

REVESTIMENTO COMESTÍVEL A PARTIR DO REAPROVEITAMENTO DO RESÍDUO DO CACAU (*THEOBROMA CACAO L.*)

EDIBLE COATING FROM THE REUSE OF COCOA (*THEOBROMA CACAO L.*) RESIDUE

Brunna Fernanda Zahlouth Ferreira¹
Cecylia Carolina Santos da Silva Souza²
Luciana Pereira Damasceno³
Patrícia Oliveira Santos⁴
Fagner Sousa de Aguiar⁵

Área Temática III: Engenharia de Alimentos, Tecnologias Agroalimentares e Sistemas
Agroindustriais
Modalidade: Artigo Científico

Resumo

No mundo, anualmente, a indústria cacaueteira gera cerca de 10,3 toneladas de resíduos para cada tonelada de amêndoas secas produzidas, sendo estes a casca de cacau (CC) e película da amêndoa (PA). O objetivo deste trabalho é reaproveitar esses resíduos para agregar valor à cadeia comercial do cacau amazônico. Os resíduos foram obtidos junto aos produtores de chocolate do Estado do Pará e armazenado no Centro de Valorização de Compostos Bioativos da Amazônia (CVACBA), localizado no PCT Guamá, até o momento da realização da análise. Foi realizada a caracterização química dos resíduos, extração da pectina da casca do fruto, determinação de flavonóis totais e flavanois totais da película da amêndoa, extração e quantificação dos compostos fenólicos da película da amêndoa em solução acetônica a 70% acidificada a 0,5% (HCl), quantificação de alcalóides e fenólicos em sistema CLAE, avaliação da atividade antimicrobiana por microdiluição em placas, elaboração do biofilme ativo e aplicação em frutas (goiaba e mamão) pelo método casting, avaliando perda de massa, crescimento de fungos e a cor dos frutos por 10 dias; no biofilme foi avaliado a espessura e a permeabilidade ao vapor d'água (PVA). A PA apresentou 13,18% de lipídeos e 23,67% de proteínas. A CC apresentou 7,1% de pectina. O resíduo de PA apresentou 32,762 mg eq. rutina/100g de PA de flavonóis totais e 117,45 mg eq. catequina/100g PA de flavanois totais; em termos de compostos fenólicos totais a solução acetônica acidificada extraiu 13.890 mg eq. catequina/100g. Em sistema CLAE, a solução acetônica apresentou 0,176 mg procianidina B2 /100g PA, 0,572 mg cafeína /100g PA e 0,325 mg teobromina /100g PA. Os compostos fenólicos apresentaram uma concentração mínima inibitória de 250mg/L para o extrato acetônico. Na elaboração do biofilme, os compostos fenólicos da PA foram utilizados a 250 mg/L e 2% de pectina da CC (p/v), apresentando espessura de 0,32 mm e $3,96 \times 10^{-8}$ g/m.h.Pa de permeabilidade ao vapor d'água. Com relação aos parâmetros de acompanhamento nos frutos, houve uma redução de 20% na perda de massa, 34% no crescimento de fungos e um maior retardo do surgimento da coloração amarela em ambos os frutos, permanecendo com a coloração esverdeada mesmo após 10 dias pós-

¹ Discente de Ciência e Tecnologia de Alimentos – Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA); bz.brunnazahlouth@gmail.com

² Bacharel em Ciência e Tecnologia de Alimentos – Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA); cecyliacarolinassilva@gmail.com

³ Discente de Ciência e Tecnologia de Alimentos – Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA); lucianapereira1227@gmail.com

⁴ Doutoranda em Biotecnologia da Universidade Federal do Pará (UFPA); patyengbio@gmail.com

⁵ Docente da Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA); fagner.aguiar@ufra.edu.br

colheita em relação ao grupo controle negativo. A produção de biofilme ativo, reutilizando a pectina da CC e os compostos fenólicos da PA apresentou-se viável em prolongar a vida útil de frutas com alta taxa respiratória no período pós-colheita.

Palavras-Chave: casca, película, amêndoa, biofilme.

Abstract

Worldwide, the cocoa industry generates approximately 10.3 tons of waste per ton of dry beans produced, including cocoa shells (CC) and almond skins (PA). The objective of this study is to reuse these residues to add value to the Amazonian cocoa commercial chain. The residues were obtained from chocolate producers in the state of Pará and stored at the Amazon Bioactive Compounds Valorization Center (CVACBA), located in the Guamá PCT, until the time of analysis. The chemical characterization of the residues, extraction of pectin from the fruit peel, determination of total flavonols and total flavanols from the almond skin, extraction and quantification of phenolic compounds from the almond skin in 70% acetone solution acidified to 0.5% (HCl), quantification of alkaloids and phenolics in HPLC system, evaluation of antimicrobial activity by microdilution in plates, preparation of active biofilm and application in fruits (guava and papaya) by the casting method, evaluating mass loss, fungal growth and color of the fruits for 10 days; in the biofilm, the thickness and permeability to water vapor (PVA) were evaluated. The PA presented 13.18% lipids and 23.67% proteins. The CC presented 7.1% pectin. The PA residue presented 32.762 mg eq. rutin/100g PA of total flavonols and 117.45 mg eq. catechin/100g PA of total flavonols; in terms of total phenolic compounds, the acidified acetone solution extracted 13,890 mg eq. catechin/100g. In the HPLC system, the acetone solution presented 0.176 mg procyanidin B2/100g PA, 0.572 mg caffeine/100g PA and 0.325 mg theobromine/100g PA. The phenolic compounds presented a minimum inhibitory concentration of 250mg/L for the acetone extract. In the elaboration of the biofilm, the phenolic compounds of PA were used at 250 mg/L and 2% of pectin from CC (w/v), presenting a thickness of 0.32 mm and 3.96×10^{-8} g/m.h.Pa of permeability to water vapor. Regarding the monitoring parameters in the fruits, there was a 20% reduction in mass loss, 34% in fungal growth and a greater delay in the appearance of yellow coloration in both fruits, remaining with the greenish coloration even after 10 days post-harvest in relation to the negative control group. The production of active biofilm, reusing the pectin from CC and the phenolic compounds from PA proved viable in extending the shelf life of fruits with high respiratory rate in the post-harvest period.

Key words: shell, film, almond, biofilm.

1. Introdução

O cacau (*Theobroma cacao L.*) é uma árvore perene típica de regiões tropicais com origem relatada na região Amazônica (Motamayor *et al.*, 2008). Suas sementes, após fermentadas e secas, são a principal matéria-prima para produção do chocolate no mundo (Soares; Oliveira, 2022), sendo fabricado mediante os processos da torra e moagem das suas amêndoas secas em processo industrial ou caseiro. Além de resultar em polpa, suco, geleia, destilados finos e sorvete, que se compreendem como subprodutos do fruto (Melo, 2017). Esse processamento do chocolate gera resíduos, como a película da amêndoa do cacau (PA) e a casca do fruto (CC), que são descartadas pela indústria cacauceira. Alguns estudos demonstram que para o processamento de derivados do cacau, aproveita-se somente 8% do fruto (cotilédones

limpos, também chamados de nibs) e os outros 92% classificados como resíduos sem destinação comercial efetiva (Pereira, 2017).

Atualmente, o Brasil encontra-se entre os dez maiores produtores de cacau no mundo, com 269 mil toneladas produzidas em 2020 (FAO, 2022). As regiões Norte e Nordeste, com destaque para os estados do Pará e Bahia, são os principais polos de produção, e respondem, respectivamente, por 54% e 39% da produção nacional de frutos (269.731 mil toneladas) (IBGE, 2022).

Por conseguinte, para a produção da amêndoa fermentada e seca, a principal matéria prima do chocolate, são gerados vários subprodutos, como a casca do fruto (Campos-Vega; Nieto-Figueroa; Oomah, 2018); tem-se reportado que para cada tonelada de amêndoa seca produzida, 10 toneladas de casca úmida são geradas (Vásquez *et al.*, 2019). Lu *et al.* (2018) relatam que a CC possui cerca de 6 a 12% de pectina em base seca, um biopolímero de ampla utilização na indústria alimentícia. Ademais, a película da amêndoa, outro resíduo gerado, representa cerca de 2 a 3% do peso do fruto, ou seja, cada tonelada de amêndoa seca produzida, gera, aproximadamente 300 kg de PA, que são descartados (Campos-Vega; Nieto-Figueroa; Oomah, 2018; Grillo *et al.*, 2019), sendo correspondente a 10% a 17% do peso total dos grãos de cacau (Rojo-Poveda *et al.* 2020). Tendo, portanto, este resíduo possui compostos bioativos em potencial para exploração e aplicação.

Os compostos bioativos, em especial os fenólicos totais (FT), são substâncias derivadas do metabolismo secundário dos vegetais (Oksana *et al.*, 2012; Meregalli, 2020; Dias *et al.*, 2020). Em relação saúde humana, estão associados às atividades anti-inflamatória, antimicrobiana, antioxidante, hipocolesterolemiantes e hipoglicemiantes (Dajas, 2004; Dias *et al.*, 2020), sendo de grande interesse industrial. No estudo de Rojo-Poveda *et al.* (2021), foram identificados na película da amêndoa do cacau os seguintes compostos fenólicos: ácidos fenólicos - como o ácido protocatecuico, catequina, epicatequina e procianidinas do tipo B; portanto, podendo-se extrair tais compostos visando uma aplicação industrial.

Portanto, tais resíduos podem ser utilizados na formulação de revestimentos comestíveis, utilizando a pectina extraída da casca do fruto e os compostos bioativos extraídos da película da amêndoa. A embalagem ativa antioxidante ou revestimento comestível é tecnologia inovadora para a preservação de alimentos onde há uma interação entre os materiais da embalagem e o produto alimentar promovendo o contato com o agente antioxidante,

impedindo as reações de oxidação (López de Dicastillo *et al.*, 2016).

Uma vantagem da utilização dessas embalagens é liberação de compostos ativos antioxidantes para o alimento a taxas controladas, de modo que uma concentração predeterminada do composto ativo é mantida no alimento durante o armazenamento e distribuição, quando comparada com a adição direta de antioxidantes nos alimentos, compensando a contínua utilização de antioxidantes durante a armazenagem. Além disso, o agente antioxidante é liberado para a superfície dos alimentos que é mais submetida à oxidação (Licciardello *et al.*, 2015). Sendo assim, uma alternativa para o destino de resíduos advindos da indústria cacaueteira seria a utilização na produção de revestimentos comestíveis em frutas de alta taxa respiratória, prolongando então, seu tempo de vida de prateleira.

2. Metodologia

2.1 – Obtenção e preparo das amostras

Os frutos do cacaueteiro foram obtidos junto aos produtores no Estado do Pará (Medicilândia e Belém), e seguiram para o Centro de Valorização de Compostos Bioativos da Amazônia (CVACBA), localizado no PCT / Guamá. Neste centro houve produção de chocolate para fins de pesquisa, gerando resíduos CC (casca do cacau) e PA (película da amêndoa), os quais foram separados e armazenados a - 20°C até o momento das análises. Todas as 2 origens foram misturadas para cada resíduo.

2.2 - Caracterização química dos resíduos

A CC foi seca por 24h a 40°C em estufa e, posteriormente, assim como a PA torrada provinda do processamento do chocolate, foram moídos em moinho de facas com peneira de 1 mm. A partir destes materiais, ocorreu a determinação de umidade, proteínas, lipídeos, fibras totais e cinzas totais, conforme a Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 2023), em triplicata, com ajuste para 8h de extração na determinação de lipídeos. Carboidratos totais foram estimados por diferença.

2.3 - Extração da pectina da casca do fruto

A extração da pectina da CC foi realizada por meio aquoso, de acordo com a metodologia otimizada por (Vriesmann, Teófilo e Petkowicz, 2012) utilizando água quente

(100°C) acidificada com ácido cítrico (pH 3) na proporção 1:25 (farinha da casca:água, m:v). Posteriormente, esses extratos foram centrifugados a 4500 rpm e 4°C, por 30 minutos. O sobrenadante foi filtrado em tecido sintético e os polissacarídeos foram precipitados com a adição etanol (96° GL) na proporção de 1:2, permanecendo em repouso por 16 horas a 4°C. O material precipitado foi lavado 3 vezes com etanol e em seguida, seco em estufa à vácuo a 25°C. O rendimento de pectina foi calculado em relação ao peso inicial da casca.

2.4 – Extração e determinação dos compostos fenólicos da película da amêndoa do cacau

O material granular de PA foi submetido a extração dos compostos fenólicos, seguindo a metodologia adaptada de Nsor-Atindana (2012) que sugere solução acetônica a 70% acidificada a 0,5% (HCl), 40°C por 30 minutos. Após esta etapa, o extrato foi submetido a retirada do etanol por centrifugação (CentriVap®). O extrato bruto foi mantido em -20°C. Posteriormente, foi realizado a extração utilizando acetona acidificada. Por fim foi determinado o teor de fenólicos de ambos os extratos (Folin Ciocalteu).

O teor de fenólicos totais foi realizado pelo método colorimétrico utilizando reagente Folin-Ciocalteu (Singleton; Rossi, 1965). As medidas foram realizadas em triplicata e as concentrações em função da curva de calibração construída com ácido gálico padrão comercial.

2.5 - Determinação dos flavonóis totais e flavanois totais da película da amêndoa

Os flavonóis totais foram determinados por espectrofotometria, baseado na formação de um complexo flavonol-alumínio colorido, a 430 nm, após 10 min de reação (Quettier-Deleu; Gressier; Vasseur; Dine *et al.*, 2000). A rotina foi utilizada como composto padrão para curva de calibração. As determinações foram realizadas em triplicata

Os flavanois foram determinados usando cromóforo p-dimetilaminocinamaldeído (DMACA), seguindo protocolo proposto por Delcour e Varebeke (1985). A catequina foi utilizada como composto padrão para construção da curva de calibração. As determinações foram realizadas em triplicata.

2.6 - Quantificação de alcaloides e fenólicos em sistema CLAE

A identificação e quantificação de Alcaloides (Teobromina, Teofilina e Cafeína) e Compostos Fenólicos (Catequina, Procianidina B2 e Epicatequina) foram determinadas em Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), Thermo Scientific Ultimate 3000 (San José, CA, EUA) equipado com bomba quaternária (LPG-3400RS). A eluição em método isocrático foi realizada com água ultrapura (A) e acetonitrila (B) acidificadas com 2,5% de ácido acético, com uma taxa de fluxo de 0,2 mL/min iniciou com 7% de B e se manteve até o minuto 10, sendo utilizada coluna Kinetex EVO C18 100 Å, 1,7 µm 100 × 2,1 mm (Phenomenex, Torrance, CA, EUA). Os extratos foram filtrados com filtro de PVDF 0,22 µm (Analítica, São Paulo, SP, Brasil) e injetados em volume de 5 µL, com sistema de detecção em equipamento DAD. Em cada ensaio, o composto foi identificado por seu tempo de retenção e dados espectrais em comparação com o padrão isolado e quantificado por meio de uma curva de calibração de padrão comercial dos Alcaloides e Compostos Fenólicos do Cacau ($R^2=0,999$).

2.7 - Avaliação da atividade antimicrobiana do extrato fenólico da PA

A quantificação da concentração mínima inibitória (CMI) foi realizada pelo método de microdiluição em microplacas. Foram utilizadas duas cepas bacterianas (cepas alvos): *Salmonella* sp. e *Staphylococcus aureus*. Diluição seriada foi aplicada aos extratos, para gerar 9 concentrações diferentes em polifenóis, as quais foram dispersadas na microplaca, sendo posteriormente, adicionadas as cepas alvos. As leituras inicial e final (após 24h) foram realizadas em fluorímetro BIOTEK a 600 nm. As placas foram incubadas em shaker por 24 h a 35°C, sob rotação de 60 rpm. Ao final do tempo de incubação foi feita novamente a leitura das placas no fluorímetro para obter a absorbância final.

2.8 - Elaboração do biofilme ativo e aplicação em frutas

Os filmes foram preparados de acordo com a metodologia descrita por Soares (1998), sendo a técnica denominada *casting*. A solução filmogênica foi obtida dissolvendo-se 2% de pectina da CC (p/v) em água destilada sob aquecimento até completa solubilização. Depois adicionou-se 0,3% de glicerol e concentração de extrato fenólico da CBS a 250 mg polifenóis totais/L, concentração mínima inibitória alcançada (CMI) – inibição de 50% do crescimento das cepas testadas. Todos os componentes foram homogeneizados, e posteriormente, levados para banho ultrassônico por 15 min para remoção das bolhas formadas durante o processo. A

suspensão foi então, vertida em placas de vidro com 30 x 35 cm e levadas à secagem em temperatura ambiente por 24h.

Foram produzidos 200ml de formulação na qual foram aplicados em 10 frutas de alta taxa respiratória no período pós-colheita, sendo 5 goiabas e 5 mamões. A aplicação ocorreu utilizando a técnica de imersão, na qual os frutos foram imersos no filme de forma homogênea. Após a aplicação, foram analisados a perda de massa dos frutos no decorrer de 10 dias, como também a avaliação da mudança de coloração. Além de análises da permeabilidade ao vapor d'água e resistência mecânica do biofilme.

2.9 - Avaliação da perda de massa e cor dos frutos (aspectos visuais)

No decorrer de 10 dias foi realizada a avaliação da perda de massa dos frutos dos grupos controle - sem revestimento, e do grupo com revestimento por meio de pesagens diárias (seguindo o mesmo horário de pesagem); como também a avaliação de mudança de coloração dos frutos por meio de registros fotográficos diários de cada fruto.

2.10 - Avaliação da permeabilidade ao vapor d'água

A PVA foi determinada gravimetricamente a 25°C pelo método ASTM E96-80, com modificações. Os filmes foram aplicados em células de permeação com 50 mL de água destilada em seu interior. Estas células foram então acondicionadas em dessecadores contendo sílica gel azul e o conjunto foi armazenado em câmara tipo BOD a 25°C e monitorado através de pesagem durante sete dias em intervalos de 24 horas.

2.11 - Avaliação da resistência mecânica

E o teste mecânico de resistência à tração do biofilme foi realizado seguindo a norma ASTM D882-18. Tiras retangulares (7 cm x 1,5 cm) do biofilme foram postas em equipamento universal de ensaio (Biopdi®), fixando-as em 1 cm de cada extremidade (inferior e superior), com 5 cm de espaço livre entre as garras. A velocidade de estiramento aplicada foi 100 mm/min, sendo a força aplicada medida em Newton (N).

2.12 - Análise microbiológica de bolores, leveduras e mesófilas dos frutos

A análise microbiológica foi realizada por meio de ensaios confirmativos de bolores e leveduras; e mesófilas por método de profundidade, expressando resultado em UFC/ml, descrito por Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Food (2015).

3. Resultados/Discussões

3.1 Determinação da composição centesimal dos resíduos do Cacau

De acordo com a Tabela 1, a composição química da PA apresentou, aproximadamente, 23% de proteína e 5% de resíduo mineral fixo em sua constituição, sendo coerente com observado na literatura, cerca de 27,40% e 5,96%, respectivamente, segundo Rojo *et al.* (2020). No entanto, o resultado de fibras brutas (12,88%) é consideravelmente baixo quando comparado a resultados observados na literatura, com o valor acima de 40%, assim como o teor de lipídeos, onde este resíduo apresentou cerca de 13%, valor mais elevado do que encontrado em trabalho similar, aproximadamente, 8% de lipídeos totais, segundo Rojo *et al.* (2020). O tempo de extração maior neste estudo, justifica o maior percentual encontrado.

Tabela 1 – Composição química da película da amêndoa (PA) e da casca do fruto (*Theobroma Cacao L.*) – CC peneirada em Tamis 60 mesh.

COMPONENTE (g/100g)	PA	CC
Umidade	8,48 ± 0,18	6,54 ± 0,05
Lipídeos Totais	13,18 ± 0,35	1,30 ± 0,08
Proteína	23,67 ± 0,38	6,24 ± 0,09
Carboidratos*	36,77	50,62
Fibras Brutas	12,88 ± 0,28	27,77 ± 0,81
Resíduo mineral fixo (cinzas)	5,02 ± 0,0	7,53 ± 0,08

*Realizado por diferença.

A composição química da CC apresenta um valor de proteína 6,24%, abaixo do valor encontrado em trabalho similar que apresentou um conteúdo proteico de 9%, segundo dados obtidos por Pinheiro e Silva (2017). Em relação ao valor de lipídeos totais evidenciou-se um teor de 1,30%, valor menor do que encontrado por Pinheiro e Silva (2017), de 2,70%.

3.2 Extração da pectina da casca do fruto

A extração da pectina da CC foi realizada em água quente (100°C) acidificada com ácido cítrico. A extração da pectina foi oriunda de 120g de casca do fruto obtendo 8,320g de pectina, tendo-se então um rendimento de 7,1% de pectina em relação ao peso da casca fresca.

3.3 Extração dos compostos fenólicos da película da amêndoa do cacau

Primeiramente, foram extraídos os compostos fenólicos da película da amêndoa, e posteriormente, o extrato foi filtrado e transferido para um rotaevaporador, objetivando a remoção do álcool presente. O extrato acetônico produzido apresentou a média de concentração de 13.890mg/100g em média de concentração de compostos fenólicos, valor também mais alto se comparado a trabalho similar que apresentou a média de 4182mg/100g segundo Nsor-Atindana (2012).

3.4 Determinação dos flavonóis totais e flavanois totais da película da amêndoa (PA)

Dentre as classes de fenólicos, e subclasse de flavonoides, encontram-se os flavonóis totais e flavanois totais, na qual foram analisadas suas concentrações, evidenciando uma concentração média de flavonóis e flavanois de 32,762mg/100g e 117,45mg/100g, respectivamente (Tabela 2).

Tabela 2. Concentração de Flavonóis Totais e Flavanois Totais do resíduo PA.

100 g PA	Concentração
Flavonóis Totais (mg eq. rutina)	32,762 ± 5,79
Flavanois Totais (mg eq. catequina)	117,45 ± 0,71

Segundo Taroco *et al.* (2020), foram analisados teores de flavonóis e flavanois de amêndoas de cacau, evidenciando 44mg/100g e 444mg/100g, respectivamente, apresentando então um valor próximo do extrato de flavonóis e abaixo de flavanois, tal questão justificasse por se tratar de um resíduo oriundo da amêndoa, não se tratando da amêndoa em si como evidencia o trabalho em questão. Portanto, pode-se concluir que esse a PA possui interessante concentração de fenólicos, podendo ser utilizado na elaboração do biofilme ativo.

3.5 Quantificação de alcalóides e fenólicos em sistema CLAE

De acordo com os resultados obtidos e expostos na tabela 3, foram identificados/quantificados compostos presentes no extrato acetônico.

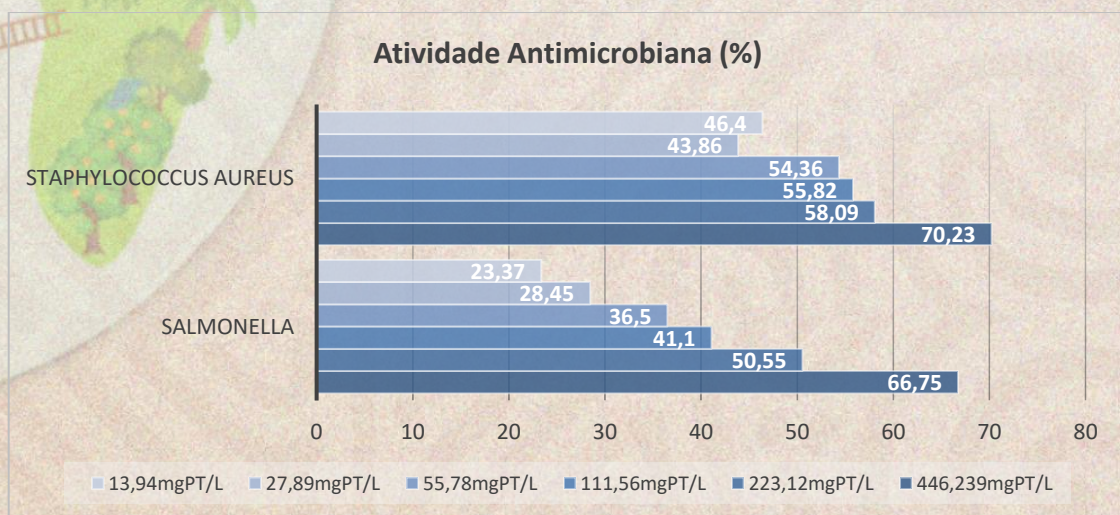
Tabela 3. Quantificação de alcalóides e fenólicos dos extratos

CLASSE	COMPOSTOS	ACETÔNICO (mg/100g)
FFENÓLICOS	PROCIANIDINA B2	0,176 ± 0,018
ALCALOIDES	CAFEÍNA	0,572 ± 0,013
	TEOBROMINA	0,325 ± 0,032

De posse dos dados obtidos é possível inferir que o extrato acetônico possui a presença de composto da classe dos fenólicos: procianidina B2 (0,176 ± 0,018 mg/100g); como também compostos da classe dos alcaloides: cafeína (0,572 ± 0,013 mg/100g) e teobromina (0,325 ± 0,032 mg/100g). Portanto, é notório que o extrato acetônico apresentou teor de fenólicos, composto majoritário procianidina B2, interessante para a extração.

3.6 Avaliação da atividade antimicrobiana do extrato PA

Figura 1- Atividade antimicrobiana do extrato acetônico 70% - acidificado.



De acordo com a Figura 1, a atividade antimicrobiana do extrato acetônico apresentou um percentual médio de inibição microbiana para cepa alvo *Salmonella sp.* de 50,55%; já para

a cepa alvo *Staphylococcus aureus* apresentou um percentual de 58,09%. Tais resultados correspondem com um trabalho similar na qual evidenciou que o extrato acetônico de PA apresenta maior atividade antimicrobiana em relação a todos os extratos analisados, segundo o trabalho de Nsor-Atindana (2012).

Portanto, pode-se concluir que o extrato acetônico possui atividade antimicrobiana, sendo interessante sua utilização para a extração de fenólicos na elaboração do biofilme ativo.

3.7 Elaboração do biofilme ativo e avaliação física do biofilme.

O biofilme ativo foi elaborado e aplicado em dois grupos de frutos distintos, sendo metade grupo controle (sem revestimento) e metade com o revestimento. Os frutos foram observados durante o intervalo de 10 dias.

Figura 2 - Grupo controle (1º dia, 5º dia e 10º dia, respectivamente).



Fonte: Os autores (2025).

Figura 3 - Grupo com filme (1º dia, 5º dia e 10º dia, respectivamente).



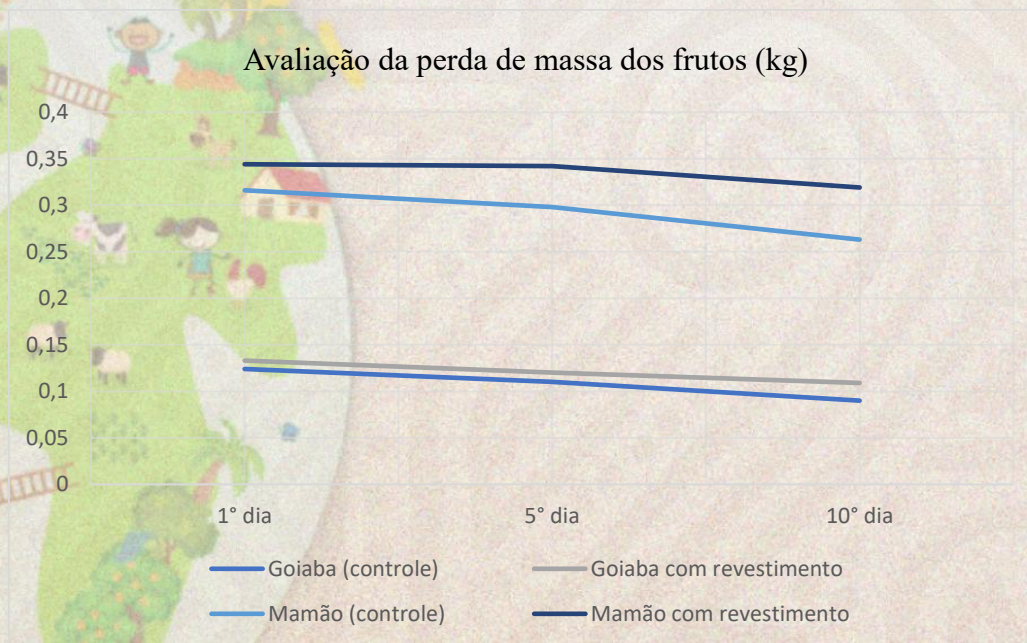
Fonte: Os autores (2025).

Os frutos apresentaram no primeiro dia uma coloração verde, textura e aparência íntegras em ambos os grupos. Após o período de cinco dias foi possível observar o surgimento de fungos no grupo controle, devido à perda de líquidos, no entanto no grupo com revestimento, nenhum fruto apresentou o surgimento de fungos, tendo apresentado apenas após nove dias de experimento. No décimo dia, todo o grupo controle apresentava a presença de fungos, porém, a maioria dos frutos com revestimento não apresentavam de maneira visível a presença de

fungos, e também mantinham sua coloração esverdeada; Ademais, o grupo controle apresentava tanto uma mudança de coloração quanto a presença de odor forte de forma significativa se comparado ao grupo com revestimento; sendo notório o impacto positivo do retardamento no amadurecimento e crescimento microbiano no grupo de frutos com a aplicação do biofilme ativo.

Por conseguinte, ao longo dos dez dias de experimento, também foram realizadas pesagens diárias dos grupos controle e com revestimento, cujos resultados estão expostos na Figura 4.

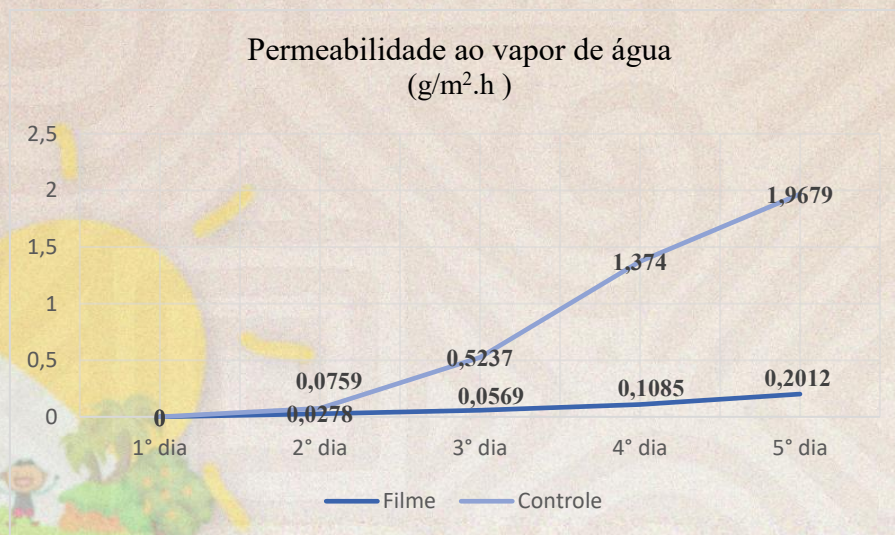
Figura 4 - Controle de peso (kg) dos frutos no período de 10 dias.



De posse dos dados obtidos se evidencia que o grupo controle da goiaba obteve uma perda maior de peso do que comparado ao grupo da goiaba com revestimento. Assim como, o grupo controle do mamão obteve uma maior perda de peso se comparado ao grupo com revestimento. Tal fato justifica-se pelo fato que o biofilme retarda o processo de amadurecimento dos frutos, podendo-se concluir que a formulação em questão foi eficaz como revestimento.

Por conseguinte, foi realizado o teste da permeabilidade ao vapor de água (PVA) do biofilme. Na figura 5 estão expostos os resultados da permeabilidade a vapor de água.

Figura 5. Análise da permeabilidade a vapor de água do biofilme ativo.

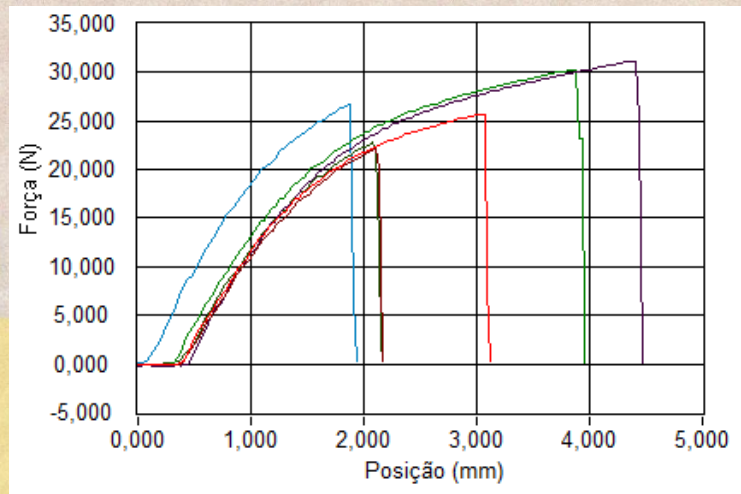


De acordo com os resultados obtidos, foram analisados dois grupos, com filme e sem filme durante um período de cinco dias. No quinto dia de experimento, o grupo controle apresentou o valor de 1,9679 g/m².h, enquanto o grupo com filme evidenciou o resultado de 0,2021 g/m².h, um valor consideravelmente menor; tal resultado demonstra a capacidade do biofilme em dificultar a permeabilidade de água no fruto, geralmente resultados positivos, pois retarda a deterioração do fruto. Trabalhos semelhantes de aplicação de revestimentos para aumentar a preservação de alimentos tiveram também resultados semelhantes, como demonstra o trabalho de SUN, Rui *et al.* (2021).

3.8 Teste mecânico de resistência à tração do biofilme.

Ademais, também foi realizada análise de teste mecânico de resistência à tração do biofilme, os resultados obtidos se encontram na figura 6.

Figura 6 – Teste mecânico de resistência à tração do biofilme.



Por meio de tiras retangulares, foi realizado o teste de tração com ordem de alongamento o que resultado na figura exposta acima. De posse dos dados obtidos é possível inferir que o biofilme apresenta resistência à tração, apresentando valores de resistência interessantes em três dos cinco pontos testados, sendo médias acima de 50%; tal resultado ao encontrado em trabalho similar Campagner *et. al* (2014).

3.9 Análise microbiológica de bolores, leveduras e mesófilas dos frutos

Na figura 7 encontra-se os resultados das análises microbiológicas de bolores, leveduras e mesófilos dos frutos com e sem revestimento. No resultado de bolores e leveduras, no grupo da goiaba houve o aparecimento de bolores e leveduras no grupo controle; já no grupo do mamão ambos os frutos com e sem revestimento apresentaram bolores, no entanto, os frutos com revestimento apresentaram um percentual de contaminação bem menor.

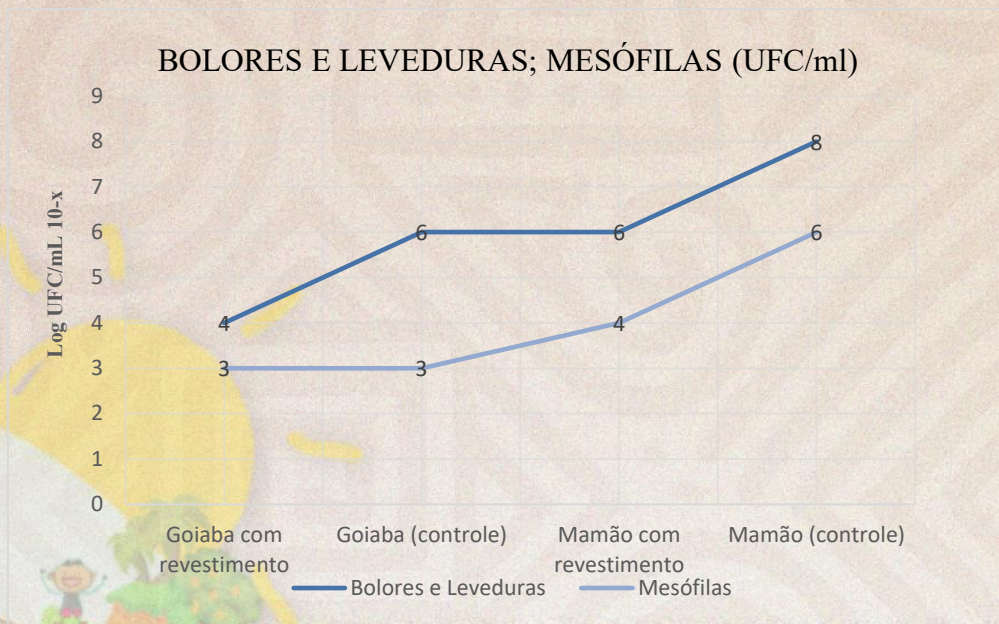


Figura 7 – Análise microbiológica de bolores e leveduras; mesófilas (UFC/ml) dos grupos controle e com aplicação do revestimento no décimo (último) dia de experimento.

No resultado da análise microbiológica de mesófilas, o grupo da goiaba não apresentou diferença significativa; no entanto, no grupo do mamão, os frutos com revestimento obtiveram resultado significativamente melhores do que comparado aos frutos sem o revestimento. Portanto, é notório que o biofilme ativo apresenta resultados positivos para o controle microbiológico, aumentando assim, o tempo de vida útil dos frutos.

4. Conclusão

A extração dos fenólicos, com extrato acetônico acidificado (70:0,5), foi eficaz para o resíduo da película da amêndoa do cacau. Ademais, foi obtida 7% de rendimento de extração de pectina da casca do fruto do cacauzeiro (CC) para a formulação de biofilme ativo, com adição do extrato fenólico da PA. Os resultados sobre as frutas revestidas com o biofilme ativo por 10 dias, mostraram a manutenção da coloração esverdeada e com menor contaminação microbiana do que o controle. Uma menor permeabilidade ao vapor de água, chegando a 90% do grupo controle, permite um maior tempo de vida útil das frutas, corroborando com os resultados de perda de peso e microbiológicos. É notório que os resíduos da cadeia do chocolate amazônico podem ser reaproveitados para elaboração de biofilme ativo com o objetivo do aumento do tempo de vida útil de frutas com alta taxa respiratória no pós-colheita.

5. Agradecimentos

À equipe do CVACBA (Centro de Valorização dos Compostos Bioativos da Amazônia – PCT Guamá) e a UFRA (Universidade Federal Rural da Amazônia) pelo apoio prestado nas análises de laboratório.

6. Referências Bibliográficas

AOAC. **Official Methods of analysis of AOAC International**. 18 ed. Washington: 2023.

CAMPOS-VEGA, R.; NIETO-FIGUEROA, K. H.; OOMAH, B. D. **Cocoa (*Theobroma cacao* L.) pod husk: Renewable source of bioactive compounds**. Trends in Food Science & Technology, 81, p. 172-184, 2018.

Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. Ed.: Salfinger, Y.; Tortorello, M. L. 5th edition: 2015.

DAJAS, F. **Life or death: Neuroprotective and anticancer effects of quercetin**. Journal of Ethnopharmacology, v. 94, n. 2-3, p. 377–383, 2004.

DELCOUR, J. A.; VAREBEKE, D. J. d. A New Colorimetric Assay for Flavonoids in Pilsner Beers. **J. I. Brewing**, p. 4, 1985.

DIAS, M. I. *et al.* **Nutritional and antioxidant contributions of *Cantharellus cibarius* (Agaricomycetes) mushroom: A chemical composition analysis**. International Journal of Medicinal Mushrooms, v. 22, n. 2, p. 153–164, 2020.

FAO, F. **FAOSTAT - Crops and livestock products**. 2022.

GRILLO, G. *et al.* **Cocoa bean shell waste valorisation: Extraction from lab to pilot-scale cavitation reactors**. Food Research International, v. 115, p. 200–208, 2019.

IBGE. **Produção Agropecuária - Produção de Cacau**, 2022.

LICCIARDELLO, F. *et al.* **Rapid assessment of the effectiveness of antioxidant active packaging—Study with grape pomace and olive leaf extracts.** *Food Packaging and Shelf Life*, 6, p. 1-6, 2015.

LÓPEZ DE DICASTILLO *et al.* **Cross-linked methyl cellulose films with murta fruit extract for antioxidant and antimicrobial active food packaging.** *Food Hydrocolloids*, 60, p. 335-344, 2016.

LU, F. *et al.* **Valorisation strategies for cocoa pod husk and its fractions.** *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry*, 14, p. 80-88, 2018.

MELO, V. **Evolução da produção de cacau (*Theobroma cacao*, Malvaceae).** In: LANDAU, E. C.; SILVA, G. A.; MOURA, L. (Orgs.). *Cacau: ciência, tecnologia e inovação*. Brasília, DF: Embrapa, 2017. Cap. 17.

MEREGALLI, M. M. *et al.* **Conventional and ultrasound-assisted methods for extraction of bioactive compounds from red araçá peel (*Psidium cattleianum* Sabine).** *Arabian Journal of Chemistry*, v. 13, n. 6, p. 5800–5809, 2020.

MOTAMAYOR, J. C. *et al.* **Geographic and genetic population differentiation of the Amazonian chocolate tree (*Theobroma cacao* L).** *PLoS One*, 3, n. 10, p. e3311, Oct 1 2008.

NSOR-ATINDANA, John *et al.* **Quantification of total polyphenolic content and antimicrobial activity of cocoa (*Theobroma cacao* L.) bean shells.** *Pakistan Journal of Nutrition*, v. 11, n. 7, p. 574, 2012.

OKSANA, S. *et al.* **Plant phenolic compounds for food, pharmaceutical and cosmetics production.** *Journal of Medicinal Plants Research*, v. 6, n. 13, p. 2526–2539, 2012.

PEREIRA, L. C. L. **Desenvolvimento de filmes ativos antioxidantes de PVA incorporado com extrato do farelo da amêndoa de cacau.** 2017.

PINHEIRO, I. R.; SILVA, R. O. **Reaproveitamento dos Resíduos Sólidos da Indústria Cacaueira.** *Blucher Chem. Eng. Proc*, v. 4, n. 1, p. 95-99, 2017.

QUETTIER-DELEU, C. *et al.* **Phenolic compounds and antioxidant activities of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) hulls and flour.** *J. Ethnopharmacol.*, 72, p. 8, 2000.

Ramos, L.H. *et al.* **Exploitation of Cocoa Pod Residues for the Production of Antioxidants, Polyhydroxyalkanoates, and Ethanol.** *Fermentation* 2023, 9, 843.

ROJO-POVEDA, O. *et al.* **Chemometric classification of cocoa bean shells based on their polyphenolic profile determined by RP-HPLC-PDA analysis and spectrophotometric assays.** *Antioxidants*, v. 10, n. 10, p. 1533, 2021.

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

Rojo-Poveda, O.; Barbosa-Pereira, L.; Zeppa, G.; Stévigny, C. **Cocoa Bean Shell—A By-Product with Nutritional Properties and Biofunctional Potential.** *Nutrients* 2020, 12, 1123.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. **Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents.** *Am. J. Enol. Vitic.*, 16, p. 15, 1965.

SOARES, N. F. F. **Bitterness Reduction in Citrus Juice Through Naringinase Immobilized**

into **Polymer Film**. 1998. Dissertação (Mestrado) -, Cornell University, New York.

SOARES, T. F.; OLIVEIRA, M. **Cocoa By-Products: Characterization of Bioactive Compounds and Beneficial Health Effects**. *Molecules*, 27, n. 5, Mar 1 2022.

SUN, Rui *et al.* **Effect of basil essential oil and beeswax incorporation on the physical, structural, and antibacterial properties of chitosan emulsion based coating for eggs preservation**. *LWT*, v. 150, p. 112020, 2021.

TAROCO, Hosane Aparecida *et al.* **Avaliação da enzima peroxidase e dos compostos fenólicos durante etapas de fermentação de theobroma cacao**. *Avanços em ciência e tecnologia de alimentos-volume 2*, v. 2, n. 1, p. 44-54, 2020.

VÁSQUEZ, Z. S. *et al.* **Biotechnological approaches for cocoa waste management: A review**. *Waste Management*, 90, p. 72-83, 2019.

VRIESMANN, L. C.; TEÓFILO, R. F.; PETKOWICZ, O. **Extraction and characterization of pectin from cacao pod husks (*Theobroma cacao* L.) with citric acid**. *LWT - Food Science and Technology*, 49, n. 1, p. 108-116, 2012.