloso e Santana (2000), além o fator cultivo existe a influência da variedade do fruto no teor mineral, o que pode ter ocorrido nas amostras do bioma Atlântico e Amazônico.

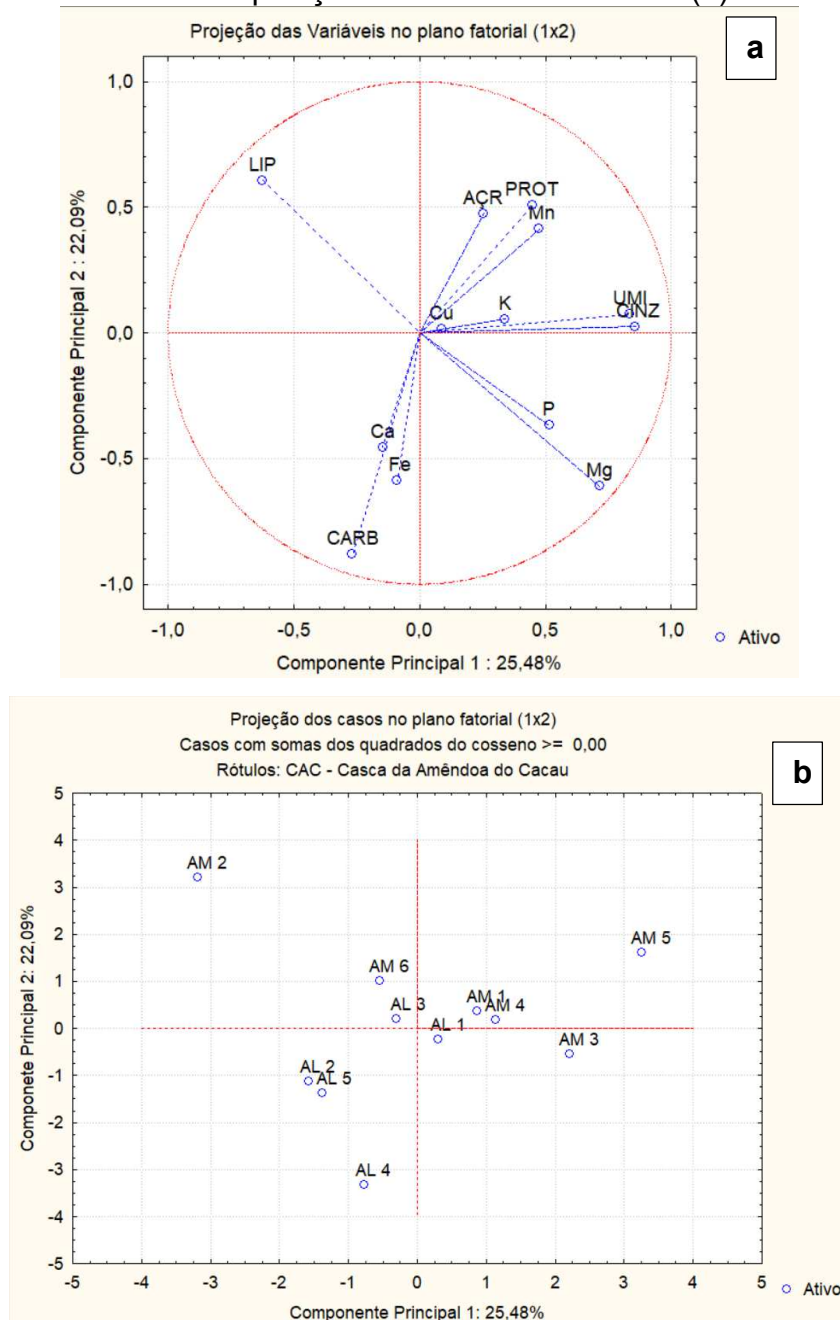
Tendo em vista o apresentado por Cinquanta *et al.*, (2016), o fósforo desempenha papel importante no organismo humano por que, juntamente com o cálcio, contribui para a manutenção do tecido ósseo. Em amostras de amêndoa de cacau coletadas em Ghana foi observado um teor de fósforo e cálcio de 0,52 e 0,07 g 100 g⁻¹, respetivamente, valores inferiores aos observados para fósforo (1,34 a 1,58 g 100 g⁻¹) e superiores para cálcio (0,0065 a 0,0066 g 100 g⁻¹).

Considerando a composição mineral das amostras de CAC ressalta-se que são uma potencial fonte para reposição mineral principalmente quando são observados os valores de P e K. Entretanto, as próximas etapas seria investigar a biodisponibilidade e bioacessibilidade destes minerais nas amostras analisadas para assim, inserir na formulação de alimentos.

3.3 Análise dos Componentes Principais (ACP)

A análise dos componentes principais foi executada a afim de observar o comportamento das amostras em função das repostas obtidas nas análises de composição centesimal e perfil mineral, em que todos os parâmetros foram utilizados como variáveis ativas. Com a execução da análise foi possível observar pela figura 1 que os dados foram explicados pela Componente Principal 1 com 25,48 % e a Componente Principal 2 com 22,09 %, totalizando 47,57 % de explicação.

Figura 1: Projeção das Variáveis para a Análise dos Componentes Principais das amostras de casca da amêndoa do cacau dos biomas Amazônico e Atlântico em função dos resultados de composição centesimal e minerais (a) s e amostras (b).



UMI – Umidade; CINZ – Cinzas; LIP – Lipídeos; PROT – Proteína; AÇR – Açúcares redutores; CARB – Carboidratos.

As amostras AM são Amazônicas e AL são Atlânticas.

Era esperado para as respectivas amostras uma relação entre os valores encontrados para minerais e as respostas de cinzas, já que, as cinzas representam toda matéria inorgânica presente na constituição da amostra, porém o valor de cinzas não oferece informações específicas sobre os minerais presentes. De acordo com a ACP, os valores de cinzas obtiveram uma boa relação com os minerais K, Cu e Mn,

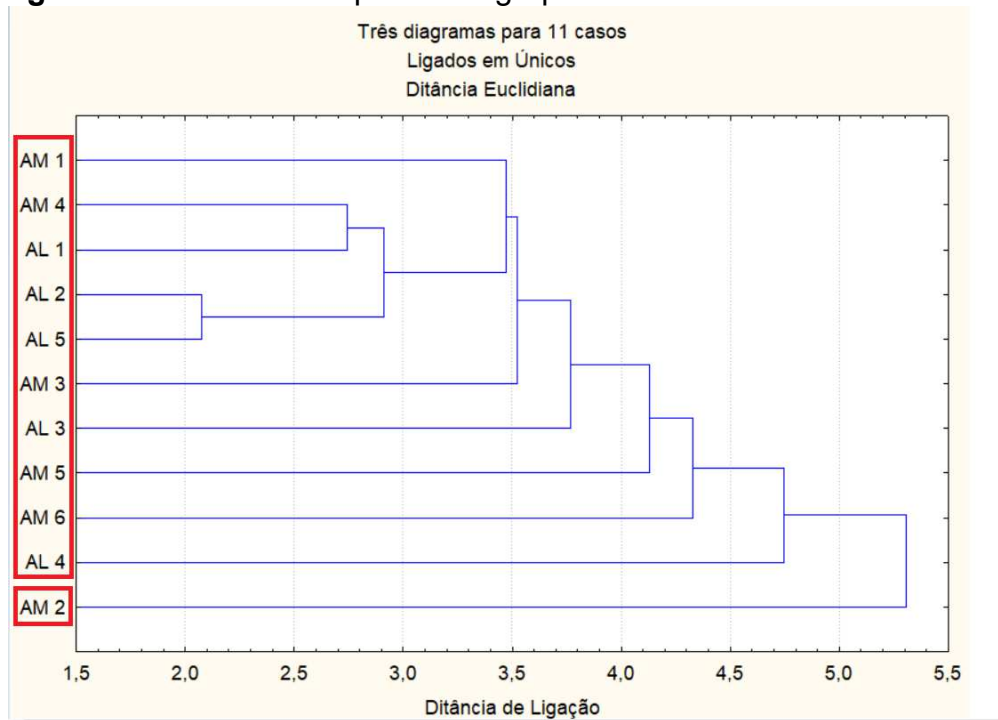
presentes no quadrante I da figura 1a, e estes valores foram maiores para as amostras AM 5, AM 4 e AM 1, que se assemelham quando observado, já que são amostras Amazônicas.

As amostras AL 4, AL 5 e AL 2 estiveram no quadrante III da figura 1b, inversas as amostras anteriores. Estas amostras são semelhantes quanto a bioma e técnica de cultivo, já que todas foram obtidas do bioma Atlântico e foram cultivadas pelo método cabruca. Entretanto não é possível afirmar que estes valores sofrem influência do solo, mesmo sabendo que as amostras foram cultivadas no mesmo estado (Bahia), a variação do solo é grande e não é uniforme em toda a extensão, devido as influências geográficas e climáticas.

O principal resultado observado são os teores de lipídeos das amostras, que em ordem decrescente $AM\ 1 > AM\ 6 > AL\ 3$. A análise de lipídeos ficou no quadrante II da figura 1a, não contendo nenhuma outra variável no mesmo espaço, o que era esperado já que os resultados de minerais não possuem relações direta com o teor de lipídios. Quanto as amostras, somente duas se assemelham em relação ao bioma (AM 1 e AM 6), e duas em função a técnica de cultivo (AM 6 e AL 3). As respostas de lipídeos são fortemente influenciadas pela etapa de remoção das CAC da amêndoa, já que as mesmas são quebradas e transformadas em *nibs* e separadas por diferença de granulometria. Dependendo do tamanho, pode ocorrer a separação de parte do *nibs* junto a CAC e isso, pode crescer no valor de lipídeos (OKIYAMA *et al.*, 2018).

Na análise hierárquica foi possível observar a formação de grupos que, levando em consideração a distância euclidiana de 5, a intersecção na figura 2, foi observado a formação de 2 grupos distintos, conforme o destacado na imagem.

Figura 2: Análise Hierárquica de Agrupamento.



As amostras AM são Amazônicas e AL são Atlânticas.

Nota-se que a origem e cultivo não exercem grande influência sobre as amostras, já que todas as amostras, independente da técnica de cultivo ou bioma, estiverem no mesmo grupo, ou seja, no grupo 1. Somente a amostra AM 2 ficou separada do restante das amostras, no grupo 2. A amostra AM 2 é uma CAC Amazônica e selvagem, esta subdivisão deve-se pela principal diferença observada em comparação com o restante das amostras, o teor de lipídeos ($19,65 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$), não existe uma relação dentre esta variável e as condições de cultivo ou origem, fatores como modificação genética, condições de processo e armazenamento podem inferir no aumento ou diminuição deste valor nestas amostras (OKIYAMA *et al.*, 2018).

4. CONCLUSÃO

A casca da amêndoa do cacau apresentou grande variabilidade, principalmente quando observado a composição centesimal, indicando a necessidade de investigar mais as amostras brasileiras, já que a indústria do cacau é tão vasta e a produção de chocolate necessita de matérias-primas específicas para o desenvolvimento de seus produtos, com apelos nutricionais e sensoriais.

Entre as amostras analisadas, a AM 2 obteve os maiores resultados em teor de lipídeos e para minerais as amostras AL 4 e as Amazônicas, apresentaram valores elevados quanto ao P e K, sendo um indicativo de potenciais usos. Todas as amostras apresentaram teores de cobre abaixo do permitido pela Legislação Brasileira, o que mostra uma possível segurança para consumo humano. Porém, maiores investigações são necessárias para avaliação da biodisponibilidade e bioacessibilidade dos minerais das CAC para aplicação pelas indústrias.

Agradecimentos:

Agradeço ao departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos da UEL pela disposição da estrutura e o aprendizado obtido durante a duração da pesquisa. E a CAPES pela concessão da bolsa para execução da pesquisa.

REFERÊNCIAS

AIPC: Associação Nacional de Industria Processadoras de Cacau. Recebimento de cacau cresce em 2023 e é 7% maior que o do ano anterior. In: **AIPC**, 2024. Disponível em: < <https://aipc.com.br/recebimento-de-cacau-cresce-em-2023-e-e-7-maior-que-o-do-ano-anterior-2/>>. Acesso em: 05/01/2024.

BALENTIĆ, Jelena *et al.* Cocoa shell: A by-product with great potential for wide application. **Molecules**, v. 23, n. 6, p. 1404, 2018.

BRITO, D. Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira (CEPLAC): Brasil quer ganhar posições na produção mundial de cacau e chocolate. In: **Gov.br**, 2020. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/noticias/brasil-quer-retomar-protagonismo-no-cenario-global-de-cacau-e-chocolate>>. Acesso em: 17/01/2022.

BARIŠIĆ, Veronika *et al.* Difficulties with use of cocoa bean shell in food production and high voltage electrical discharge as a possible solution. **Sustainability**, v. 12, n. 10, p. 3981, 2020.

BARBOSA-PEREIRA, Letricia; GUGLIELMETTI, Alessandro; ZEPPA, Giuseppe. Pulsed electric field assisted extraction of bioactive compounds from cocoa bean shell and coffee silverskin. **Food and bioprocess technology**, v. 11, p. 818-835, 2018.

BARBOSA-PEREIRA, L.; BELVISO, S.; FERROCIANO, I.; ROJO-POVEDA, O.; ZEPPA, G. Characterization and Classification of Cocoa Bean Shells from Different Regions of Venezuela Using HPLC-PDA-MS/MS and Spectrophotometric Techniques Coupled to Chemometric Analysis. **Foods**, ed. 10, 2021.

BORÉM, Aluízio; MIRANDA, Glauco V.; FRITSCHÉ-NETO, Roberto. **Melhoramento de plantas**. Oficina de Textos, 2021.

CHUNG, B.Y.; IIYAMA, K.; HAN, K.W. Compositional Characterization Of Cacao (*Theobroma cacao* L.) Hull. **Journal Applications Biological Chemistry**, v. 46, pg. 12–16, 2003.

CINQUANTA, Luciano *et al.* Mineral essential elements for nutrition in different chocolate products. **International journal of food sciences and nutrition**, v. 67, n. 7, p. 773-778, 2016.

CINAR, Z. O.; ATANASSOVA, M.; TUMER, T. B.z; CARUSO, G.; ANTIKA, G.; SHARMA, S.; SHARIFI-RAD, J.; PEZZANI, R. Cocoa and cocoa bean shells role in human health: An updated review. **Journal of Food Composition and Analysis**, ed. 103, 2021.

CHANG, V.; VÁSQUEZ, R. L.; FLOR, I. F.; Perfil Químico de 12 clones tipo nacional de pasta de cacao (*Theobroma cacao* L.). **Universidad y sociedad**, 16(1), 126-136, 2024.

DELFINI, Jessica *et al.* Genome-wide association study for grain mineral content in a Brazilian common bean diversity panel. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 134, p. 2795-2811, 2021.

EFRAIM, Priscilla *et al.* Characteristics of cocoa butter and chocolates obtained from cocoa varieties grown in Bahia, Brazil. **European Food Research and Technology**, v. 237, p. 419-428, 2013.

FERREIRA, A. C. R. **Beneficiamento de Cacau de Qualidade Superior**. Editora PTCSB, Ilhéus – BA, 2017.

FEBRIANTO, Noor Ariefandie; WANG, Sunan; ZHU, Fan. Chemical and biological properties of cocoa beans affected by processing: A review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 62, n. 30, p. 8403-8434, 2022.

GIACOMETTI, J.; JOLIC, S. M.; JOSIC, D. **Cocoa Processing and Impacto on Composition**. Editora Elsevier, cap. 17, 2015.

GUEVARA, J. Um passo-a-passo da colheita e processamento do cacau. *In: Perfect Daily Grind*, 2020. Disponível em: <<https://perfectdailygrind.com/pt/2020/11/24/passo-a-passo-colheita-processamento-do-cacau/>>. Acesso em: 17/01/2022.

GUIRLANDA, Christiano Pedro; DA SILVA, Geisa Gabriela; TAKAHASHI, Jacqueline Aparecida. Cocoa honey: Agro-industrial waste or underutilized cocoa by-product?. **Future Foods**, v. 4, p. 100061, 2021.

HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ, C.; VIERIA-ALCAIDE, I.; MORALES-SILLERO, A., M.; FERNÁNDEZ-BOLANOS, J.; RODRÍGUEZ-GUTIÉRREZ, G. Bioactive compounds in

Mexican genotypes of cocoa cotyledon and husk. **Food chemistry**, v. 240, p. 831-839, 2018.

LO COCO, Filippo *et al.* Determination of theobromine, theophylline, and caffeine in by-products of cupuacu and cacao seeds by high-performance liquid chromatography. **Journal of chromatographic science**, v. 45, n. 5, p. 273-275, 2007.

LESSA, O.A.; DOS SANTOS REIS, N.; LEITE, S.G.F.; GUTARRA, M.L.E.; SOUZA, A.O.; GUALBERTO, S.A.; DE OLIVEIRA, J.R.; AGUIAR-OLIVEIRA, E.; FRANCO, M. Effect of the solid state fermentation of cocoa shell on the secondary metabolites, antioxidant activity, and fatty acids. **Food Science and Biotechnology**, ed. 27, pg. 107–113, 2018.

MIYAZAWA, Mário *et al.* Análises químicas de tecido vegetal. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**, p. 370, 1999.

MARTÍNEZ-Cervera, S; SALVADOR, A; MUGUERZA, B; MOULAY, L; FISZMAN, S. M. Cocoa fibre and its application as a fat replacer in chocolate muffins. **Food Science and Technology**, ed. 44(3), p.729-736, 2012.

MARIATTI, F.; GUNJEVIC, V.; BOFFA, L.; CRAVOTTO, G. Process intensification Technologies for the recovery of valuable compounds from cocoa by-products. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, ed. 63, 2021.

MENDOZA-MENESES, C. J.; FERREGRINO-PÉREZ, A. A.; GUTIÉRREZ-ANTONIO, C. Potential Use of Industrial Cocoa Waste in Biofuel Production. **Journal of Chemistry**, v. 2021, p. 1-11, 2021.

MARTINS, Lucimara Miranda *et al.* Phenolic compounds, methylxanthines, and preference drivers of dark chocolate made with hybrid cocoa beans. **Research, Society and Development**, v. 12, n. 4, p. e22912440782-e22912440782, 2023.

NETANIA. G.; PERMANA, T.; EFFENDY, J.; SANTOSO, F.; OSLO, E. A. A Review on the Potential Applications of Cocoa Shell in Food Industry. **Advances in Biological Sciences Research**, v. 16, 2022.

OKIYAMA, D.; NAVARRO, S. L. B.; RODRIGUES, C. E. Cocoa shell and its compounds: Applications in the food industry. **Trends in Food Science e Technology**, ed. 63, pg 103-102, 2017.

OKIYAMA, D.; SOARES, I. D.; CUEVAS, M. S.; CREVELIN, E. J.; MORAES, L. A. B.; MELO, M. P.; OLIVEIRA, A. L.; RODRIGUES, C. E. Pressurized liquid extraction of flavanols and alkaloids from cocoa bean shell using ethanol as solvent. **Food Research International**, ed. 14, pg. 20 – 29, 2018.

OKIYAMA, D.; SOARES, I. D.; TODA, T. A.; OLIVEIRA, A. L.; RODRIGUES, C. E. Effect of the temperature on the kinetics of cocoa bean shell fat extraction using pressurized ethanol and evolution of the lipid fraction and degatted meal. **Industrial Crops & Products**, ed. 130, pg. 96 -103, 2019.

OLIVEIRA, Bruno Felipe *et al.* Efeito do tratamento enzimático no despolpamento de cacaos do clone CCN-51: características físico-químicas, teor de polifenóis e atividade antioxidante. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 7, p. e142973999-e142973999, 2020.

OUATTARA, L. Y.; KOUASSI, E. K. A.; SORO, D.; SORO, Y.; YAO, K. B.; ADOUBY, K.; DROGUI, A. P.; TYAGI, D. R.; AINA, P. M. Cocoa Pod Husks as potential sources of renewable high-value-added: A review of current valorizations and future prospects. **Bioresources**, ed. 16, 2021.

PÉREZ-CLEMENTE, Rosa M. *et al.* Biotechnological approaches to study plant responses to stress. **BioMed research international**, v. 2013, 2013.

PAVLOVIC, N.; JOKIĆ, M S.; JAKAVLJEVIC, M.; BLAZIC, M.; MOLNAR, M. Green Extraction Methods for Active Compounds from Food Waste: Cocoa Bean Shell. **Foods**, ed. 9, p. 140, 2020.

PANDA, António *et al.* Influence of cocoa origin on the nutritional characterization of chocolate. **European Food Research and Technology**, v. 248, n. 10, p. 2569-2577, 2022.

ROJO-POVEDA, O.; BARBOSA-PEREIRA, L.; MATEUS-RUGUENGO, L.; BERTOLINO, M.; STÉVIGNY, C.; ZEPPA, G. Effect of particle size and extraction methods on cocoa bean shell functional beverage. **Nutrients**, ed. 11, v. 867, 2019.

ROJO-POVEDA, Olga *et al.* Cocoa bean shell—a by-product with nutritional properties and biofunctional potential. **Nutrients**, v. 12, n. 4, p. 1123, 2020.

RAMOS-ESCUADERO, Fernando *et al.* Colour, fatty acids, bioactive compounds, and total antioxidant capacity in commercial cocoa beans (*Theobroma cacao* L.). **LWT**, v. 147, p. 111629, 2021.

STARK, Timo *et al.* Absorption of N-phenylpropenoyl-L-amino acids in healthy humans by oral administration of cocoa (*Theobroma cacao*). **Molecular nutrition & food research**, v. 52, n. 10, p. 1201-1214, 2008.

SILVA, L. F. **Cacau: Sul da Bahia**. Editora Porto Alegre: PLUS, ed. 1, 2019.

SOUZA SANTANA, Cristiano *et al.* Influência do período de colheita na qualidade do cacau da Indicação Geográfica Sul da Bahia. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 2, p. 8295-8306, 2020.

SILVA, Joilna Alves *et al.* Caracterização química e fitoquímica, toxicidade e atividade antioxidante In Vitro, de Clones de Pedúnculos de Caju (*Anacardium Occidentale* L.). **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 8, p. 79458-79470, 2021.

TIMBIE, D. J.; SECHRIST, L.; KEENEY, P. G. Application of high-pressure liquid chromatography to the study of variables affecting theobromine and caffeine concentrations in cocoa beans. **Journal of Food Science**, v. 43, n. 2, p. 560-565, 1978.

URBAŃSKA, Bogumiła *et al.* Changes in the composition and content of polyphenols in chocolate resulting from pre-treatment method of cocoa beans and technological process. **European Food Research and Technology**, v. 245, p. 2101-2112, 2019.

VELOSO, J. L. M.; SANTANA, C. J. L. Cobre residual em solos de plantações de cacau (*Theobroma cacao* L.). **Rev Agrotrópica**, v. 12, p. 75-80, 2000.

VARGAS-ARANA, Gabriel *et al.* UHPLC–MS characterization, and antioxidant and nutritional analysis of cocoa waste flours from the peruvian Amazon. **Antioxidants**, v. 11, n. 3, p. 595, 2022.

CONCLUSÃO GERAL

No geral, as amostras apresentaram valores inferiores ao relatado pela literatura para os teores de teobromina, catequina, cafeína, procianidina b2, ácido cafeíco e quercetina, quantificados por cromatografia à líquido. Todavia a amostra AL 4, geneticamente modificada, Atlântica e cabruca obteve os valores altos para teobromina, procianidina B2 e ácido cafeíco. Além disso, as cascas apresentaram valores elevados de compostos fenólicos totais e atividades antioxidantes por ABTS+ e DPPH, com destaque as amostras AL 5, AL 2 e AL 1, originária do bioma Atlântico.

Já a caracterização mineral possibilitou das amostras indicou níveis elevados de K e P, principalmente nas amostras coletadas no bioma Amazônico, podendo ser utilizado como fonte destas espécies químicas em formulações de produtos à base de cacau para contribuir na manutenção óssea e cardiovascular.

A análise dos componentes principais indicou uma influência da origem e técnica de cultivo, quando observado as variáveis teobromina, catequina, cafeína, procianidina b2, ácido cafeíco, quercetina, compostos fenólicos totais e atividades antioxidantes. Porém quando observadas as respostas de composição centesimal e minerais, não há evidência de influências da origem e técnica de cultivo.

Pesquisas com casca da amêndoa de cacau Amazônicas e Atlânticas são necessárias para ser possível explorar mais adequadamente estes resíduos para o desenvolvimento de novos produtos, além da valorização deste que pode contribuir para a preservação dos biomas e estabilidade dos biomas onde as mesmas estão inseridas com manejo adequado da cultura e do solo.

De um modo geral a casca da amêndoa de cacau tem um bom potencial para utilização dentro da própria cadeia do processamento do cacau, possibilitando a inclusão de compostos benéficos à saúde humana, porém a incorporação deste resíduo requer estudos posteriores para avaliação da biodisponibilidade e da melhora ou manutenção das propriedades tecnológicos de produtos alimentícios em que esta incorporação seja viável.

