

OTIMIZAÇÃO DA EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS EM CASCA DE CACAU EM PÓ

Acsa Santos BATISTA^{1*}, Vanessa Lopes dos SANTOS², Leandro Soares SANTOS³

¹Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia; ² Graduanda em Engenharia e Ciência de Alimentos, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia; ³Docente/pesquisador, UESB, DTRA.

*E-mail para contato: acsaeng.alimentos@gmail.com

RESUMO – A casca é o principal subproduto da cadeia produtiva do cacau e por muito tempo foi utilizado somente como fertilizante orgânico para o solo, ingrediente de alimentação animal e substrato para reações químicas. Atualmente este cenário tem mudado por este produto apresentar em sua composição compostos importantes para as indústrias alimentícia, farmacêutica e cosmética, como os compostos bioativos. Objetivou-se otimizar a extração de compostos fenólicos em casca de cacau em pó com diferentes solventes. Foram utilizados água, água acidificada (0,3% de ácido acético), metanol (30%), etanol (30%) e solução extratora (85% de água acidificada 0,3% + 15% de metanol) e uma variação de 1 a 20% de amostra para obtenção dos extratos. Realizou-se um Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR) para determinar o efeito do teor de etanol e tempo de sonicação do extrato. O extrato etanólico com 1% de amostra apresentou o maior teor de compostos fenólicos (41.6898 mg/g) equivalente em ácido gálico. O ponto ótimo obtido no DCCR foi o composto por uma solução etanólica (45%) durante 30 minutos de sonicação. Pode-se concluir que diferentes solventes podem ser utilizados para extrair compostos fenólicos da casca de cacau, porém, o etanol demonstrou maior capacidade extratora desses constituintes.

Palavras-chave: resíduos; composição; compostos bioativos; aplicação.

OPTIMIZATION OF THE EXTRACTION OF PHENOLIC COMPOUNDS FROM COCOA POWDER

ABSTRACT – The shell is the main byproduct of the cocoa production chain and for a long time was used only as organic fertilizer for the soil, ingredient for animal feed and substrate for chemical reactions. Currently this scenario has changed because this product presents in its composition important compounds for the food, pharmaceutical and cosmetic industries, such as bioactive compounds. The aim with this study was to optimize the extraction of phenolic compounds from cocoa powder using different solvents. Water, acidified water (0.3% acetic acid), methanol (30%), ethanol (30%) and extraction solution (85% acidified water 0.3% + 15% methanol) and a variation of 1 to 20% of sample were used to obtain the extracts. A Central Composite Rotational Design (CCRD) was performed to determine the effect of ethanol content and sonication time of the extract. The ethanolic extract with 1% sample had the highest content of phenolic compounds (41.6898 mg/g) equivalent in gallic acid. The optimum point obtained in the CCRD was the one composed of ethanolic solution (45%) for 30 minutes of sonication. It can be concluded that different solvents can be used to extract phenolic compounds from cocoa shell, however, ethanol showed higher extraction capacity of these

constituents.

Keywords: residues; composition; bioactive compounds; application.

1. INTRODUÇÃO

Os derivados do cacau são insumos importantes para a indústria de alimentos, pois, os produtos alimentícios com sabor de chocolate estão entre os mais preferidos pelos consumidores, além de serem muito utilizados na formulação de grande parte dos produtos alimentícios. Relatou-se nas últimas décadas, a crescente demanda desses produtos (Okiyama *et al.*, 2017).

A casca é o principal subproduto da cadeia produtiva do cacau e por muito tempo foi utilizado somente como fertilizante orgânico para o solo, ingrediente de alimentação animal e como substrato para reações químicas (Hernández-Hernández *et al.*, 2021; Nguyen *et al.*, 2021).

No entanto, a valorização e aplicação da casca do cacau tem mudado devido a comprovação da presença de compostos importantes para as indústrias alimentícia, farmacêutica e cosmética em sua composição, além de ser um indicativo de qualidade da amêndoa, uma vez que a casca é exposta a fatores externos que permitem o aparecimento de contaminantes indesejáveis (Nguyen *et al.*, 2021; Okiyama *et al.*, 2017).

De acordo com a estimativa da produção mundial da casca de cacau em 2018, a produção ficaria em torno de 4.200.000 toneladas (Hernández-Hernández *et al.*, 2021) e sabendo que a casca do cacau (CC) representa cerca de 12-20% da semente do cacau, fica evidente que a produção deste subproduto é considerável.

A casca do cacau possui uma composição variável, assim como a semente do cacau. Dependendo das condições de clima, variedade e processamento. A sua composição química tem sido relatada na literatura, mostrando os teores significativos de proteínas, variando de 11 a 18%, e de lipídios, com valores altamente variáveis de 2 a 18,5%, além dos compostos bioativos como o grupo dos fenólicos que potencializam o valor nutricional dos alimentos além de promoverem benefícios à saúde (Campos-Vega *et al.*, 2018; Hernández-Hernández *et al.*, 2018).

Os compostos bioativos são constituintes produzidos a partir do metabolismo secundário das células vegetais e estão presentes em pequenas quantidades nos alimentos, e são intensamente estudados principalmente por promoverem benefícios à saúde que vão além do valor nutricional dos alimentos (Campos-Vega *et al.*, 2018; Hernández-Hernández *et al.*, 2018).

A extração de compostos bioativos das diversas matrizes alimentares tradicionalmente é realizada por processo semelhante, por meio de um processo de moagem e posterior extração com solventes orgânicos com ou sem temperatura elevada (Enriquez-Ochoa *et al.*, 2020; Guo *et al.*, 2013). E a depender das condições de extração pode-se obter diferentes resultados, que são influenciados pela afinidade e capacidade de extração dos solventes.

Sabendo que a casca do cacau apresenta uma quantidade significativa de compostos bioativos, objetivou-se com este trabalho realizar a otimização da extração de compostos fenólicos de casca de cacau em pó com diferentes solventes.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Otimização do extrato

A casca de cacau foi triturada (Cuisinart, DCG 20bknbrb, Brasil) e a granulometria foi padronizada para 20 mesh. A amostra foi pesada em tubo de centrifuga e adicionado 5 mL do

solvente (água, água acidificada 0,3% de ácido acético, metanol, etanol e solução extratora - 85% de água acidificada 0,3% e 15% de metanol). A mistura foi mantida sob agitação no banho ultrassônico (Sanders medical, SoniClean 6, Brasil) por 15 minutos. Em seguida, os tubos foram colocados em banho termostático (Tecnal, Te-2005, Piracicaba, Brasil) a 60 °C por 10 minutos e centrifugados (Hettich- Universal 320 R, Nova Analítica, São Paulo, Brasil) a 3000g por 15 minutos para separação.

2.2 Compostos Fenólicos Totais (CFT)

A determinação de compostos fenólicos totais foi realizada utilizando-se o Folin-Ciocalteu como reagente e tendo o ácido gálico como padrão para obtenção da curva de calibração (Lopes *et al.*, 2022). As absorvâncias foram medidas em um espectrofotômetro (Marca Schimadzu Modelo UV-1800, Japan) a 750 nm. A quantidade de constituintes fenólicos totais foi expressa como equivalente de ácido gálico (mg de eq. ácido gálico. g de casca de cacau em pó⁻¹).

2.3 Análise estatística

Os resultados obtidos pela análise do item 2.2 foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA), e quando significativo foi realizado o teste Tukey, utilizando o programa estatístico Statistical Analysis System (SAS)® Studio com significância de ($p < 0,05$).

2.4 Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR)

O efeito da aplicação de diferentes tempos - minutos de sonicação (X1) e teor de etanol (X2) foi estudado através de um DCCR 2², contendo 4 ensaios, 4 pontos centrais e 4 pontos axiais, totalizando 12 experimentos. Sendo realizado utilizando o programa estatístico Statistical Analysis System (SAS)® Studio. O gráfico de superfície de resposta foi obtido utilizando o software SigmaPlot®. A Tabela 1, apresenta o delineamento adotado.

Tabela 1. Planejamento experimental para a produção do extrato de casca de cacau em pó.

Variáveis Codificadas		Variáveis reais	
X1	X2	Tempo (min)	Etanol (%)
-1	-1	10	30
-1	1	10	70
1	-1	30	30
1	1	30	70
1.41	0	34.1	50
-1.41	0	5.9	50
0	-1.41	20	21.8
0	1.41	20	78.2
0	0	20	50
0	0	20	50
0	0	20	50
0	0	20	50

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com os resultados de Constituintes Fenólicos Totais (Tabela 2) dos testes realizados para avaliar a quantidade de amostra e tipo de solvente, foi escolhido o etanol e 1% de amostra no extrato para as posteriores avaliações. O resultado aponta que utilizando 1% da casca com o etanol obteve-se uma maior quantidade de fenólicos extraída, diferindo estatisticamente dos demais tratamentos, tanto entre as porcentagens de casca quanto com os demais solventes na mesma quantidade de amostra.

Observou-se uma redução do teor de compostos fenólicos com o aumento da quantidade de amostra. Isto pode ser explicado pela saturação do extrato, sendo necessário utilizar um maior volume de solvente para conseguir envolver todas as partículas do pó e extrair a maior quantidade possível dos compostos da amostra.

Do ponto de vista quantitativo, a solução extratora demonstrou pelo teste de médias, ser uma melhor alternativa quando comparado a água e água acidificada. Isso pode ser explicado pela potencialização do metanol na extração dos compostos. Do ponto de vista econômico e atóxico a água e água acidificada apresentariam vantagens para extração dos compostos fenólicos para posteriores aplicações industriais.

Tabela 2. Dados da análise de Constituintes fenólicos totais dos extratos de casca de cacau.

Amostra	Constituintes Fenólicos Totais (mg/g)				
	Água	Ac. Acético (0.3%)	Metanol (30%)	Etanol (30%)	Sol. Extratora
1%	26.8627 ^{aD}	25.7600 ^{aD}	35.9696 ^{aB}	41.6898 ^{aA}	28.0831 ^{aC}
2%	22.6375 ^{bC}	21.6060 ^{bD}	36.3686 ^{aA}	32.9457 ^{bB}	22.7125 ^{bC}
4%	19.2454 ^{cC}	20.3026 ^{cC}	26.3954 ^{cA}	24.2436 ^{cB}	-
6%	16.4961 ^{dC}	16.1698 ^{dC}	26.4634 ^{bcA}	24.8776 ^{cB}	-
8%	14.8461 ^{eC}	14.7672 ^{eC}	27.6350 ^{bA}	21.7387 ^{dB}	-
10%	13.3951 ^{fC}	13.3084 ^{fC}	24.8882 ^{dA}	18.8416 ^{eB}	-
15%	14.5574 ^{efB}	14.8484 ^{eA}	11.3662 ^{eC}	11.4308 ^{fC}	-
20%	12.0624 ^{gB}	11.5521 ^{gB}	24.1298 ^{dA}	23.9417 ^{cA}	-

Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna (comparação entre porcentagem de amostra) e da mesma letra maiúscula na linha (comparação entre os solventes) não diferem significativamente a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Os valores obtidos para fenólicos totais nos extratos com água, água acidificada (0,3% ácido acético), metanol (30%), etanol (30%) e solução extratora variaram entre 12,062 - 26,862, 11,552 - 25,760, 11,366 - 36,368, 11,430 - 41,689 e 22,71 - 28,083, respectivamente. Estes valores estão muito superiores ao encontrado por Martínez *et al.* (2012) que apresentaram CFT expresso em ácido gálico equivalente, variando entre 3,526 a 3,653 mg/g na extração feita com metanol:acetona e 2,066 a 2,270 mg/g na extração feita com etanol. Essas variações podem ser explicadas pela composição das cascas, pois foram de locais distintos, bem como o tipo do solvente utilizado. Já Rachmawaty *et al.* (2018) extraíram compostos fenólicos de casca de cacau e apresentaram um valor superior ao encontrado no presente estudo com acetona (70%) de 94,92 mg/g e valor semelhante para o extrato com etanol (70%) com 49,92 mg/g. Mudenuiti *et al.* (2021) avaliaram a composição fenólica de extrato de casca de cacau em acetona 70% e encontrou um teor de 49,8 mg/g, sendo este resultado semelhante ao encontrado no presente estudo no extrato etanólico (30%).

A partir da metodologia escolhida (1% de casca de cacau em pó e o solvente etanol) foi realizado o DCCR para avaliar o efeito do teor de etanol na extração de compostos bioativos

na casca de cacau. O DCCR com 5 tempos de sonicação e 5 concentrações de etanol teve como resposta o teor de compostos fenólicos totais. E o ponto ótimo foi obtido (Figura 1) com 45% de etanol e 30 minutos de sonicação.

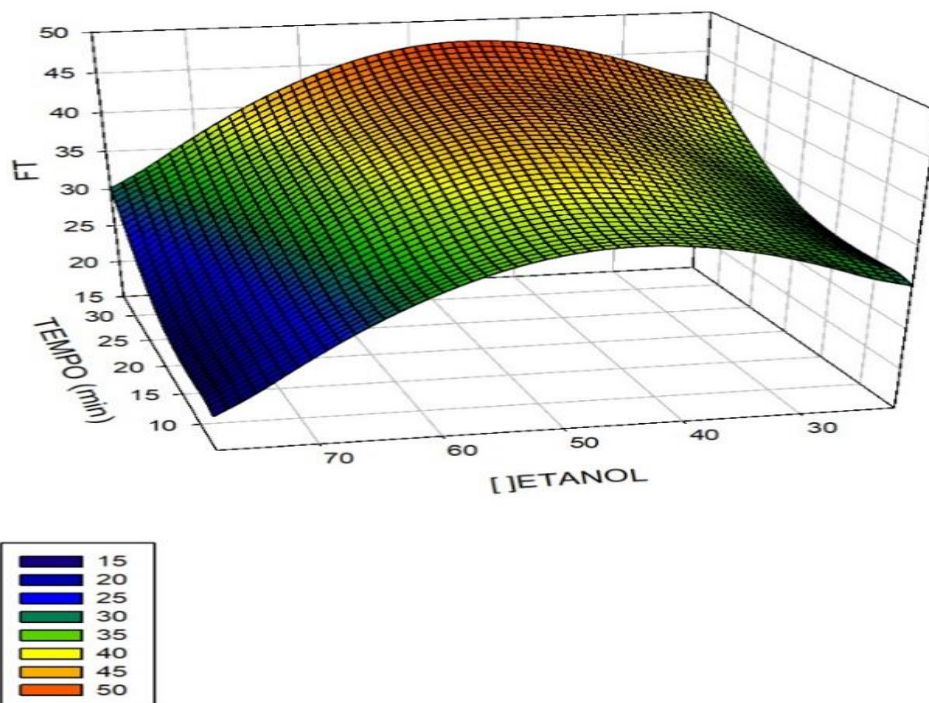


Figura 1. Efeito do tempo de sonicação (min) e teor de etanol no teor de constituintes fenólicos na casca do cacau em pó.

4. CONCLUSÃO

Pode-se concluir que diferentes solventes podem ser utilizados para extrair compostos fenólicos da casca de cacau, porém, o etanol demonstrou maior capacidade extratora desses constituintes. A menor quantidade de amostra testada apresentou maior teor de compostos fenólicos no etanol (30%) sendo o tratamento escolhido para realização do delineamento. Este resultado mostra que não há necessidade de muita amostra para quantificar esses compostos bioativos e que para mais massa de amostra é necessário um maior volume da solução extratora. De acordo com o delineamento realizado, o ponto ótimo de extração foi o composto por uma solução etanólica (45%) durante 30 minutos de sonicação. Os autores sugerem a realização de estudos posteriores para avaliar os constituintes individuais e a sua estabilidade frente aos solventes utilizados na extração.

5. AGRADECIMENTOS

À fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB) pelo financiamento dessa pesquisa.

6. REFERÊNCIAS

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 and Technology*, v. 81, p. 172–184, 2018.

ENRIQUEZ-OCHOA D., SÁNCHEZ-TRASVIÑA C., HERNÁNDEZ-SEDAS B., MAYOLO-DELOISA K., ZAVALA J., RITO-PALOMARES M., & VALDEZ-GARCÍA J. E. Aqueous two-phase extraction of phenolic compounds from *Sedum dendroideum* with antioxidant activity and anti-proliferative properties against breast cancer cells. *Separation and Purification Technology*, v. 251, p. 117341, 2020.

GUO Y.X., HAN J., ZHANG D.Y., WANG L.H., & ZHOU L.L. Aqueous two-phase system coupled with ultrasound for the extraction of lignans from seeds of *Schisandra chinensis* (turcz.) Baill. *Ultrasonics Sonochemistry*, v. 20, n. 1, p. 125–132, 2013.

HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ C., FERNÁNDEZ-CABANÁS V.M., RODRÍGUEZ-GUTIÉRREZ G., BERMÚDEZ-ORIA A., & MORALES-SILLERO A. Viability of near infrared spectroscopy for a rapid analysis of the bioactive compounds in intact cocoa bean husk. *Food Control*, v. 120, 2021.

HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ C., VIERA-ALCAIDE I., MORALES-SILLERO A.M., FERNÁNDEZ-BOLAÑOS J., & RODRÍGUEZ-GUTIÉRREZ G. Bioactive compounds in Mexican genotypes of cocoa cotyledon and husk. *Food Chemistry*, v. 240, p. 831–839, 2018.

LOPES J., LIMA A.B.S., RIBEIRO R., SANTOS L. S., VIANA M., PASSINI S.P.F. Application of spectroscopic techniques and chemometric methods to differentiate between true cinnamon and false cinnamon, v. 368, 2022.

MARTÍNEZ R., TORRES P., MENESES M.A., FIGUEROA J.G., PÉREZ-ÁLVAREZ J.A., & VIUDA-MARTOS M. Chemical, technological and in vitro antioxidant properties of cocoa (*Theobroma cacao* L.) co-products. *Food Research International*, v. 49, n. 1, p. 39–45, 2012.

MUDENUTI N.V.R., DE CAMARGO A.C., DE ALENCAR S.M., DANIELSKI R., SHAHIDI F., MADEIRA T.B., HIROOKA E.Y., SPINOSA W.A., & GROSSMANN M.V.E. Phenolics and alkaloids of raw cocoa nibs and husk: The role of soluble and insoluble-bound antioxidants. *Food Bioscience*, v. 42, p. 101085, 2021.

NGUYEN V.T., TRAN A.X., & LE V.A.T. Microencapsulation of phenolic-enriched extract from cocoa pod husk (*Theobroma cacao* L.). *Powder Technology*, v. 386, p. 136–143, 2021.

OKIYAMA D.C.G., NAVARRO S.L.B., & RODRIGUES C.E.C. Cocoa shell and its compounds: Applications in the food industry. *Trends in Food Science and Technology*, v. 63, p. 103–112, 2017.

RACHMAWATY, MU'NISA A., HASRI, PAGARRA H., HARTATI, & MAULANA Z. Active Compounds Extraction of Cocoa Pod Husk (*Theobroma Cacao* l.) and Potential as Fungicides. *Journal of Physics: Conference Series*, v. 1028, n. 1, 2018.