

Subprodutos da incubação ácida de sementes de cacau danificadas por doenças: caracterização inicial

Palavras-Chave: Cacau; vassoura-de-bruxa; podridão parda; Caracterização

Autores(as):

Caio Roberto Olivieri Gonzalez, FEA – UNICAMP Prof^a. Dr^a. Priscilla Efraim (orientadora), FEA – UNICAMP Taís Letícia de Oliveira Santos (co-orientadora), FEA – UNICAMP

INTRODUÇÃO

Segundo o IBGE, Instituto Brasileiro de de Geografia e Estatística, a produção de cacau chegou a mais de 270 mil toneladas no ano de 2022, sendo considerado o sétimo maior produtor mundial, movimentando um valor de 3,4 bilhões de reais nesse período, se provando um produto importante para a economia do país.

As doenças que podem afetar o plantio do cacau, geram uma grande preocupação, por diminuírem a produtividade e causar grandes impactos econômicos, já que o cacaueiro (Theobroma cacao) são suscetíveis a várias delas, como a vassoura-de-bruxa a (*Moniliophthora perniciosa*), monilíase (*Moniliophthora roreri*) e a podridão-parda (Phytophthora spp.), as perdas na produção de cacau são estimadas em quase 30% devido à vassoura de bruxa (SANTOS, 2010; VALENTE, 2024).

Os frutos danificados já são utilizados como um produto de baixo valor, sendo vendidos secos para processadoras, essas, por sua vez, não tem como saber o percentual desse material que foi misturado ao saudável. O objetivo deste trabalho é encontrar novas formas para aproveitar esse material, entendendo se a incubação em meio ácido pode contribuir para a melhora da qualidade desses frutos.

METODOLOGIA

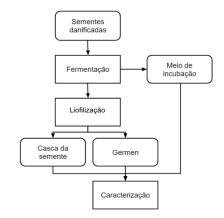
a) Preparo das amostras

Os frutos de cacaueiro utilizados no estudo foram fornecidos pela fazenda Agrícola Conduru localizada em Itabuna - BA. Os frutos foram separados em quatro grupos, sendo eles: saudáveis (S), com baixo ou possível dano por doenças (Bd), com grau médio de dano por doenças (Md) e com alto grau de dano e podridão (Ad).

O processamento foi feito na Faculdade de Engenharia de Alimentos - Unicamp, seguindo as etapas apresentadas na Figura 1. Os frutos foram quebrados e as sementes extraídas e congeladas a

-18°C até o uso. Para a realização dos experimentos de incubação, as sementes de cacau foram imersas em uma solução contendo ácido acético (0,15 mol/L) e etanol (5%), em seguida foram

incubadas em temperatura de 50 °C sob agitação mecânica (180 rpm) por 5 dias (Santos, 2025). O meio de incubação foi coletado também após a incubação ácida e armazenado em recipiente plástico e refrigerado. Parte das amostras foram liofilizadas para a realização das análises dos teores de compostos fenólicos totais, lipídios e nitrogênio total, além da capacidade antioxidante.



b) Caracterização físico-química

Os métodos a seguir foram realizados de acordo com AOAC (2016). O pH foi determinado com um pHmetro (Gehaka, PG2000) de acordo com o método 970.21. A condutividade de todas as amostras foi medida usando condutivímetro digital (Ms Tecnopon, mCA 150) nas

Figura 1- Fluxograma das etapas que serão realizadas para gerar as amostras que serão analisadas no projeto

mesmas condições da determinação do pH. A acidez foi determinada de acordo com o método 942.15 por titulação com NaOH (0,1N). A umidade foi determinada nas sementes de acordo com o método 931.04. O teor de proteínas (nitrogênio total) foi determinado nos cotilédones, cascas e meio liofilizados de acordo com o método 960.52, com fator de correção para os cálculos de 6,25. A capacidade antioxidante foi determinada de acordo com o comunicado técnico n° 216 da Embrapa (Polez, 2023).

c) Análises microbiológicas

As análises microbiológicas foram realizadas nas amostras S e Md tanto para as sementes quanto para os meios de incubação para compreender se houve crescimento microbiano durante a incubação ácida. Foram quantificados microrganismos aeróbios mesófilos, fungos totais e bactérias láticas (ISO 15214, 1998; RYU, 2015; SILVA, 2017; RYSER, 2015).

d) Análises estatísticas

As diferenças estatisticamente significativas foram determinadas por ANOVA, seguidas pelo teste de Tukey (P<0,05). As análises foram realizadas utilizando o software jamovi (JAMOVI, 2024; R CORE TEAM, 2024; FOX, 2023)

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas Tabelas 1 a 4 são apresentados os resultados das determinações analíticas realizadas, separadas entre a semente e o meio de incubação investigados.

Tabela 1. pH, Condutividade e acidez de sementes de cacau e do meio de incubação usado.

Semente					
Amostra	рН	Condutividade (mS/cma)	Acidez (mEq NaOH/100 g)		
S	4,64 ± 0,06 A	3,18 ± 0,24 A	0,5733 ± 0,1002 A		
Bd	$4,66 \pm 0,04 A$	$3,33 \pm 0,22 \text{ A}$	0,5167 ± 0,0651 A		
Md	4,46 ± 0,05 B	2,60 ± 0,10 B	0,5600 ± 0,0346 A		
Ad	4,94 ± 0,10 C	4,21 ± 0,19 C	0,3300 ± 0,0400 B		

Meio de incubação Condutividade Acidez (mEq NaOH/100 Amostra pН (mS/cma) mL) S $4,19 \pm 0,03 A$ $2,73 \pm 0,14 A$ $0,6567 \pm 0,0252 A$ Bd $4,16 \pm 0,02 A$ $2,73 \pm 0,07 A$ $0,6633 \pm 0,0379 A$ Md $4,28 \pm 0,04 B$ $3,11 \pm 0,21 A$ 0,5433 ± 0,0416 B Ad $4,72 \pm 0,07$ C $6,29 \pm 0,42 B$ $0,5100 \pm 0,0500 B$

Na Tabela, S - Amostra de cacau saudável; Bd - Amostra de cacau com baixo dano; Md - Amostra de cacau com médio dano; Ad - Amostra de cacau com alto dano. Letras iguais em uma mesma coluna indicam não haver diferença significativa ao nível de 5% de significância (Teste de Tukey)

Tabela 2. Umidade e cinzas de sementes de cacau e do meio de incubação usado.

Semente				
Amostra	Teor de umidade (g /100 g)	Cinzas (g / 100 g - b.s.)		
S	67,1 ± 2,5 A	2,07 ± 0,27 A		
Bd	62,1± 1,4 A	$1,90 \pm 0,22 \text{ A}$		
Md	82,5 ± 9,5 B	$2,89 \pm 0,99 \text{ A}$		
Ad	$78.0 \pm 0.9 \; B$	$3.82 \pm 0.27 \; B$		
Meio de incubação				
Amostra	Teor de umidade (g /100 g)	Cinzas base seca (g / 100 g - b.s.)		
S	96,4 ± 0,1 A	9,89 ± 2,45 A		
Bd	96,3 ± 0,1 A	8,14 ± 0,90 A		
Md	98,6 ± 0,3 B	19,26 ± 4,76 B		
Ad	97,6 ± 0,1 C	20,41 ± 7,01 B		

Na Tabela, S - Amostra de cacau saudável; Bd - Amostra de cacau com baixo dano; Md - Amostra de cacau com médio dano; Ad - Amostra de cacau com alto dano. B.s.: Base seca. Letras iguais em uma mesma coluna indicam não haver diferença significativa ao nível de 5% de significância (Teste de Tukey)

As amostras com maior dano (Md e Ad) apresentaram um maior teor de umidade e de cinzas, o que implica em um menor teor de compostos orgânicos, demonstrando subdesenvolvimento em

relação às amostras saudáveis ou com baixo dano (Sd e B) e/ou um consumo desses compostos pelos microrganismos patógenos a planta.

Tabela 3. Análises microbiológicas de sementes de cacau e do meio de incubação usado.

Sementes				
Amostra	Aeróbios Mesófilos UFC/g	Fungos Totais UFC/g	Bactérias Láticas UFC/g	
S	$3,0 \times 10^{1}$	< 10	< 10	
Md	$3,8 \times 10^{2}$	< 10	$1,3 \times 10^{2}$	
Meio de incubação				
Amostra	Aeróbios Mesófilos UFC/g	Fungos Totais UFC/g	Bactérias Láticas UFC/g	
S	10	< 10	< 1	
Md	1.3×10^{2}	< 10	6.8×10^{1}	

[.]Na Tabela, S - Amostra de cacau saudável; Md - Amostra de cacau com médio dano. Letras iguais em uma mesma coluna indicam não haver diferença significativa ao nível de 5% de significância (Teste de Tukey)

Há uma maior presença de microrganismos na amostra Md, porém somente de aeróbios mesófilos e de bactérias láticas, sendo um indício de que as defesas para esses tipos de microrganismos nas sementes afetadas não são tão eficazes quanto na sementes saudáveis (S). A quantidade de fungos totais é baixa na amostra Md, podendo significar que ou as sementes não possuíam uma quantidade significativa de fungos que possivelmente causaram a doença na planta, ou que eles não sobreviveram ao processo de incubação. A análise microbiológica do material fresco poderia dar um melhor panorama sobre esse comportamento.

Tabela 4. Teor de proteínas e capacidade antioxidante do cotilédone e casca da semente e meio de incubação liofilizados.

Cotilédone				
Amostra	Teor de proteínas (g /100 g - b.s.)	Capacidade antioxidante (µmol Trolox/g)		
S	14,77 ± 0,23 A	28,86 ± 2,37 A		
Bd	16,05 ± 0,28 A	35,40 ± 2,13 B		
Md	17,82 ± 0,38 B	19,54 ± 0,55 C		
Ad	20,69 ± 0,08 C	30,96 ± 4,72 A		
Casca				
Amostra	Teor de proteínas (g /100 g - b.s.)	Capacidade antioxidante (µmol Trolox/g)		
S	14,69 ± 0,52 A	31,30 ± 2,10 A		
Bd	15,12 ± 0,17 A	15,44 ± 0,68 B		
Md	14,96 ± 0,25 A	14,05 ± 0,06 C		
Ad	16,72 ± 0,14 B	29,13 ± 3,24 A		
	Meio de incubação			
Amostra	Teor de proteínas (g /100 g - b.s.)	Capacidade antioxidante (µmol Trolox/g)		
S	13,91 ± 0,47 A	32,66 ± 1,85 A		
Bd	14,42 ± 0,21 A	17,75 ± 1,57 B		

Md	15,69 ± 0,96 B	14,48 ± 1,85 B
Ad	17.45 ± 0.51 C	16.97 ± 0.37 B

Na Tabela, S - Amostra de cacau saudável; Bd - Amostra de cacau com baixo dano; Md - Amostra de cacau com médio dano; Ad - Amostra de cacau com alto dano. Letras iguais em uma mesma coluna indicam não haver diferença significativa ao nível de 5% de significância (Teste de Tukey)

As sementes saudáveis apresentaram maior capacidade antioxidante, a qual decaiu conforme a progressão do nível de dano, comportamento que mudou nas amostras Ad, possivelmente indicando um aumento da resposta ao estresse biótico em etapas mais avançadas de deterioração. O teor de proteínas é maior conforme aumenta o nível de dano. Comparando somente os cotilédones liofilizados das amostras S e Ad há um aumento de aproximadamente 40%. Um estudo mais aprofundado sobre o perfil dessas proteínas pode propiciar informações que favoreçam um possível uso.

CONCLUSÕES

O estudo mostra diferenças significativas nas características das sementes e meio de incubação em função do grau de dano nas sementes. A amostra Bd mostrou similaridades com a S, indicando que menor intensidade de dano pode não causar grandes diferenças na composição e qualidade dos materiais obtidos. As amostras com maior grau de dano (Md e Ad) demonstraram maior diferença em relação à amostra saudável. Esse estudo preliminar demonstra pontos que podem ser aprofundados sobre essas diferenças, como um estudo aprofundado sobre o perfil protéico dos materiais danificados que pode sugerir novas aplicações para esse material.

BIBLIOGRAFIA

AOAC, in Dr. George W Latimer, Jr. (ed.), **Official Methods of Analysis of AOAC** INTERNATIONAL, 22 (New York, 2023; online edn, AOAC Publications, 4 Jan. 2023), Official Methods 970.21, 942.15, 972.15, 931.04, 960.52

DAND, R. History and origins of the international cocoa trade. 2011.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Levantamento sistemático da produção agrícola. 2022.

POLEZ, V. L. P.; DANTAS, K. C. de S.; DUARTE, A. de O.; MAGARELLI, G.; SILVA, L. P. da. **Método de avaliação antioxidante de material vegetal por DPPH em microplaca e controle de qualidade.** Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF, n. 216, p. 1-16, out. 2023. (Comunicado Técnico, 216).

SANTOS, T.L.O. Cacao's diseases, intelligent systems, and fermentation-like incubation of damaged seeds, 2025.

SANTOS, R. M.; LEMOS, L. S. L.; JUCA, F. F.; DOS SANTOS, M. V. O.; KRUSCHEWSKY, M. C.; GANEM, R. S.; GRAMACHO, K. P. Obtenção de produtos de PCR dos principais fungos causadores de doenças no cacaueiro visando estudos filogenéticos e taxonômicos. 2010.

JAMOVI; The jamovi project. (Version 2.6) [Computer Software]. 2024.

 $R\ CORE\ TEAM.\ \textbf{R: A Language and environment for statistical computing.}\ (Version\ 4.4)\ [Computer\ software].\ 2024.$

FOX, J., ; WEISBERG, S. car: Companion to Applied Regression. [R package]. 2023

RYSER, E.T. & SCHUMAN, J.D. **Mesophilic Aerobic Plate Count**. In SALFINGER, Y & TORTORELLO, M.L. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 5th, American Public Health Association, Washington, D.C., 2015.

ISO 15214:1998. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the enumeration of mesophilic lactic acid bacteria – Colony-count technique at 30°C, 1st ed. The International Organization for Standartization, 1998

RYU, D. & WOLF-HALL, C. Yeast and Molds. In SALFINGER, Y & TORTORELLO, M.L. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 5 th ed., American Public Health Association, Washington, D.C., 2015.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; GOMES, R. A.R; OKAZAKI, M.M. Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água. 5a ed. São Paulo: Livraria Varela, 2017

VALENTE, D. R. et al. Manejo integrado da vassoura de bruxa do cacaueiro: uma revisão. Anais do INIC 2024