

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

ALLINE DA SILVA LIMA DE SOUZA

**AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE TÉRMICA E OXIDATIVA DE CHOCOLATES
AMARGOS**

**João Pessoa
2010**

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

ALLINE DA SILVA LIMA DE SOUZA

**AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE TÉRMICA E OXIDATIVA DE CHOCOLATES
AMARGOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos do Centro de Tecnologia da Universidade Federal da Paraíba em cumprimento às exigências para obtenção ao grau de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos, com área de concentração em Química e Bioquímica de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Antonio Gouveia de Souza.

**João Pessoa
2010**

S729a Souza, Alline da Silva Lima de.

**Avaliação da estabilidade térmica e oxidativa de chocolates amargos /
Alline da Silva Lima de Souza. - - João Pessoa: [s.n.], 2010.**

109 f. : il.

Orientador: Antonio Gouveia de Souza.

Dissertação (Mestrado) – UFPB/CT.

1. Tecnologia de alimentos. 2. Chocolate 3. Estabilidade termo-oxidativa. 4. Doenças cardiovasculares. 5. Preferência sensorial.

UFPB/BC

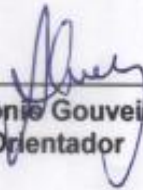
CDU: 664(043)

ALLINE DA SILVA LIMA DE SOUZA

**AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE TÉRMICA E OXIDATIVA DE CHOCOLATES
AMARGOS**

Dissertação aprovada em 14 / 09 / 2010

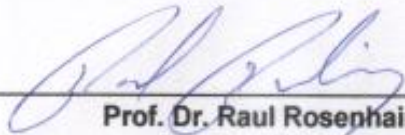
Banca Examinadora



Prof. Dr. Antônio Gouveia de Souza
Orientador



Prof. Dr. Ricardo Targino Moreira
Membro Interno



Prof. Dr. Raul Rosephaim
Membro Externo

João Pessoa – PB
2010

A Deus, por mais esta vitória.

***A Bruno e a meus pais Enio e Marlene pelo amor,
incentivo e apoio em todos os momentos.***

Dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus, que me concedeu mais um sonho realizado.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Antônio Gouveia de Souza, por ter aceitado me orientar, por sua confiança, apoio e disponibilidade em todas as etapas deste curso.

A Bruno, pelo seu amor e pelas orações, que me renovaram as forças e por sua paciência comigo durante todo esse período de estudo.

Aos meus pais, Enio e Marlene, agradeço pelo amor incondicional, dedicação, preocupação, oração, apoio e incentivo.

Aos meus irmãos amados, Pedro Henrique e Anna Luíza pelo amor, companheirismo, alegrias compartilhadas e por tudo que representam para mim.

A minha família como um todo, em especial, a D. Analete, agradeço por toda palavra de ânimo, muito importantes para que eu não desanimasse.

Ao Prof. Dr. Ricardo Targino Moreira e ao prof. Dr. Raul Rosenhaim pelas preciosas contribuições.

Ao Prof. MSc. Alexandre Schuler e a Prof^a. Dr^a. Temilce Simões, pelas análises de cromatografia realizadas na Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) e pelas análises de atividade antioxidante, realizada no Laboratório de Tecnologia Farmacêutica (LTF).

Aos anjos que Deus colocou no meu caminho: Gilvandro, Raul, Evaneide, Prof. Dra. Iêda Garcia, Elieidy e Eduardo, por todo apoio e paciência em tirar minhas dúvidas, e em especial a Eduardo que me auxiliou na análise estatística dos dados.

A Universidade Federal da Paraíba (UFPB), em especial ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela oportunidade concedida para a realização do Mestrado.

A minha amiga Poliana, que me passou sua experiência e que nesses oito anos de amizade, esteve presente em mais uma das minhas conquistas.

A todos os colegas de mestrado e do LACOM pela união e amizade construída, em especial a Ingrid, por sua amizade e exemplo de vida, a Katharina e Anna Débora, pela ajuda nas análises e pela interpretação dos dados e aos meus mais novos amigos Cristiano, Jaqueline, Alony e D. Lourdinha, por todo apoio.

A CAPES pelas bolsas concedidas.

A todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para que eu chegasse até aqui: muito obrigada.

RESUMO

SOUZA, A. S. L. *Avaliação da estabilidade térmica e oxidativa de chocolates amargos*. João Pessoa, 2010. 110f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal da Paraíba.

O chocolate amargo tem apresentado crescente consumo devido a sua composição nutricional e às suas características funcionais, ocasionados pela presença de substâncias bioativas, benéficas à saúde, principalmente por sua capacidade antioxidante, que reduzem a incidência de patologias crônico- degenerativas, em especial as doenças cardiovasculares. Os benefícios do chocolate amargo são provenientes da manteiga de cacau, principal matéria prima do chocolate, rica em ácidos graxos saturados e da alta concentração de sólidos de cacau, que contém altos teores de flavonóides, minerais, metilxantinas e amins bioativas. No entanto, mesmo apresentando todas essas características funcionais, a indústria do chocolate, na tentativa de reduzir os custos de produção, têm substituído total ou parcialmente ingredientes do chocolate, como por exemplo, a manteiga de cacau, para o acréscimo de outros tipos de gordura, que podem promover a descaracterização das propriedades sensoriais, bem como, a redução do seu valor nutricional e funcional. Diante dessa realidade, pesquisas científicas têm sido realizadas para analisar o comportamento termo-oxidativo dos chocolates amargos, que conjuntamente com outras técnicas, possibilitam a análise completa da composição química, da qualidade da amostra e a identificação das variáveis que afetam as propriedades do chocolate. Para comparar e caracterizar chocolates comerciais foram realizados testes físico-químicos, térmicos e sensoriais com as amostras de chocolates amargos, com 70% de sólidos de cacau, avaliando seu valor nutricional, sua estabilidade termo-oxidativa e características funcionais. Após análises foi constatado que a marca comercial A se destacou como o produto mais saudável, por seu perfil lipídico, alto teor de minerais, fenólicos e atividade antioxidante satisfatória. A marca B se destacou pelo alto teor de fenólicos totais e boa atividade antioxidante. Sua composição química e de minerais foi semelhante ao da marca A, com exceção do teor de lipídios, que possuía em sua maioria, ácidos graxos saturados. A marca C teve o maior índice de carboidratos e de ácido palmítico, menor teor de minerais em relação às outras marcas de chocolate amargo, além da baixa concentração de fenólicos totais e atividade anti-radicalar. Todos os chocolates amargos analisados apresentaram aceitação superior a 70% em todos os atributos analisados, demonstrando uma homogeneidade das formulações dos produtos dos diferentes fabricantes, não havendo diferença significativa quanto à preferência das diferentes marcas comerciais de chocolate.

Palavras-chave: chocolate, doenças cardiovasculares, estabilidade termo-oxidativa, preferência sensorial.

ABSTRACT

SOUZA, A. S. L. *Evaluation of thermal and oxidative stability of dark chocolates.* Joao Pessoa, 2010. 110f. Dissertation (Master Degree in Food Science and Technology), Universidade Federal da Paraíba.

The dark chocolate has shown increased consumption due to their nutritional and functional characteristics, caused by the presence of bioactive substances, health benefits, mainly for its antioxidant capacity, which reduces the incidence of chronic degenerative diseases, particularly cardiovascular disease. The benefits of chocolate come from cocoa butter, the main raw material of chocolate, rich in saturated fatty acids and high concentration of cocoa solids, which contains high levels of flavonoids, minerals, methylxanthines and bioactive amines. However, even with all these functionalities, the chocolate industry in an attempt to reduce production costs, have replaced all or part of the chocolate ingredients, such as cocoa butter, to an increase in other types of fat, that can promote a distortion of sensory properties, as well as to reduce its nutritional value and functional. Given this reality, scientific research has been conducted to analyze the thermo-oxidative behavior of dark chocolates which together with other techniques, provide a complete analysis of the chemical composition, quality of the sample and the identification of variables affecting the properties of chocolate. To compare and characterize commercial chocolates tests were made physical chemistry, thermal and sensory tests with the samples of dark chocolates which contain 70% cocoa solids, evaluating their nutritional value, its thermo-oxidative stability and functional characteristics. After analysis it was found that the mark A was selected as the healthier product for your lipid profile, high content of minerals, and phenolic antioxidant activity satisfactorily. Mark B stood for the high total phenolic content and good antioxidant activity. Its chemical composition and minerals was similar to that of brand A, with the exception of lipid content, which had mostly saturated fatty acids. Brand C had the highest levels of carbohydrate and palmitic acid, lower mineral content compared to other brands of chocolate and the low concentration of total phenolics and antiradical activity. All dark chocolates analyzed showed acceptance more than 70% in all attributes, indicating homogeneity of the formulations of products from different manufacturers, with no significant difference regarding the preference of brands of chocolate.

Key words: chocolate, cardiovascular diseases, thermo-oxidative stability, sensory preference.

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Diferenças entre os tipos de chocolate mais comercializados.	26
Quadro 2 – Dados nutricionais presentes no rótulo dos chocolates utilizados na pesquisa	47
Quadro 3 – Concentração dos padrões utilizados para análise quantitativa dos minerais e os respectivos coeficientes de correlação.	52

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Flor do cacau (A) e seus frutos (B).	20
Figura 2 – As três variedades de cacau: Criollo e a semente oval (A), Forastero e a semente achatada (B), Trinitario (C).	21
Figura 3 – Corte transversal de um fruto de cacau da variedade Forastero (A) e corte longitudinal de semente de cacau (B).	22
Figura 4 – Processamento das sementes de cacau.	22
Figura 5 – Etapas do processo de fabricação do chocolate.	24
Figura 6 – Grupo dos flavonóides e suas subclasses.	30
Figura 7 – Estrutura básica dos flavonóides.	31
Figura 8 – Efeitos do estresse oxidativo na ausência dos flavonóides do chocolate.	31
Figura 9 – Estrutura do flavan-3-ol na forma monomérica (A) e de uma procianidina (B).	32
Figura 10 – Redução dos níveis de polifenóis em sementes de cacau durante os diferentes estágios de fabricação do chocolate.	33
Figura 11 – Composição dos ácidos graxos presentes na manteiga de cacau.	35
Figura 12 – Etapas de temperagem do chocolate e as formas polifórmicas da manteiga de cacau formadas durante este processo.	36
Figura 13 - Estruturas e pontos de fusão dependentes das ligações simples e dos tipos trans e cis.	39
Figura 14 – Etapas das reações de rancidez oxidativa.	40
Figura 15 – Delineamento experimental com chocolates amargos.	48
Figura 16 - Tratamento da amostra para análise de minerais.	51
Figura 17 – Armazenamento da gordura de chocolate em vidros âmbar.	53
Figura 18 – Estabilização do radical livre DPPH por um antioxidante R (A) e a descoloração das soluções resultantes dessa estabilização e da concentração do antioxidante (B).	57
Figura 19 – Ficha de avaliação sensorial utilizada no teste de aceitação de chocolates amargos 70%.	59
Figura 20 – Ficha de avaliação sensorial utilizada no teste de ordenação-preferência de chocolates amargos 70%.	59

Figura 21 - Cromatogramas do chocolate amargo A (lote 1).	65
Figura 22 – Curvas DTG (a), TG (b) e DTA (c) do chocolate amargo da marca A (lote 1), em atmosfera oxidante (ar sintético), até 700°C.	70
Figura 23 – Sobreposição das curvas PDSC dinâmico dos chocolates amargos comerciais.	73
Figura 24 – Fenólicos totais em mg EAG/100g das três marcas de chocolate amargo ± E.P.M. (n=9).	75
Figura 25 – Atividade antioxidante em EC ₅₀ (mg/mL) das três marcas de chocolate amargo ± E.P.M. (n=9).	76
Figura 26 – Correlação linear entre o teor fenólicos totais e a atividade seqüestradora do radical DPPH.	77
Figura 27 – Freqüência das ordens das amostras A, B e C.	81

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Quantificação dos principais minerais presentes no grão de cacau e seus derivados em miligramas/100 g.	27
Tabela 2 – Teor médio de cafeína e teobromina do cacau e do chocolate amargo e ao leite.	29
Tabela 3 – Sucedâneos da manteiga de cacau: tipos, funcionalidades, exemplos e principais ácidos graxos.	37
Tabela 4 – Composição química dos chocolates amargos.	61
Tabela 5 – Composição mineral dos chocolates amargos.	63
Tabela 6 – Concentração dos principais ácidos graxos presentes nos chocolates amargos.	66
Tabela 7 – Dados termogravimétricos da amostra A ₁ de chocolate amargo a 70%, em atmosfera oxidante (ar sintético) até 700 °C.	69
Tabela 8 – Resíduos das amostras de chocolate amargo, marca A (lote 1) em atmosfera oxidante (ar sintético) até 700 °C	71
Tabela 9 – Dados calorimétricos (PDSC) dos chocolates amargos em atmosfera oxidante (O ₂ puro), pelo método não-isotérmico (OT _i e OT _{onset}).	73
Tabela 10 – Escores médios de aceitação sensorial dos chocolates amargos a 70% de cacau.	78
Tabela 11 – Frequência das notas atribuídas aos chocolates amargos a 70%	79
Tabela 12 – Avaliação sensorial de preferência de chocolates amargos pelo teste de ordenação para as amostras A, B e C.	81

LISTA DE ABREVIações

AG - Ácidos graxos
ANOVA – Análise de variância
AVC – Acidente Vascular Cerebral
ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CG - Cromatografia gasosa
CNS – Conselho Nacional de Saúde
DCV – Doenças cardiovasculares
DP – Desvio padrão
DTA - Análise Térmica Diferencial
DTG - Termogravimetria Derivada
DPM – Desvio Padrão da Média
DPPH - 1,1-difenil-2-picril-hidrazina
DSC – Calorimetria Exploratória Diferencial
EPM – Erro Padrão da Média
EROs – Espécies reativas de oxigênio
HAS – Hipertensão arterial sistêmica
IDL-c – Lipoproteína de densidade intermediária
LDL-c – Lipoproteína de baixa densidade
OT_i – Temperatura inicial de oxidação
OT_{endset} - Temperatura de oxidação endset
OT_{onset} - Temperatura de oxidação onset
PCR – Proteína C reativa
PEA - Feniletilamina
PDSC - Calorimetria Exploratória Diferencial Pressurizada
PPO – Polifenol oxidase
RL – Radicais livres
RMF - Resíduo Mineral Fixo
RPM – Rotações por Minuto
SMC – Sucedâneo da manteiga de cacau
SNC - Sistema nervoso central
TG – Termogravimetria
Temperatura *endset* – Temperatura final de fusão
Temperatura *onset* – Temperatura inicial de fusão
Tpico – Temperatura máxima de fusão
TPM – Tensão pré-menstrual
UFPB – Universidade Federal da Paraíba

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 OBJETIVOS	18
2.1 OBJETIVO GERAL	18
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	18
3 REVISÃO DE LITERATURA	19
3.1 ASPECTOS HISTÓRICOS	19
3.2 O CACAU	20
3.2.1 O processamento das sementes de cacau	22
3.3 O CHOCOLATE	23
3.4 PROPRIEDADES FUNCIONAIS DO CHOCOLATE AMARGO	26
3.4.1 Substâncias bioativas presentes no chocolate amargo	27
3.4.1.1 <i>Vitaminas e Minerais</i>	27
3.4.1.2 <i>Aminas biogênicas e Metilxantinas</i>	28
3.4.1.3 <i>Compostos fenólicos</i>	30
3.4.1.4 <i>Lipídios</i>	34
3.4.1.4.1 Perfil lipídico da manteiga de cacau e do chocolate	36
3.5 COMPORTAMENTO DOS LIPÍDIOS PRESENTES NOS ALIMENTOS	38
3.6 DEGRADAÇÃO LIPÍDICA	39
3.7 ESTABILIDADE OXIDATIVA DE ÓLEOS E GORDURAS	41
3.7.1 Calorimetria exploratória diferencial pressurizada	42
3.7.2 Análise térmica diferencial	43
3.7.3 Termogravimetria	44
3.8 ESTABILIDADE OXIDATIVA DOS LIPÍDIOS DO CHOCOLATE	44
3.9 ANÁLISE SENSORIAL	46
4 METODOLOGIA	47
4.1 AMOSTRAGEM E DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	47
4.2 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DOS CHOCOLATES	49
4.2.1 Determinação do teor de umidade	49
4.2.2 Determinação de cinzas	49
4.2.3 Determinação de proteínas	49
4.2.4 Determinação de lipídios	49
4.2.5 Determinação de carboidratos solúveis totais	50

4.2.6 Determinação de fibras totais	50
4.2.7 Quantificação de minerais	50
<i>4.2.7.1 Determinação de fósforo</i>	50
<i>4.2.7.2 Espectrofotometria de absorção atômica</i>	51
4.2.8 Caracterização lipídica do chocolate	52
<i>4.2.8.1 Extração lipídica do chocolate</i>	53
<i>4.2.8.2 Preparação dos ésteres metílicos</i>	53
<i>4.2.8.3 Identificação e quantificação dos ésteres metílicos dos ácidos graxos</i>	54
4.2.9 Análise térmica dos chocolates amargos	55
4.2.10 Análise oxidativa dos chocolates amargos	55
4.2.11 Análise dos compostos fenólicos do chocolate amargo	55
<i>4.2.11.1 Extração de compostos fenólicos</i>	55
<i>4.2.11.2 Determinação dos fenólicos totais</i>	56
<i>4.2.11.3 Análise da atividade antioxidante</i>	56
4.3 AVALIAÇÃO SENSORIAL DOS CHOCOLATES AMARGOS	58
4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA	60
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES	61
5.1 CARACTERIZAÇÃO DOS CHOCOLATES AMARGOS	61
5.1.1 Composição química	61
5.1.2 Quantificação de minerais	63
5.1.3 Caracterização do perfil lipídico dos chocolates	64
5.1.4 Estabilidade térmica e oxidativa dos chocolates amargos	67
5.1.5 Análise oxidativa dos chocolates amargos	72
5.1.6 Determinação dos fenólicos totais	74
5.1.7 Determinação da atividade antioxidante	75
5.2 ANÁLISE SENSORIAL DO CHOCOLATE	78
5.2.1 Teste de aceitação	78
5.2.2 Teste de ordenação-preferência	80
6 CONCLUSÃO	82
REFERÊNCIAS	83
APÊNDICES	94
APÊNDICE A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	95

APÊNDICE B - Cromatogramas da gordura dos chocolates amargos	96
APÊNDICE C – Dados termogravimétricos das amostras de chocolate amargo a 70% e suas respectivas curvas DTG (a), TG (b) e DTA (c).	98
APÊNDICE D - Resíduos das amostras de chocolate amargo	106
APÊNDICE E - Curvas PDSC das amostras de chocolate amargo	107
ANEXO	108
ANEXO A – Certidão de aprovação da pesquisa pelo CEP/HULW.	109

1 INTRODUÇÃO

O chocolate era anteriormente conhecido como uma bebida fria, amarga e temperada obtida das sementes do cacau, um fruto pertencente à espécie *Theobroma cacao*, que significa “alimento dos deuses”, muito valioso e cobiçado pelos povos olmeca, maia, inca e asteca. Para estes povos, o *xocolatl* ou *tchocolath* era considerado uma bebida nobre, servida em rituais religiosos, mas também, um alimento medicinal, capaz de curar várias enfermidades.

Após colonização desses povos pelos espanhóis, o chocolate foi melhorado na Espanha, pela substituição dos seus ingredientes e difundido pela Europa e pelo mundo, não só pelo seu sabor, mas também por seus benefícios à saúde. No entanto, com o acréscimo de açúcar e outros ingredientes em sua formulação, o chocolate, conhecido como alimento terapêutico, passa a ser uma guloseima calórica e consumida exageradamente, contribuindo para o aumento da incidência do sobrepeso e suas complicações.

No entanto, estudos atuais comprovam as qualidades energéticas, nutritivas e atributos funcionais do chocolate, relacionados, entre outros fatores, à espécie do cacau, sua região geográfica, condições climáticas e ao tipo de preparo e processamento do chocolate. Considerando esses fatores e comparando os tipos de chocolates mais consumidos, o chocolate amargo se destaca como um alimento funcional, devido à maior porcentagem de sólidos de cacau, que influencia no conteúdo da gordura e dos compostos bioativos da sua composição.

Os benefícios do chocolate amargo são provenientes: da manteiga de cacau, rica nos ácidos esteárico e oléico, que possuem efeito neutro sobre o colesterol sanguíneo, não contribuindo para o seu aumento; dos minerais, como o cálcio, magnésio, potássio e cobre que agem no controle das doenças cardíacas e da hipertensão arterial; das aminas bioativas e metilxantinas, que possuem função estimulante; e aos altos teores de flavonóides, potentes antioxidantes que agem na prevenção do envelhecimento e das patologias crônico-degenerativas como a neoplasia, gastrite, reumatismo e as doenças cardiovasculares, primeira causa de morte na população brasileira e mundial.

Mesmo apresentando todas essas qualidades funcionais, a indústria do chocolate, na tentativa de reduzir os custos de produção, têm substituído total ou parcialmente seus ingredientes, diminuindo assim, o teor de sólidos totais de cacau

no chocolate amargo. Isso ocorre com a manteiga de cacau, matéria-prima de maior valor econômico, que é diminuída para adição de outros tipos de gordura, ricas em ácidos graxos saturados e trans, os quais promovem a descaracterização das propriedades sensoriais, nutricionais e funcionais do produto final.

Diante dessas evidências, cresce o interesse científico em analisar a composição e o comportamento termo-oxidativo dos chocolates amargos, que conjuntamente com outras técnicas, possibilitam a verificação da qualidade da amostra e a identificação das variáveis que afetam as propriedades benéficas do chocolate.

Para caracterizar e comparar os chocolates amargos, que contenham em média 70% de sólidos de cacau, foram realizados testes físico-químicos, térmicos e sensoriais das amostras de chocolates, avaliando o valor nutricional, a estabilidade termo-oxidativa e as características funcionais, para identificar os produtos que melhor representem o alimento que é considerado funcional.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Caracterizar e comparar diferentes marcas comerciais de chocolate amargo quanto aos aspectos nutricionais, perfil lipídico, teor de polifenóis, estabilidade termo-oxidativa e aceitação sensorial.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Comparar a qualidade nutricional das marcas de chocolate amargo por composição química;
- Quantificar os minerais presentes nos chocolates por Espectrometria de Absorção Atômica;
- Avaliar o perfil lipídico dos chocolates pela composição de seus ácidos graxos, por cromatografia gasosa;
- Comparar a estabilidade térmica das variedades de chocolate amargo por Termogravimetria;
- Avaliar o comportamento dos chocolates amargos quanto à estabilidade oxidativa, pela técnica de Calorimetria Exploratória Diferencial Pressurizada (PDSC);
- Quantificar o teor de fenóis totais e determinar a atividade antioxidante dos chocolates amargos a 70%;
- Verificar a aceitação dos chocolates amargos quanto aos atributos aparência, cor, aroma, textura, sabor e intensidade de amargor, além da preferência dos consumidores quanto aos três produtos analisados.

3 REVISÃO DE LITERATURA

O consumo de chocolate, anteriormente criticado por seu alto teor calórico, tem sido recomendado, em quantidades moderadas, por seus benefícios à saúde humana. Desta maneira, o chocolate, além das funções nutricionais básicas e de seu grande valor energético, destaca-se como um alimento funcional, que contribui para redução do risco de diversas patologias.

Entretanto, essa qualidade é reservada apenas ao chocolate do tipo amargo, sendo advinda, principalmente, do seu teor significativo de polifenóis e de lipídios, além da presença de outros componentes fisiologicamente ativos derivados do cacau.

Mesmo com a disseminação crescente de seus benefícios, a ingestão de chocolate amargo também deve ser comedida até que as diferenças e qualidades entre as variedades comercializadas sejam esclarecidas cientificamente, determinando seu potencial na prevenção de diversas enfermidades, quando associado a uma alimentação balanceada e a hábitos de vida saudável.

3.1 ASPECTOS HISTÓRICOS

As primeiras evidências históricas do uso do cacau e obtenção do chocolate são datadas de 1500 a.C. e remetem aos povos olmeca, maia, inca e principalmente o asteca, de onde derivaram os termos *cacao* ou *kakaw* e *xocolatl*, *tchocolath* ou *chocoatl*, sinônimos, respectivamente, do fruto e de um líquido pastoso, resultante de sua polpa e sementes (VIVIAN, 2004; COENTRÃO, 2005).

O antecessor do chocolate foi uma bebida fria, amarga e espumante, produzida a partir das sementes de cacau fermentadas, acrescida de água, farinha de milho, pimentão e especiarias, frequentemente servida aos nobres e sacerdotes astecas em rituais religiosos (VIVIAN, 2004; COSTA, 2008).

Por seu alto valor energético e estimulante, o chocolate era igualmente ingerido por guerreiros antes das batalhas e por pessoas debilitadas, como um alimento medicinal, tendo diversas aplicabilidades: analgésico, estimulante dos sistemas nervoso, gástrico e renal, tratamento de febre, tuberculose, angina, fadiga mental, baixa virilidade e anemia (KENN, 2001; EFRAIM et al., 2006; FARAH, 2008).

No século XVI, em 1519, o espanhol Hernán Cortéz ao chegar à América Central, mostrou-se entusiasta do valor monetário e medicinal que Montezuma, o imperador asteca e o seu povo atribuíam ao cacau (PIMENTEL, 2007). Aproximadamente em 1528, Cortez dizimou a população nativa, colonizou suas terras e levou para a Espanha as sementes de cacau e as ferramentas necessárias para o seu cultivo e preparo do chocolate (FARAH, 2008).

Durante o século XVI, o chocolate foi aprimorado nas cozinhas dos mosteiros espanhóis para serem apreciados principalmente pela nobreza. No século XVII, a novidade foi difundida pela Europa e para o mundo, tanto por seu sabor, melhorado pela substituição dos seus ingredientes por cravo, baunilha, canela, mel e açúcar, quanto por seus benefícios à saúde (COSTA, 2008; FARAH, 2008).

Após muitos anos, o chocolate deixou de ser considerado um alimento terapêutico, pois sua composição nutricional e seu consumo excessivo estiveram associados a diversas patologias. No entanto, estudos atuais têm comprovado suas qualidades funcionais, relacionadas ao teor de sólidos de cacau presentes no chocolate (EFRAIM, 2004; LIPPI et al., 2009).

3.2 O CACAU

O cacau é um fruto proveniente de flores pequenas, avermelhadas, inodoras e unidas ao tronco do cacauero, nativo das regiões tropical a equatorial do mundo e pertencente à espécie *Theobroma cacao*, que no grego significa “alimento dos deuses” (COENTRÃO, 2005). O fruto pode medir até 25 cm de comprimento e quando maduros, adquirem tonalidade alaranjada, amarela ou roxa, independente da variedade (FIGURA 1).



Figura 1 – Flor do cacauero (A) e seus frutos (B).

Fonte: <http://qui-prona.wordpress.com/2009/07/19/flavonoides-contra-alzheimer/>

São conhecidas três variedades de cacau: *Criollo*, *Forastero* e *Trinitario* (FIGURA 2). Os frutos de cacau *Criollo*, cultivados em países da América Central e da América do Sul, são caracterizados pela forma alongada, superfície externa enrugada e sementes ovais. Seus cotilédones são brancos, sem pigmentação e o chocolate de suas amêndoas tem qualidade superior, devido à coloração marrom brilhante, aroma e sabor peculiar (MARTINI, 2004).

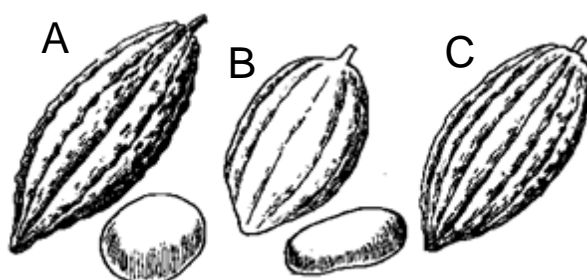


Figura 2 – As variedades de cacau: *Criollo* e a semente oval (A), *Forastero* e a semente achatada (B), *Trinitario* (C).

Fonte: http://www.uq.edu.au/_School_Science_Lessons/55.12.GIF

A variedade *Forastero*, encontrada na Bahia, Amazônia, países da Ásia e do oeste da África, é responsável atualmente por 80% do cultivo mundial de cacau (BATISTA, 2008), devido à maior produtividade e resistência às pragas. Caracteriza-se por frutos arredondados e sementes achatadas, de coloração violeta intensa, que conferem ao chocolate um sabor mais ácido e adstringente (MARTINI, 2004).

O *Trinitario*, cultivado na Malásia e Indonésia, é o híbrido das variedades *Criollo* e *Forastero*, possuindo respectivamente, o sabor frutal e suave do primeiro e maior resistência a pragas do segundo (EFRAIM, 2004), sendo seu chocolate, considerado de qualidade intermediária (MARTINI, 2004).

No geral, cada fruto contém em média, trinta a cinquenta sementes envoltas por uma polpa mucilagínosa, de coloração branca ou rósea, de sabor doce e ácido (LAJUS, 1982). O conjunto polpa e semente é envolvido por outra membrana, chamada placenta (EFRAIM, 2004), como mostrado na Figura 3A. Dos cotilédones da semente do cacau (FIGURA 3B), são extraídas as matérias-primas para a produção do chocolate: a manteiga de cacau e o *liquor*.



Figura 3 – Corte transversal de um fruto de cacau da variedade Forastero (A) e corte longitudinal de semente de cacau (B).

Fonte: EFRAIM, 2004.

Legenda: (A) a – cotilédone; b – placenta; c – polpa mucilaginosa. (B) d – casca; e – cotilédone; f – gérmen ou embrião.

O tecido dos cotilédones é constituído por dois tipos de células: o primeiro por pigmentos compostos de polifenóis (taninos, antocianinas e proantocianidinas) e metilxantinas (teobromina e cafeína); o segundo, por células de reserva, contendo amido, lipídios, proteínas e enzimas, representando aproximadamente 90% do volume total dos tecidos (EFRAIM, 2004; MARTINI, 2004).

As células que armazenam os polifenóis na amêndoa representam 11 a 13% do total, sendo responsáveis pela cor do cotilédone e propriedade funcional do fruto (BECKETT, 1988; MARTINI, 2004), podendo seu conteúdo variar na semente do cacau, dependendo do país ou região onde é cultivado, safra, das práticas após a colheita e das técnicas de processamento do cacau (OLIVEIRA, 2005).

3.2.1 O processamento das sementes de cacau

Na Figura 4 são mostradas as técnicas para a produção dos derivados do cacau, realizadas após a abertura dos frutos e fundamentais para o desenvolvimento de aromas e sabores do produto final.

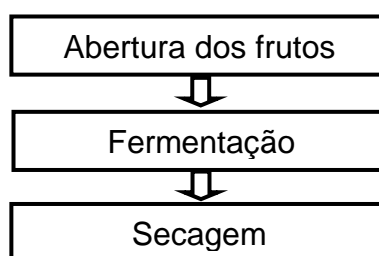


Figura 4 – Processamento das sementes de cacau.
Fonte: O autor (2010).

A fermentação, realizada entre 3 e 8 dias em caixas, cestos, sacos de lona ou gavetas de madeira, tem por objetivo a destruição do germen e a promoção de reações químicas e enzimáticas no interior das sementes, que passam a ser chamadas de amêndoas. Ocorre em duas etapas: a anaeróbia, realizada por bactérias e leveduras, que convertem açúcares e proteínas em álcool etílico, dióxido de carbono e ácido láctico, transformando a polpa em um líquido. A polpa é drenada, permitindo assim, a introdução de ar no sistema e o início da fermentação aeróbia, responsável pela produção de ácido acético (EFRAIM, 2004; BATISTA, 2008).

As complexas reações da etapa de fermentação, levam a diminuição do pH, ao aumento de temperatura (45–50 °C), a oxidação química e a degradação enzimática dos polifenóis, que também se condensam com proteínas, tendo sua solubilidade, amargor e o sabor adstringente, característicos dos polifenólicos, diminuídos (WOLLGAST; ANKLAM, 2000; EFRAIM, 2004).

Finalizada a fermentação, inicia-se a secagem das amêndoas por exposição ao sol ou em secadores artificiais, para diminuição da umidade e da acidez das mesmas, evitando a rancificação hidrolítica dos lipídios do cacau, a ação enzimática e a proliferação de fungos no produto (WOLLGAST; ANKLAM, 2000; OLIVEIRA, 2005; BATISTA, 2008).

3.3 O CHOCOLATE

Vissoto et al. (1999) e Afoakwa, Paterson e Fowler (2007) definem o chocolate como uma suspensão de partículas sólidas, como o açúcar, os sólidos de cacau com ou sem sólidos de leite, em uma fase rica em gordura, que contribui para a formação do aroma, sabor, cor, além de promover forma ao produto final, que deve fundir rápido e completamente em temperatura próxima à do corpo humano.

O chocolate é um produto obtido por processo tecnológico adequado (COHEN; LUCCAS; JACKIX, 2004), como demonstrado na Figura 5.

Após a eliminação de impurezas físicas e moagem das amêndoas, é obtido o *líquor*, que é passado em uma prensa, dotada de tubulações de ar aquecido, produzindo outros dois produtos: a torta do cacau, ou seja, o resíduo remanescente do *líquor*, usada na produção do cacau em pó e a manteiga de cacau, o ingrediente mais caro e nobre do chocolate, de tonalidade amarelo clara e temperatura de fusão próxima aos 37°C (POTTER; HOTCHKISS, 1995; EFRAIM, 2004).

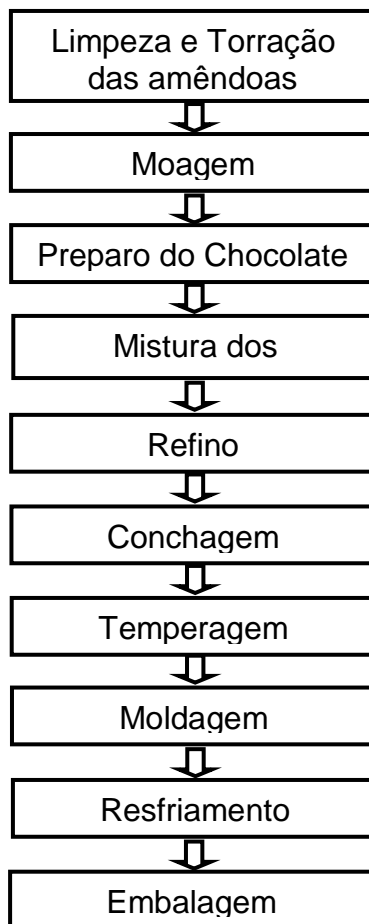


Figura 5 – Etapas do processo de fabricação do chocolate.
Fonte: O autor (2010).

Terminada a extração das matérias-primas do chocolate, é realizada a mistura dos ingredientes em pó (açúcar, leite em pó) com os ingredientes líquidos e semi-líquidos (manteiga e massa de cacau), que se transformam em uma massa plástica adequada para o refino, etapa onde há a redução da granulometria da massa, ficando as partículas imperceptíveis ao paladar. A massa refinada segue para a conchagem, que permite: a remoção de voláteis indesejáveis remanescentes da fermentação das sementes de cacau (ácido acético, aldeídos e cetonas); a diminuição da viscosidade e umidade proveniente dos ingredientes e a formação de aromas desejáveis pela reação de Maillard, durante o aquecimento da massa a 50-70 °C. Quanto maior o tempo de conchagem, maior é a formação do sabor desejável do chocolate (GOZZO, 2003; EFRAIM, 2004).

O processo seguinte é a temperagem ou pré-cristalização, responsável pela mudança controlada e uniforme da temperatura do chocolate (de 27 a 50 °C), que é

disposto em bandejas, sobre uma superfície vibratória, para a retirada de ar da massa e cristalização da manteiga de cacau em sua forma mais estável (Forma □□. Em um chocolate bem temperado, a cristalização promove o aumento do ponto de fusão do chocolate, boa solidificação, mais brilho e boa textura, além de evitar a formação do *fat bloom* no resfriamento e no armazenamento, ampliando a vida de prateleira do produto (GOZZO, 2003; COHEN; LUCCAS; JACKIX, 2004).

Na última etapa, o chocolate é moldado, ou seja, colocado em fôrmas e submetidas a um mecanismo vibratório e refrigerado, com temperatura de 12 a 15 °C e umidade relativa do ar de 65%. O resfriamento tem por finalidade a solidificação rápida do chocolate, que se contrai e sai mais facilmente das fôrmas, sendo em seguida embalado e armazenado em temperatura de 20 a 22 °C (BATISTA, 2008).

É na fase do armazenamento do chocolate que fatores como a temperatura e a umidade relativa devem ser considerados, pois o aumento da temperatura resulta em maior mobilidade molecular, permitindo mudanças na distribuição e no tamanho do cristal, podendo ocorrer à formação de uma da superfície esbranquiçada, chamada *fat bloom*. A absorção da umidade favorece a formação do *sugar bloom* ou a recristalização do açúcar dissolvido na superfície do chocolate, caracterizada por uma camada rugosa irregular e não gordurosa (GRUNENVALDT, 2009). Tanto o *fat bloom* como o *sugar bloom* devem ser evitados por serem considerados defeitos do chocolate, tornando o produto pouco atraente ao consumidor (LUCCAS, 2001).

Tanto a produção quanto o consumo de chocolate, tem aumentado anualmente no mundo e no Brasil, considerado desde 2005, o quarto maior produtor mundial, depois dos Estados Unidos, Alemanha e Reino Unido (ABICAB, 2008). A principal razão dessa realidade são as inúmeras opções de chocolate oferecidos no mercado (EFRAIM, 2009).

Apesar da diversidade, os mais consumidos ainda são o chocolate ao leite, o branco, o meio-amargo e o chocolate amargo, que ganhou maior evidência, entre os anos de 2006 e 2008, quando o mercado brasileiro lançou chocolates com teores de cacau acima de 50%, cada vez mais apreciados, por seu sabor particular e pela divulgação de seus benefícios à saúde, resultantes dos seus nutrientes e do teor aumentado de sólidos de cacau e antioxidantes, quando comparado aos outros tipos de chocolate (QUADRO 1) (FARAH, 2008; BELŠČAK et al., 2009; EFRAIM, 2009).

Tipo de Chocolate	Ingredientes utilizados	Teor de massa de cacau (%)	Teor de antioxidantes (mg)	Valor calórico (Kcal/100g)
Ao leite	Açúcar, massa e manteiga de cacau, leite, leite em pó e condensado.	20 a 39	70	568
Branco	Açúcar, manteiga de cacau, leite em pó e lecitina.	--	--	549
Meio amargo	Massa e manteiga de cacau, pouco açúcar.	40 a 55	170	550
Amargo	Massa e manteiga de cacau, pouco açúcar.	56 a 85	250 a 450	500

Quadro 1 – Diferenças entre os tipos de chocolate mais comercializados.
Fonte: FARAH, 2008.

3.4 PROPRIEDADES FUNCIONAIS DO CHOCOLATE AMARGO

O conhecimento da relação entre o consumo de alguns alimentos e promoção à saúde não é recente, pois Hipócrates, há 2500 anos, já proclamava: “*Faça do seu alimento seu medicamento*” (LIRA et al., 2009; PIMENTEL; FRANCKI; GOLLÜCKE, 2005).

Nos últimos anos, devido ao interesse crescente dos consumidores por alimentos funcionais, tanto a indústria quanto a comunidade científica tem buscado cada vez mais informações sobre esses produtos e suas substâncias bioativas, que atuam na redução do risco de doenças crônico-degenerativas, proporcionando mais saúde e uma melhor qualidade de vida (LIRA et al., 2009).

De acordo com Brasil (1999), alimento funcional é “todo alimento ou ingrediente que, além das funções nutricionais básicas, quando consumidos na dieta usual, produz efeitos metabólicos e/ou fisiológicos e/ou efeitos benéficos à saúde, devendo ser seguro para consumo sem supervisão médica”.

Diante disso, o chocolate tem sido considerado um alimento funcional, fonte de substâncias fitoquímicas, que promovem efeitos cardioprotetores e anti-inflamatórios, imunomoduladores e antioxidantes, reduzindo a incidência de neoplasias, diabetes mellitus, doenças cerebrovasculares, gástricas e reumáticas, dentre outras patologias causadas por estresse oxidativo (WOLGAST; ANKLAN, 2000; MAYDATA, 2002; LIPPI et al., 2009).

3.4.1 Substâncias bioativas presentes no chocolate amargo

Dentre as substâncias que conferem nobreza ao chocolate amargo estão os lipídios, as vitaminas e os minerais, os componentes biologicamente ativos (metilxantinas e aminas biogênicas), além dos compostos fitoquímicos (flavonóides).

3.4.1.1 Vitaminas e Minerais

A semente de cacau contém vitaminas e minerais, encontrados em quantidades significativas no chocolate. Embora os grãos sejam fermentados, tratados em altas temperaturas e possuam alto teor de fitatos, a disponibilidade dos micronutrientes é satisfatória nos derivados do cacau e sua concentração está diretamente relacionada ao teor de sólidos de cacau, encontrado em maiores percentuais no chocolate amargo, com algumas poucas exceções (STEINBERG; BEARDEN; KEEN, 2003).

Dentre as vitaminas encontradas no chocolate, destacam-se em maior proporção as vitaminas A, E, B₁, B₂, B₃, B₆, B₁₂, ácido fólico e C (RAFECAS; CODONY, 2000) enquanto, os principais minerais podem ser vistos na Tabela 1.

Tabela 1 – Quantificação dos principais minerais presentes no grão de cacau e seus derivados em miligramas/100 g.

	Ca	Cu	Fe	Mg	P	K	Na	Zn
Grão de cacau	111,82	2,73	3,41	388,64	483,41	1.022,95	16,14	4,09
Cacau em pó	169,09	13,86	4,55	594,09	795	2.057,95	9,09	7,95
Líquor de cacau	90,91	2,5	13,41	314,09	432,95	1.024,09	2,95	4,32
Chocolate amargo	32,05	0,68	3,18	115	132,05	365	10,91	1,59
Chocolate ao Leite	190,91	0,45	1,36	60	215,91	385	82,05	1,36

Fonte: STEINBERG; BEARDEN; KEEN, 2003 (adaptação).

Muitos minerais estão relacionados a uma função vascular saudável, destacando-se o cobre, potássio, cálcio e magnésio, que ajudam na prevenção da hipertensão arterial sistêmica (HAS) e contribuem para redução do risco de outras

doenças cardiovasculares (DCV) (STEINBERG; BEARDEN; KEEN, 2003; PASCUAL; VALLS; SOLÀ, 2009).

O magnésio, além de benéfico ao sistema cardiovascular, aumenta os níveis de dopamina e progesterona em mulheres, os quais sofrem queda natural no período pré-menstrual, promovendo alterações no humor feminino (KENN, 2001; FARAH, 2008). O cobre se destaca como ótimo antioxidante e o Instituto de Medicina Americano propôs uma referência de ingestão diária de 900 µg/dia para adultos saudáveis, sendo o chocolate amargo uma fonte rica desse mineral, contendo até 310 µg por porção (STEINBERG; BEARDEN; KEEN, 2003).

Outro mineral aliado do sistema cardíaco é o potássio, pois estudos epidemiológicos comprovam a relação inversa entre o seu consumo e a incidência da HAS e do acidente vascular cerebral (AVC). A ingestão adequada para adultos é de 4.700 mg/dia e o chocolate amargo pode fornecer até 365 mg desse nutriente. Em uma proporção menor que o potássio, o cálcio também é considerado importante na prevenção da HAS. O teor de cálcio em uma porção de chocolate ao leite é substancialmente maior do que no chocolate amargo e embora este nível não seja significativo quando comparado a outros alimentos ricos em cálcio, pode trazer uma contribuição positiva para a taxa global de minerais na dieta e para a saúde cardiovascular (FIORINI, 2008; STEINBERG; BEARDEN; KEEN, 2003).

3.4.1.2 Aminas biogênicas e Metilxantinas

Destacam-se como componentes psicoativos do chocolate amargo, as aminas biogênicas, representadas pela tiramina e feniletilamina (PEA), também produzidas pelo cérebro humano. A PEA é um neuromodulador que atua na produção de serotonina, potencialmente sintetizada pela presença de carboidratos e triptofano no chocolate.

A serotonina é reguladora do humor e da capacidade relaxante, além da moderação da compulsão alimentar e ansiedade, sinais comuns durante o período de tensão pré-menstrual (TPM), onde há queda dos níveis de progesterona e aumento da concentração de estrogênio, que induz o corpo ao armazenamento de gordura, levando ao aumento do desejo por alimentos calóricos (FARAH, 2008; PASCHOAL; KALLUF, 2009). Estudos sugerem que os níveis baixos de serotonina no plasma, no período pré-menstrual, são relacionados à depressão, culpa,

ansiedade, impaciência, ao descontentamento com o corpo e às desordens alimentares. Isso pode explicar a ingestão frequente de chocolate nesse período (EFRAIM, 2004).

Devido às propriedades estimulante, relaxante e antidepressiva da PEA, da serotonina e das metilxantinas, a inclusão do chocolate também tem sido aceita na dieta de tratamento de indivíduos com doença de Parkinson (WOLZ, et al., 2009).

As metilxantinas, compostos potencialmente ativos encontrados no chocolate, são substâncias incolores, inodoras, lipossolúveis e ligeiramente amargas. São representadas pela teobromina, teofilina e cafeína, estimulantes do sistema nervoso central (SNC), por competirem com a adenosina, um neuromodulador pré-sináptico, bloqueando seu receptor e conseqüentemente, eliminando sua ação inibitória (EFRAIM, 2004).

No cacau e seus derivados, a teobromina é quase exclusiva, chegando a 240-520 mg, em uma barra de 50 g de chocolate amargo, enquanto a cafeína aparece em torno de 17 a 36 mg em uma mesma porção (TABELA 2).

Tabela 2 – Teor médio de cafeína e teobromina do cacau e do chocolate amargo e ao leite.

	CAFEÍNA (mg)	TEOBROMINA (mg)
Cacau (50 g)	13	128
Chocolate amargo (50 g)	10-60	250
Chocolate ao leite (50 g)	2-30	85

Fonte: VIVIAN, 2004 (adaptação).

Quanto maior o teor de sólidos de cacau do produto, maior será seu teor de teobromina (SMIT; BLACKBURN, 2005; MENG; JALIL; ISMAIL, 2009), a qual tem efeito antioxidante, vasodilatador, diurético e estimulante do sistema neuromuscular. Todavia, a teobromina é menos estimulante que a cafeína, pois ela ativa a produção de serotonina, que desempenha função calmante (PASCHOAL; KALLUF, 2009).

Além das aminas e metilxantinas, o chocolate possui as N-aciletanolaminas insaturadas, ou seja, lipídios, química e farmacologicamente, parecidos com a andamida (lipoproteína cerebral endógena), que ativam os receptores canabinóides ou aumentam os níveis endocanabinóides, resultando em níveis crescentes de sensibilidade e euforia (EFRAIM, 2004; PASCHOAL; KALLUF, 2009).

3.4.1.3 Compostos fenólicos

Os fenólicos ou polifenóis são compostos largamente distribuídos no Reino Vegetal, que possuem várias aplicações industriais, sendo ainda, parte significativa da dieta humana, encontrados em frutas, hortaliças, nozes, sementes, cascas e flores. Dependendo de sua estrutura básica, são divididos em 10 diferentes categorias, se destacando a dos flavonóides (FIGURA 6), como o maior grupo de fenólicos encontrados em alimentos e de antioxidantes mais potentes entre os compostos fenólicos (SOOBRRATTEE et al., 2005; EFRAIM et al., 2006).

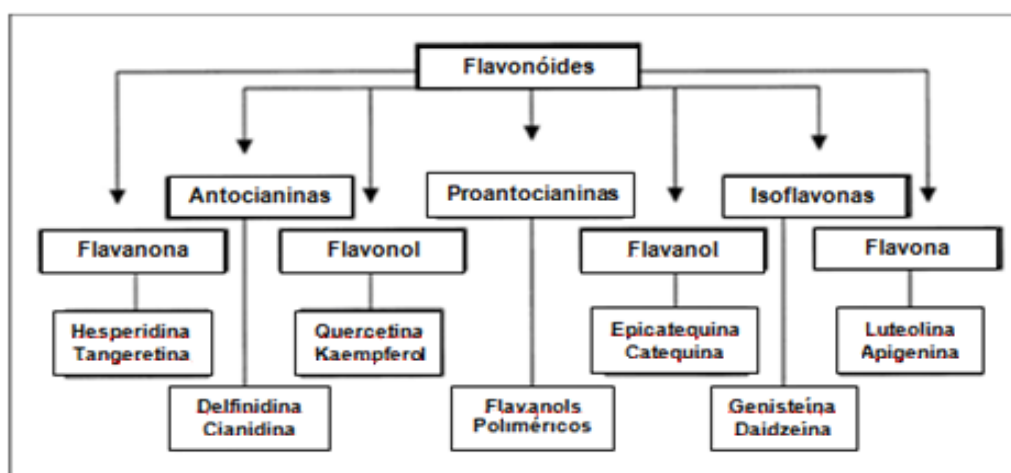


Figura 6 – Grupo dos flavonóides e suas subclasses.
Fonte: MURPHY et al., 2003.

Os flavonóides são compostos de baixo peso molecular, formados por 15 átomos de carbono, organizados na configuração $C_6-C_3-C_6$ e sua estrutura química consiste em dois anéis aromáticos, unidos por três carbonos, que formam um anel heterocíclico (ANGELO; JORGE, 2007), como demonstrado na Figura 7.

A presença desses fitoquímicos nos alimentos está relacionada a benefícios à saúde por sua ação antimicrobiana, anti-carcinogênica, anti-inflamatória, analgésica, anti-alérgica, imunomoduladora, hipoglicemiante e antioxidante, que permite quelar metais, interagir com enzimas e transportadores hormonais, catalisar o transporte de elétrons e bloquear a formação, propagação e ação deletéria das espécies reativas de oxigênio (EROs) (HERRMANN, 2002; OLIVEIRA, 2005; FREITAS, 2006).

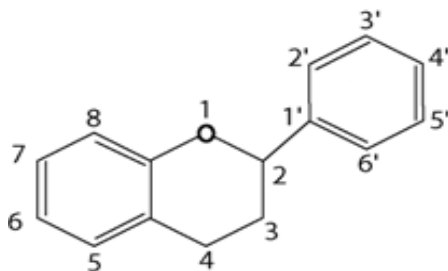


Figura 7 – Estrutura básica dos flavonóides.
Fonte: EFRAIM et al., 2006.

As EROs, geradas nas reações de transferência de elétrons em células aeróbicas, dão origem aos processos citotóxicos, capazes de originar o estresse oxidativo (FIGURA 8), responsável por danos às moléculas de DNA, lipídios e proteínas e pela disfunção endotelial, principal característica das patologias crônico-degenerativas, que acometem a sociedade moderna, como consequência dos hábitos alimentares errôneos e da inatividade física. Dentre essas patologias destacam-se as DCV, principal causa de mortalidade da população brasileira e mundial (EFRAIM, 2004; CUPPARI, 2005; NICHOLAS, 2008).

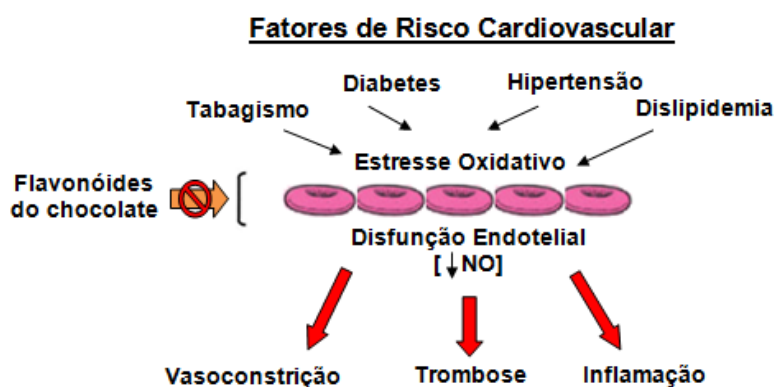


Figura 8– Efeitos do estresse oxidativo na ausência dos flavonóides do chocolate.
Fonte: ENGLER; ENGLER, 2004 (adaptação).

A disfunção endotelial permite a penetração e oxidação da lipoproteína de baixa densidade (LDL-c) no espaço subendotelial da artéria, estimulando uma resposta inflamatória e a formação de lesões ateroscleróticas avançadas, que podem evoluir para trombos e a obstrução do vaso sanguíneo, implicando em

isquemias, derrames, infarto do miocárdio e óbito (ENGLER; ENGLER, 2004; ÉSPIN; GARCÍA-CONESA; TOMÁS-BARBERÁN, 2007).

Estudos mostram que as epicatequinas, previnem os eventos ateroscleróticos, por ativar a síntese de óxido nítrico, responsável pela vasodilatação, relaxamento do endotélio vascular e controle da HAS. As proantocianidinas e procianidinas também se destacam pela diminuição da concentração e da oxidação do LDL-c; inibição da aderência e agregação de plaquetas e monócitos, que formam os trombos; síntese de óxido nítrico; proteção do cérebro e melhora do funcionamento cognitivo; fortalecimento do sistema imunológico e ação protetora sobre o material genético das células, reduzindo o risco de mutações (KEEN et al., 2005; AL-FARIS, 2008; HOLLENBERG; FISHER; MCCULLOUGH, 2009; LIPPI et al., 2009).

Há anos, o cacau tem sido estudado e considerado um alimento rico em flavonóides, principalmente os da classe dos flavanóis (FIGURA 9), que podem se apresentar na forma monomérica (catequinas e epicatequinas) e condensada, resultando na formação de procianidinas e de proantocianidinas ou taninos condensados, pela associação de várias unidades monoméricas com flavan-3,4-dióis ou leucoantocianidinas (WOLLGAST; ANKLAM, 2000; EFRAIM et al., 2006; GENOVESE; LANNES, 2009).

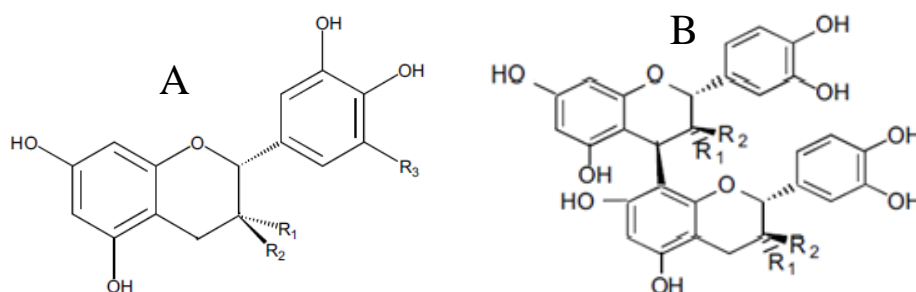


Figura 9 – Estrutura do flavan-3-ol na forma monomérica (A) e de uma procianidina (B).
Fonte: EFRAIM et al., 2006.

Na semente seca de cacau, o teor de fenólicos varia de acordo com a espécie do fruto, pois Wollgast e Anklam (2000), afirmam que os cotilédones pigmentados (violeta intenso), da espécie Forastero, apresentam teor de polifenólicos 33% maior que as sementes despigmentadas, características da espécie *Criollo*.

Além da escolha da espécie de cacau, um chocolate com alto teor de compostos bioativos possui grãos sub-fermentados, resultantes da redução do tempo de fermentação e secagem ou do tempo e temperatura dos tratamentos térmicos, que inibem a ação do oxigênio e das enzimas, atuantes na redução de até 70% dos polifenóis presentes na semente de cacau fresca (FIGURA 10) (OLIVEIRA, 2005; SILVA, 2005).

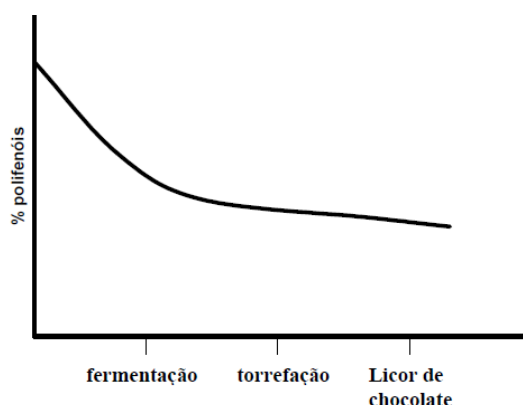


Figura 10 – Redução dos níveis de polifenóis em sementes de cacau durante os diferentes estágios de fabricação do chocolate.
Fonte: SARMENTO, 2007.

Embora boa parte dos flavonóides seja reduzida durante a fabricação do chocolate, este retém uma quantidade significativa desses compostos, superior ao teor de produtos como a maçã, o vinho e os chás (verde ou preto) (OLIVEIRA, 2005). Uma dieta ideal, rica em polifenóis, tem 1 g/dia desses compostos, mas pesquisas estimaram que a ingestão dietética de flavonóides pela população brasileira é, em média, de 60 a 106 mg/dia (ARABBI; GENOVESE; LAJOLO, 2004). Os chocolates amargos comerciais podem fornecer em média, 53,5 mg/100 g de catequina e 246 mg/100 g de procianidinas. A epicatequina é predominante em todos os tipos de chocolates, com uma proporção de 1:0,1, comparado a catequina. Além desses fenólicos, o chocolate amargo ainda possui quercetina, antocianina, clovamida e trans-resveratrol em pequenas quantidades (SARMENTO, 2007 JALIL; ISMAIL, 2008; PASCUAL; VALLS; SOLÀ, 2009).

Uma maior concentração de polifenóis acrescenta qualidade funcional aos produtos, todavia, está associada à adstringência e ao sabor amargo do alimento, prejudicando suas características sensoriais, tornando-as pouco apreciadas pelos

consumidores. Para aumentar a aceitabilidade do chocolate amargo, alguns fabricantes utilizam aditivos ou uma combinação de massas de cacau, obtidos de grãos sub-fermentados, para a obtenção de um produto equilibrado nutricional, funcional e sensorialmente (COENTRÃO, 2005).

É importante ressaltar que os fenólicos ingeridos ainda têm biodisponibilidade diminuída devido: a sua ligação com as proteínas; ao baixo pH gástrico e à absorção diminuída no intestino, dependente da estrutura química dos flavonóides, como por exemplo as catequinas, que possuem forma glicosilada e são pouco aproveitada pelos enterócitos, que só absorvem 35% do que foi ingerido (FREITAS, 2006).

Embora haja baixa concentração plasmática de flavanóis ingeridos, estudos comprovam que seus efeitos podem durar cerca de duas horas (SCALBERT; WILLIAMSON, 2000). Após ingestão do chocolate amargo constituído de 70% de cacau, foi evidenciado o aumento de $0,7 \mu\text{mol/L}$ da concentração plasmática de epicatequinas e a ação imediata das proantocianidinas na vasodilatação e queda da pressão arterial sistólica em indivíduos normo e hipertensos (FLAMMER, et al., 2007; VLACHOPOULOS; ALEXOPOULOS; STEFANADIS, 2006). Além disso, o consumo regular de chocolate amargo, em uma dieta equilibrada, determinou a queda de 5 a 15% dos níveis de colesterol total e LDL e a diminuição sérica de 5% da proteína C reativa, um marcador de inflamação no organismo (ALLEN et al., 2008; GIUSEPPE et al., 2008).

Diante dessas evidências, cresce o interesse científico e comercial na determinação e quantificação dos compostos fenólicos do chocolate amargo e na mensuração de sua capacidade antioxidante, a fim de comprovar suas qualidades funcionais.

3.4.1.4 Lipídios

A manteiga de cacau é a principal gordura do chocolate e o ingrediente de maior valor econômico, correspondendo a um terço do preço do produto final. É responsável por diversas características de qualidade do chocolate como dureza e quebra à temperatura ambiente, rápida e completa fusão na boca, brilho, contração durante o desmolde e rápido desprendimento de aroma e sabor na degustação, além de estar diretamente ligada à estabilidade do produto, durante o armazenamento (COHEN; LUCCAS; JACKIX, 2004).

É composta predominantemente por triglicerídeos (98%), sendo o restante (2%), representado por diglicerídeos, monoglicerídeos, ácidos graxos (AG) livres e componentes menores solubilizados, tais como esteróis e tocoferóis. Três principais AG são encontrados na composição da manteiga de cacau: o ácido esteárico (C18:0), o palmítico (C16:0) e o oléico (C18:1) (LUCCAS, 2001; RUSCHENSKY, 2005), ilustrados na Figura 11, tendo essa composição grande importância nutricional e funcional (LIPP; ANKLAM, 1998).

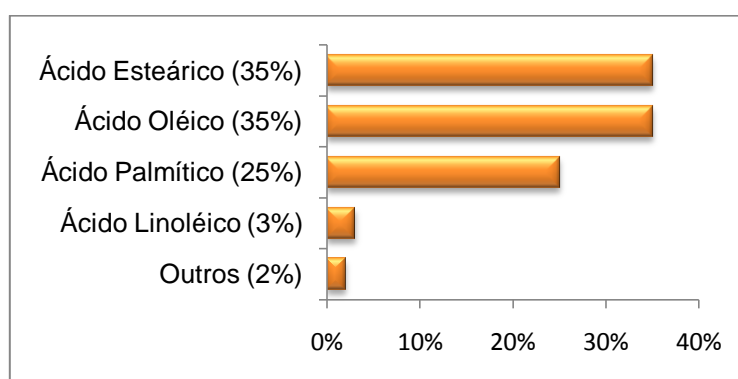


Figura 11 – Composição dos ácidos graxos presentes na manteiga de cacau.
Fonte: ADA, [1999?], p.12.

Praticamente todo ácido oléico encontra-se esterificado na posição central da molécula de glicerol, enquanto os AG saturados são mais encontrados nas posições 1 e 3. Esta particularidade permite que a manteiga de cacau apresente três triglicerídeos simétricos principais: POP (1,3-dipalmito-2-óleo triacilglicerol), POS (1-palmito-2-óleo-3-estearo triacilglicerol) e SOS (1,3-diestearo-2-óleo triacilglicerol), que correspondem a cerca de 90% do total dos triglicerídeos monoinsaturados do chocolate (COHEN; LUCCAS; JACKIX, 2004; EFRAIM, 2009).

Em razão dessas simetrias e das condições de temperagem do chocolate, a manteiga de cacau se cristaliza em seis diferentes formas cristalinas ou polimórficas, responsáveis por suas propriedades bem definidas de fusão e cristalização (FIGURA 12). Os pontos de fusão das formas cristalinas indicam sua estabilidade, denominada: alfa (α), quando as formas são instáveis; beta prima (β'), as de estabilidade intermediária e beta (β), as de alta estabilidade. A Forma sub α ou Forma γ é a menos estável e se forma quando a gordura é submetida a um

rápido resfriamento. Após aquecimento lento, rapidamente transforma-se na Forma II, III, IV e V. Durante o armazenamento a Forma V, produzida em um chocolate bem temperado, se transforma na Forma VI, ao longo de 4 meses, podendo essa transformação ser acelerada por flutuações de temperatura (COHEN; LUCCAS; JACKIX, 2004).

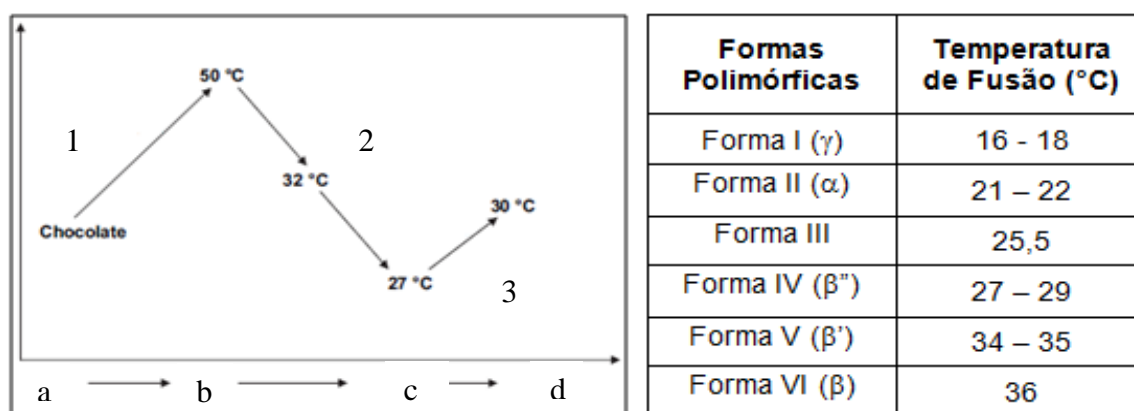


Figura 12 – Etapas de temperagem do chocolate e as formas polimórficas da manteiga de cacau formadas durante este processo.

Fonte: Afoakwa; Paterson; Fowler, 2007 (adaptação).

Legenda: Aquecimento (1), Resfriamento (2), Reaquecimento (3);

Chocolate sólido (a), fusão dos lipídios (b), Formação de cristais estáveis e instáveis (c), derretimento dos cristais instáveis (d).

3.4.1.4.1 Perfil lipídico da manteiga de cacau e do chocolate

As concentrações, localização e simetria dos AG, determinantes do polimorfismo da manteiga de cacau e da qualidade do chocolate, são definidas na maturação do fruto, por sua origem genética e condições climáticas (QUAST, 2008).

Os AG saturados do chocolate são comumente relacionados ao aumento do nível plasmático do colesterol total, do LDL-c e a uma maior incidência de DCV. Entretanto, estudos mostram que ao consumir uma quantidade significativa de chocolate amargo, nenhum efeito hipercolesterolêmico foi comprovado (RICHTER; LANNES, 2007). Isso se deve a presença do ácido oléico, conhecido pela redução plasmática das lipoproteínas de densidade intermediária (IDL-c) e à proporção elevada do ácido esteárico, um ácido graxo saturado, que no organismo humano, forma o ácido oléico, mostrando um efeito neutro sobre o metabolismo do colesterol, similar a dos AG monoinsaturados (PASCUAL; VALLS; SOLÀ, 2009).

Entretanto, mesmo com esses benefícios, o avanço das técnicas de modificação de óleos e gorduras para substituição parcial ou total da manteiga de cacau, tem atraído cada vez mais os fabricantes de chocolate, uma vez que a manteiga de cacau é uma matéria-prima de alto custo e demanda. As gorduras alternativas à manteiga de cacau, denominadas sucedâneos, são obtidas a partir de modificações física e/ou químicas de óleos e gorduras de frutas e sementes, que sempre apresentam as mesmas características, permitindo ao fabricante uma padronização na qualidade dos seus produtos. A escolha do melhor sucedâneo depende da relação custo *versus* benefício e das propriedades que se deseja ao produto final (LUCCAS, 2001; FARAH, 2008).

Tabela 3 – Sucédâneos da manteiga de cacau: tipos, funcionalidades, exemplos e principais ácidos graxos.

Tipos de SMC	Funcionalidade	Exemplos	Principais AG
SMC láuricos	Gorduras incompatíveis com a manteiga de cacau, mas com propriedades físico-químicas semelhantes	Óleo de coco e de palma (palmiste)	Láurico Mirístico
SMC não láuricos	Gorduras parcialmente compatíveis com a manteiga de cacau.	Óleos de soja, algodão, milho, amendoim e palma (oleína)	Elaídico Esteárico Palmítico Linoléico
EMC láuricos	Gorduras totalmente compatíveis com a manteiga de cacau, similares nas propriedades físico-químicas.	Palma, illipé, shea, kokum, sal	Palmítico Esteárico Oléico Linoléico Araquídico

Fonte: QUAST, 2008 (adaptação).

Legenda: AG – Ácidos Graxos, SMC – Sucédâneo de Manteiga de Cacau, EMC – Equivalente da Manteiga de Cacau.

Em função das semelhanças físicas e químicas, os sucedâneos da manteiga de cacau (SMC) podem ser classificados em três tipos diferentes, como mostrado na Tabela 3. Os sucedâneos devem ter similaridades físico-químicas à manteiga de cacau pura, para não formarem misturas eutéticas quando misturados a ela, ou seja, que baixem o ponto de fusão do produto. Uma gordura alternativa pode ser derivada de um único óleo ou gordura ou da combinação (*blending*) de vários óleos e

gorduras (MINIM, 1996; VÍTOVÁ et al., 2009), que são modificados e manufaturados pelas técnicas comerciais de hidrogenação, interesterificação química ou enzimática e fracionamento, que influenciarão no aumento do ponto de fusão, da estabilidade oxidativa e em modificações sensoriais do chocolate (FARAH, 2008; QUAST, 2008).

Em alguns países da Europa e da Ásia, a substituição da manteiga de cacau é permitida até 5% da massa total ou 15% da massa total de gordura do chocolate por equivalentes da manteiga de cacau (MINIM; CECCHI; MINIM, 1999). No Brasil, a antiga legislação determinava que chocolate era o produto que utilizava apenas a manteiga de cacau e/ou gordura do leite para compor a fase gordurosa, sem adição de gorduras vegetais alternativas, devendo conter, no mínimo, 32% de sólidos de cacau (BRASIL, 1978). Posteriormente, segundo a Resolução nº 227/ 2003, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), o chocolate passa a ser o produto obtido a partir da mistura de derivados do cacau (massa, manteiga e cacau em pó) com outros ingredientes, contendo, no mínimo, 25% de sólidos totais de cacau e no máximo, 5% de gordura vegetal (BRASIL, 2003).

Além disso, por ser permitido o acréscimo da gordura do leite ao chocolate, a indústria recorre à adição da gordura anidra de leite (manteiga desidratada), possibilitando uma maior redução dos custos, assim como, a diminuição do teor de cacau e o aumento do valor lipídico do produto final, rico em AG trans e saturados, relacionados às complicações das doenças coronárias (FARAH, 2008).

A variação natural da manteiga de cacau e a similaridade de seus substituintes têm dificultado a identificação e a quantificação dos AG característicos do cacau nos chocolates, inclusive nos do tipo amargo. Diante disso, é necessária uma fiscalização para identificar a quantidade e o tipo de gordura acrescido pelas indústrias ao chocolate.

3.5 COMPORTAMENTO DOS LIPÍDIOS PRESENTES NOS ALIMENTOS

A qualidade nutricional dos alimentos está intimamente relacionada, dentre outros fatores, à qualidade dos lipídios que fazem parte de sua constituição química.

A proporção dos AG saturados, monoinsaturados e poli-insaturados, exerce influência sobre as propriedades físicas, químicas e nutricionais de um alimento, devido ao número e a posição das insaturações na conformação espacial da cadeia hidrocarbonada. Além disso, ao ser submetido a altas temperaturas, processos de

rancidez oxidativa e de hidrogenação catalítica, há a modificação da cadeia da configuração *cis* para *trans*, que também exerce influência no ponto de fusão dos AG (FIGURA 13) (MORETTO; FETT, 1998; COULTATE, 2004; QUAST, 2008).

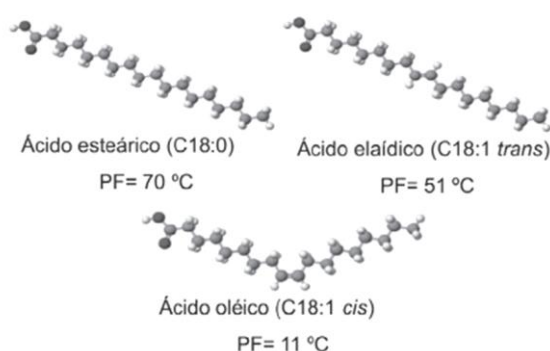


Figura 13 – Estruturas e pontos de fusão dependentes das ligações simples e dos tipos *trans* e *cis*.
Fonte: RIBEIRO et al., 2007.

A conformação espacial e a concentração de AG saturados estão relacionadas às altas temperaturas de fusão das gorduras, que apresentam maior estabilidade e estão menos susceptíveis à deterioração pelo processo de rancidez auto-oxidativa quando comparadas aos óleos vegetais, formados em sua maioria, por AG insaturados (VIANNI; BRAZ-FILHO, 1996; COULTATE, 2004).

A manteiga de cacau, mesmo constituída em sua maioria de AG saturados, possui ponto de fusão próximo à temperatura do corpo, devido à configuração das cadeias, que lhes confere propriedades únicas de cristalização e derretimento, essenciais na fabricação de determinados produtos (FACIOLI; GONÇALVES, 1998).

3.6 DEGRADAÇÃO LIPÍDICA

A degradação lipídica é caracterizada por complexas reações químicas entre o oxigênio atmosférico e os AG insaturados constituintes dos lipídios dos alimentos, originada durante a produção, processamento e armazenamento de óleos e gorduras, resultando em alterações indesejáveis de cor, sabor, odor e consistência dos mesmos (ARAÚJO, 1999; RIBEIRO; SERAVALLI, 2004; COULTATE, 2004).

É considerada uma grande preocupação na indústria de alimentos, pela depreciação do produto, redução do seu valor nutritivo e de suas funcionalidades

(ARAÚJO, 1999), além de comprometer a integridade e a segurança dos alimentos, podendo trazer prejuízos à saúde do consumidor, pela formação de compostos poliméricos potencialmente tóxicos (BOBBIO, BOBBIO, 1992; ANTONIASSI, 2001; OSAWA, 2005).

A degradação de lipídios presente nos alimentos pode ocorrer em função do meio e de agentes catalisadores, como: a presença de pró-oxidantes (como metais e pigmentos), luz, temperatura, enzimas, metaloproteínas, microrganismos e condições de armazenamento (SILVA, BORGES, FERREIRA, 1999; ANTONIASSI, 2001; ARAÚJO, 1999). Pode ser iniciada por três mecanismos: a foto-oxidação, a rancidez hidrolítica e a auto-oxidação ou rancidez oxidativa.

Dentre estes, a auto-oxidação, é o principal mecanismo de oxidação de óleos e gorduras. É um fenômeno complexo, puramente químico e de baixa energia de ativação, que envolve reações de formação de radical livre (RL), capaz de se autopropagar, mesmo na ausência de agentes catalisadores (RIBEIRO; SERAVALLI, 2004). Pode ser dividida em três etapas principais: iniciação ou indução, propagação e terminação (FIGURA 14).

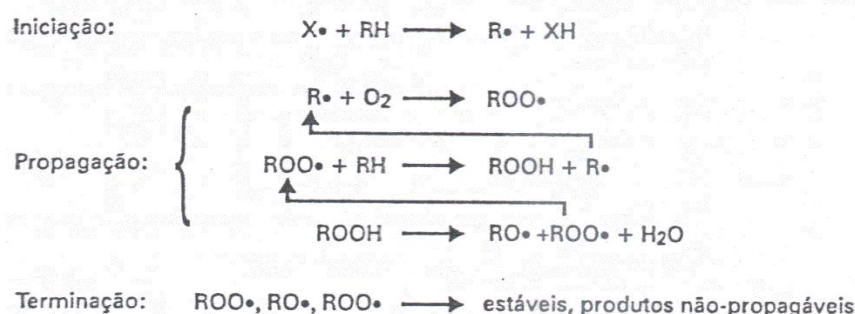


Figura 14 – Etapas das reações de rancidez oxidativa.

Fonte: COULTATE, 2004, p. 78 (adaptação).

Legenda: RH – Ácido graxo insaturado; R• - Radical Livre; ROO• - Radical peróxido; ROOH – Hidroperóxido.

O processo oxidativo inicia-se mediante condições favoráveis de luz e calor, que estimulam o oxigênio tripleto, de baixa energia, a transformar-se no oxigênio singleto, de alta energia. Esse oxigênio muito reativo, reage com a dupla ligação de AG insaturados, mudando sua configuração *cis* para *trans*, retirando um átomo de hidrogênio do grupo α -metileno, próximo à insaturação, formando um RL (R•), que

apresenta elétrons não-pareados. Esta etapa é difícil de ser definida, pela pouca formação de RL, consumo pequeno e lento de oxigênio, baixo nível de peróxidos e inalteração de aroma e sabor do alimento (ARAÚJO, 1999; OSAWA, 2005).

Na propagação, os RL ligam-se ao oxigênio atmosférico, formando radicais peróxidos ($\text{ROO}\cdot$), hidroperóxidos (ROOH) e outros RL, os quais repetem o processo, enquanto os hidroperóxidos se decompõem imediatamente, propagando reações de oxidação e a formação de grande e variada quantidade de RL. Esta etapa caracteriza-se pelo alto consumo de oxigênio, alto teor de peróxidos e início das alterações de aroma e sabor (RIBEIRO, SERAVALLI, 2004).

Os RL atingem uma concentração máxima e reagem entre si, formando produtos finais estáveis, característicos da fase de terminação, havendo redução da concentração de peróxidos e do consumo do oxigênio. Os peróxidos e hidroperóxidos formados podem sofrer ruptura, gerando compostos secundários, como cetonas, alcoóis e principalmente, aldeídos de baixo peso molecular, responsáveis por alterações intensas de sabor e odor, características do ranço, bem como pela alteração da viscosidade dos lipídios e da cor, devido à formação de polímeros de alto peso molecular (COULTATE, 2004; RIBEIRO, SERAVALLI, 2004).

A rancificação oxidativa não ocorre comumente com AG saturados, pois a formação de um RL é energeticamente desfavorável neste caso e só poderia acontecer em condições drásticas de temperatura, dificilmente encontradas em práticas normais da tecnologia de alimentos (BOBBIO, BOBBIO, 1992).

3.7 ESTABILIDADE OXIDATIVA DE ÓLEOS E GORDURAS

Óleos e gorduras vegetais, muito utilizados pela indústria alimentícia e farmacêutica, estão sujeitos a tratamentos térmicos durante o processamento. Este fato exige o desenvolvimento de métodos analíticos capazes de avaliar se as condições de processamento são compatíveis com a estabilidade térmica, oxidativa e conseqüentemente, com a qualidade destes óleos e gorduras (FARIA et al., 2002).

A estabilidade oxidativa é definida como a resistência da amostra à oxidação (ARAÚJO, 2007), sendo um parâmetro global para avaliar a qualidade de óleos e gorduras, mostrando a composição química de matrizes lipídicas e as condições a que foi submetido o produto durante o processamento e a estocagem (SILVA, BORGES, FERREIRA, 1999; ANTONIASSI, 2001).

Na tentativa de prever a vida-de-prateleira de óleos e gorduras, surgiram vários métodos de determinação da estabilidade oxidativa, pois o acompanhamento dos fenômenos naturais de oxidação seria incompatível com o controle de qualidade a nível industrial, uma vez que as alterações ocorridas durante o armazenamento são lentas, podendo desenrolar-se ao longo de vários meses. Portanto, a amostra é submetida a testes de oxidação acelerada, sob condições padronizadas, como elevação de temperatura, adição de metais, oxigenação intensiva, estocagem sob luz e agitação, que permitem estimar de forma rápida a estabilidade oxidativa da matéria graxa (ANTONIASSI, 2001; SILVA, BORGES, FERREIRA, 1999).

O método freqüentemente utilizado para caracterizar e investigar a auto-oxidação de óleos e gorduras é a análise térmica, ou seja, um grupo de técnicas que mensura a mudança de propriedades física ou química de uma substância em função da temperatura ou do tempo, enquanto essa substância é submetida a uma programação controlada de temperatura (MOTHÉ, AZEVEDO, 2002; SKOOG, HOLLER, NIEMAN, 2002).

Estas técnicas comparadas às convencionais apresentam as seguintes vantagens: precisão e maior sensibilidade, menor quantidade de amostra, não sendo necessário seu preparo prévio, além da obtenção rápida e a apresentação dos resultados em um único gráfico. Destacam-se como desvantagens destes métodos, a destruição da amostra e o alto custo dos equipamentos. A aplicabilidade da análise térmica é possível em diversas áreas como a alimentícia, farmacêutica, petroquímica, inorgânica, engenharia civil e outras (MOTHÉ; AZEVEDO, 2002).

Dentre as técnicas de análise térmica, merecem destaque a Calorimetria Exploratória Diferencial Pressurizada (PDSC), Análise Térmica Diferencial (DTA) e a Termogravimetria (TG).

3.7.1 Calorimetria exploratória diferencial pressurizada

Durante anos, a DSC (Calorimetria Exploratória Diferencial) vem sendo usada na caracterização da manteiga de cacau e outras gorduras, para controle de qualidade das mesmas e desenvolvimento de novos produtos (ESCRIVÁ, 2002). A DSC é a técnica que possibilita acompanhar os efeitos de calor associados às alterações físicas ou químicas da amostra, que envolvem processos endotérmicos (absorção de calor), exotérmicos (evolução de calor), mudanças na capacidade

calorífica como transições de fase e reações de desidratação, dissociação, decomposição, óxido-redução, dentre outros (LEIVA; CRNKOVIC; SANTOS, 2006; EPAMINONDAS, 2009). Segundo Escrivá (2002), os resultados da DSC permitem classificar os tipos de gordura segundo seu comportamento térmico (cristalização e fusão), durante resfriamento ou aquecimento controlado.

Outro método, derivado da DSC, para estimar a qualidade de óleos e gorduras por meio de parâmetros cinéticos e do período de indução oxidativo, é a PDSC, técnica eficaz, de alta reprodutibilidade e versatilidade, que utiliza uma célula de pressão acoplada ao equipamento de análise. As altas pressões empregadas na PDSC inibem a taxa de volatilização da amostra, elevando o seu ponto de ebulição e a saturação da fase líquida com o oxigênio. Isso permite o aumento da interação do gás oxidante com a amostra, possibilitando, o uso de baixas temperaturas ou tempos menores de testes às mesmas temperaturas (ARAÚJO, 2007; QIU et al., 2006; EPAMINONDAS, 2009). Essa técnica pode ser aplicada tanto em amostras de baixa e de alta estabilidade oxidativa, na modalidade não-isotérmica, que determina a temperatura de oxidação (OT), quanto no modo isotérmico, que determina o tempo de indução oxidativa (OIT). Em ambos, mensura-se a brusca variação de energia em relação à linha base do fluxo de calor (VASCONCELOS, 2009).

3.7.2 Análise térmica diferencial

A DTA é a técnica que consiste em medir a variação de temperatura entre a amostra e o material referência, quando ambos são submetidos a um programa controlado de temperatura (LEIVA; CRNKOVIC; SANTOS, 2006). As mudanças de temperatura das amostras são causadas pelas transições ou reações entálpicas (endotérmicas ou exotérmicas) que promovem alterações de fase como a fusão, sublimação, vaporização, desidratação, oxidação, redução, mudança na fase cristalina, entre outras (MOTHÉ; AZEVEDO, 2002).

As transições entálpicas, são representadas no gráfico na forma de picos, onde a temperatura inicial de fusão (T_{onset}) corresponde à temperatura que um determinado elemento cristalino começa a derreter; a temperatura máxima de pico (T_{pico}), à fusão máxima do mesmo e a temperatura final de fusão (T_{endset}) indica sua liquefação total (AFOAKWA et al., 2008). O número, forma e posição dos picos, em função da temperatura, indicam qualitativa e quantitativamente uma determinada

substância, como por exemplo, os lipídios, metais, minerais, entre outros (MOTHÉ; AZEVEDO, 2002).

3.7.3 Termogravimetria

A TG é uma técnica que permite acompanhar, detalhadamente, as alterações na massa da substância, provocadas pelo aquecimento, sendo possível estabelecer a faixa de temperatura em que esta começa a se decompor e visualizar reações de desidratação, oxidação, estabilidade térmica de matérias orgânicas e inorgânicas, bem como, a determinação do teor de umidade, fração volátil e teor de cinzas de vários materiais, entre outras reações (DANTAS, 2006).

Dentre os métodos termogravimétricos utilizados, estão: o não-isotérmico, no qual a perda de massa é registrada continuamente à medida que a temperatura aumenta; o isotérmico, onde a variação de massa é registrada em função do tempo, mantendo-se uma temperatura constante; e o quase-isotérmico, pois a temperatura é mantida constante quando se inicia a variação de massa da amostra, até que a mesma se estabilize, sendo o aquecimento recommençado e repetido em cada evento da decomposição (MACHADO et al., 1999).

Para melhor observar as informações, nem sempre nítidas nas curvas termogravimétricas, utiliza-se comumente a Termogravimetria Derivada (DTG), que corresponde à derivada primeira da curva TG. Na DTG, a variação de massa, identificada como degraus na TG, é substituída por picos que delimitam áreas diretamente proporcionais às alterações de massa da amostra (IONASHIRO, 2005), apresentando variação de massa mais visualmente acessível, levando à pronta determinação da temperatura do pico, bem como das temperaturas inicial e final de degradação da amostra (EPAMINONDAS, 2009).

3.8 ESTABILIDADE OXIDATIVA DOS LIPÍDIOS DO CHOCOLATE

Assim como qualquer outro alimento rico em gordura, constituída em sua maioria, por AG saturados, é previsível que haja uma maior estabilidade do chocolate amargo aos processos térmicos e oxidativos. No entanto, de acordo com o processamento do chocolate, sua estabilidade pode ser alterada e atestada mediante variações de temperatura e luminosidade a que são submetidas.

Pesquisas destacam os benefícios da utilização da DSC como uma ferramenta ideal para identificar as características da amostra, assim como, alterações de processamento, permitindo o controle de qualidade do produto (ROBINSON; SICHINA, 2000; WALTER; CORNILLON, 2002).

Escrivá (2002) avaliou a estabilidade térmica das manteigas extraídas de várias espécies de *Theobroma*, sendo possível a análise da T_{onset} das manteigas, permitindo a obtenção dos comportamentos de fusão similares ao da manteiga de cacau, criando possibilidades futuras para sua substituição no chocolate.

Em estudos realizados mediante a análise por DSC, foi comparado o comportamento polimórfico da manteiga de cupuaçu ao da manteiga de cacau, sendo encontradas semelhanças como a preferência de cristalização nas formas IV e V (mais estáveis), quando submetidas ao mesmo tratamento térmico, sugerindo a substituição parcial ou total da gordura de cacau pela de cupuaçu na fabricação do chocolate (LUCCAS; KIECKBUSCH, 2006).

Ao observarem as formulações de chocolates amargos modificadas quanto a granulometria, teor de gordura e lecitina, Afoakwa et al. (2008) verificaram pela técnica DSC, que não houve variações em suas T_{onset} e de T_{pico} , no entanto, chocolates com partículas mais finas, maiores teores de gordura e menor teor de lecitina, apresentaram tempos mais longos e altas T_{endset} .

Afoakwa et al. (2009b) usaram ainda três diferentes tempos de temperagem para a produção do chocolate amargo e verificaram modificações na distribuição e tamanho dos cristais formados nos chocolates. Mas ao analisar os picos obtidos pelo DSC, concluíram que o perfil de fusão dos açúcares se manteve inalterado e que o perfil lipídico apresentou níveis semelhantes em todos os produtos, com T_{onset} , T_{endset} e de T_{pico} semelhantes e a presença de cristais β' e β em todos os chocolates.

A maior estabilidade aos processos térmicos e oxidativos do chocolate foi demonstrada por Faria e Silva (2009), ao observarem o comportamento térmico das amostras de chocolate sujeitas a um tratamento térmico ($T=40\text{ }^{\circ}\text{C}$) e à temperatura ambiente, em análises realizadas por TG e DSC. Constatou-se, em ambos os casos, a estabilidade térmica do chocolate até cerca de $200\text{ }^{\circ}\text{C}$, sendo a temperatura inicial de degradação do chocolate tratado termicamente de $216\text{ }^{\circ}\text{C}$, enquanto que o chocolate mantido a temperatura ambiente, começou a se degradar a $217\text{ }^{\circ}\text{C}$.

3.9 ANÁLISE SENSORIAL

Análise sensorial é um método científico usado para medir, analisar, quantificar e interpretar as reações e características dos alimentos, que possam ser percebidas pelos sentidos do paladar, visão, olfato, tato e audição (ANZALDÚA-MORALEZ, 1994).

Nos últimos anos, a análise sensorial enquadrou-se na categoria de disciplina científica, com a mesma importância de outras análises (análises físicas, químicas e microbiológicas), tendo como objetivos principais a avaliação da qualidade e da vida de prateleira do produto, além de verificar seu êxito no mercado. Para sua aplicação são indispensáveis a seleção da matéria-prima, padronização de métodos e otimização de formulações para o desenvolvimento, aprovação, ou melhoramento de produtos, tornando-se assim, uma ferramenta básica da indústria de alimentos (ANZALDÚA-MORALEZ, 1994).

A técnica sensorial tem sido muito usada na análise de chocolates, visando atender a demanda por produtos de alta qualidade, pois os consumidores estão mais exigentes, buscando novos tipos de chocolates com atributos diferenciados, como o aroma floral e frutado e sabores salgado, amargo ou picante. Dentre os novos tipos de chocolate, verifica-se a busca por aqueles com teores mais elevados de cacau e conseqüentemente de flavonóides, não apenas pelos benefícios à saúde, mas também pelo sabor particular, cada vez mais apreciado (EFRAIM, 2009).

A determinação da aceitação pelo consumidor é parte decisiva no processo de desenvolvimento ou melhoramento de produtos, podendo o grau de aceitabilidade ser afetado por diversos fatores próprios do indivíduo (EFRAIM, 2009). Entre os métodos sensoriais empregados para avaliar o chocolate comercializado, estão o teste de aceitação e o teste de ordenação, usados pela facilidade de interpretação dos julgadores e da obtenção de resultados.

No teste de aceitação, o provador utiliza uma escala hedônica, para expressar a aprovação do produto, segundo uma escala previamente estabelecida que varia entre os termos “gosta e desgosta”, enquanto que no teste de ordenação, o julgador compara as amostras e expressa sua preferência, segundo escala de intensidade do atributo de interesse, permitindo comparar e calcular a diferença entre as amostras e a significância dessa diferença (CHAVES; SPROSSER, 2001; FARIA; YOTSUYANAGI, 2002).

4 METODOLOGIA

As análises experimentais desta pesquisa foram realizadas no Campus I da Universidade Federal da Paraíba (UFPB), nos seguintes laboratórios: Laboratório de Combustíveis e Materiais (LACOM), situado no Departamento de Química do Centro de Ciências Exatas e da Natureza (DQ/ CCEN), Laboratório de Bioquímica dos Alimentos e Laboratório Análise Sensorial, situados no Departamento de Tecnologia Química e de Alimentos do Centro de Tecnologia (DTQA/ CT) e Laboratório de Bromatologia, situado no Departamento de Nutrição do Centro de Ciências da Saúde (DN/ CCS).

4.1 AMOSTRAGEM E DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Foram adquiridos, em estabelecimentos comerciais da cidade de João Pessoa – PB, três lotes distintos de três marcas de chocolate amargo com 70% de cacau em sua formulação, existentes no mercado no período da pesquisa, sendo duas delas nacionais e uma importada, cujas características podem ser vistas no Quadro 2.

Seis barras de chocolate, de cada marca, foram utilizadas para a realização da análise sensorial, enquanto duas barras de chocolates, de cada lote, foram raladas em ralador doméstico, e posteriormente, submetidas à técnica de quarteamento, permitindo a formação de duas subamostras, sendo uma descartada e outra, acondicionada em recipientes de plástico com tampa, para ser utilizada em análises posteriores, conforme mostrado na Figura 15. As análises foram realizadas em triplicata, para cada amostra analisada.

Amostras	Porção (g)	V.E (kJ)	Ptn (g)	HC (g)	Gord. (g)	Gord. Saturada(g)	Fibras (g)	Na (mg)
A	10	223,2	0,8	3,0	4,3	2,7	1,1	0,0
B	10	237	0,8	3,1	4,5	2,7	1,5	1,0
C	8	188	0,6	2,7	3,3	2,1	0,6	0,5

Quadro 2 – Dados nutricionais presentes no rótulo dos chocolates utilizados na pesquisa.

Legenda: V. E. – valor energético; Ptn – proteínas; HC – carboidratos; Gord. – gordura; Na - sódio

Fonte: O autor (2010).

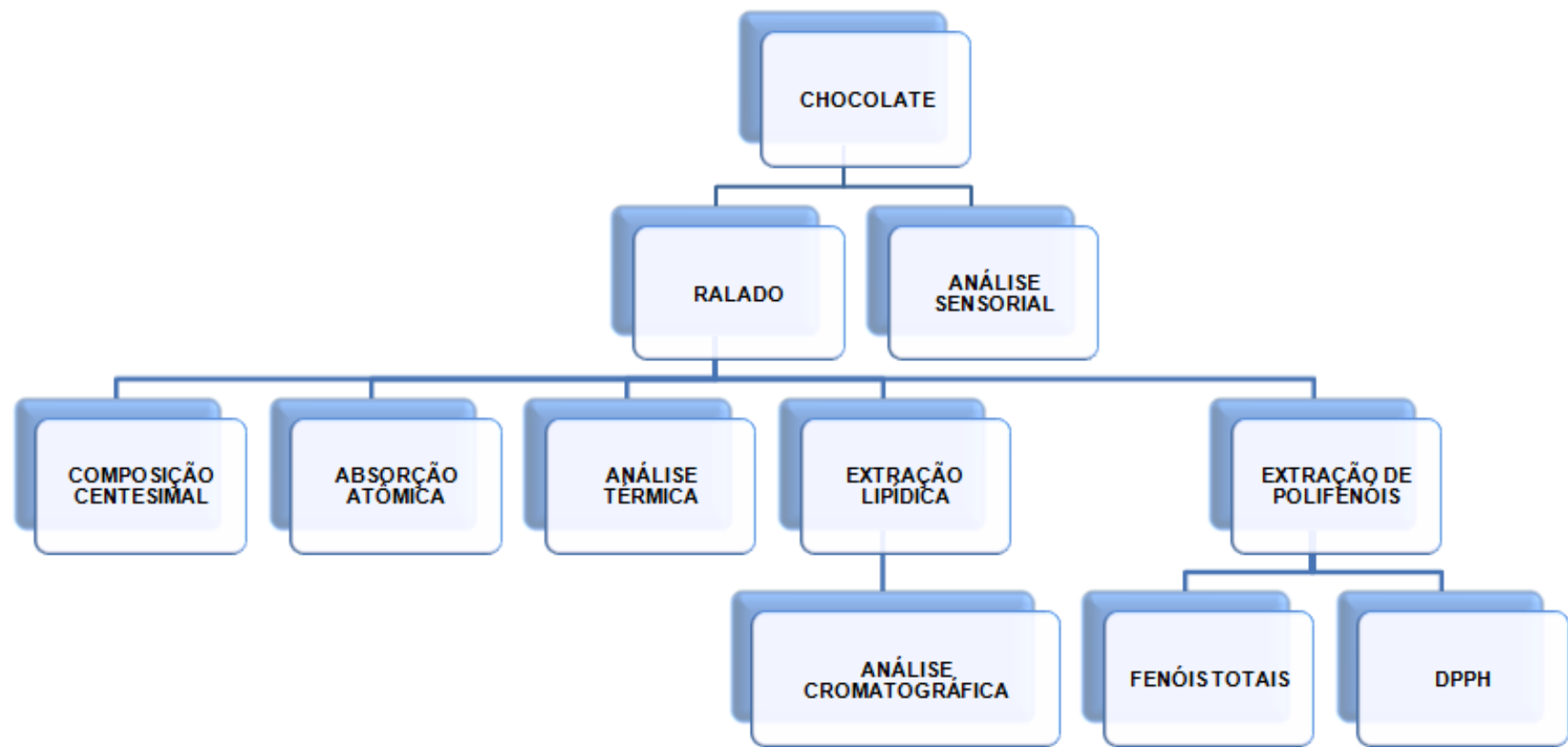


Figura 15 – Delineamento experimental com chocolates amargos.
Fonte: O autor (2010).

4.2 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DOS CHOCOLATES

4.2.1 Determinação do teor de umidade

O teor de umidade das amostras foi determinado pelo método de dessecação direta de 3 g das amostras por secagem em estufa (marca Quimis) a 105 °C, até peso constante (BRASIL, 2008 - 012/IV).

4.2.2 Determinação de cinzas

Para obtenção do Resíduo Mineral Fixo (RMF), mais comumente chamado de cinzas, foi necessária a destruição da matéria orgânica contida em 3 g de amostra, submetida à carbonização total em manta aquecedora, seguida de incineração em forno mufla a 550 °C, até peso constante (BRASIL, 2008 - 018/IV).

4.2.3 Determinação de proteínas

As proteínas foram determinadas a partir da quantificação do nitrogênio total contido em 0,5 g da amostra, pelo método de Kjeldahl (BRASIL, 2008 - 036/IV), cujo fator indicado para conversão de nitrogênio a proteína bruta do chocolate foi de 6,25.

4.2.4 Determinação de lipídios

O teor de lipídios foi determinado pelo método de Bligh e Dyer (1959), que consiste em uma extração a frio com a mistura dos solventes clorofórmio, metanol e água, na proporção de 1:2:0,8, respectivamente. Após diluição de 2,5 g da amostra pelos solventes e centrifugação (centrífuga Sigma), ocorreu a formação de duas camadas: a inferior, de clorofórmio, contendo os lipídios e a superior, metanólica, com os compostos não lipídicos. A quantidade de lipídios nas amostras foi determinada em uma alíquota de 5 mL do extrato de clorofórmio, submetida à estufa (marca Quimis) a 105 °C por 1 hora, para evaporação completa do solvente. Após resfriamento, em dessecador sob vácuo, procedeu-se a pesagem.

4.2.5 Determinação de carboidratos solúveis totais

Foi utilizado o método descrito por Yemn e Willis (1954) que constou da reação, em tubo de ensaio, de 1 mL do extrato etanólico da amostra (0,5 g da amostra dissolvida em 100 mL de etanol 80%, posteriormente filtrada, com retirada de uma alíquota de 10 mL, para 100 mL de solução, da qual foi retirada 5mL para 100mL de solução, ambas com água destilada), com 2 mL de solução de antrona (0,2 g de antrona em ácido sulfúrico concentrado, para 100 mL de solução), submetidos ao resfriamento em banho de gelo, seguido de aquecimento em banho-maria fervente, por 8 minutos e posterior resfriamento. A leitura da absorbância das amostras foi feita em espectrofotômetro UV-visível (UV-2550, Shimadzu) a 620 nm. A quantificação de carboidratos totais foi feita por comparação das absorbâncias das amostras às da curva de padrão, obtida por concentrações conhecidas de glicose (5 a 50 µg/mL), a partir de uma solução padrão de glicose (100 µg/mL).

4.2.6 Determinação de fibras totais

O teor de fibras totais foi deduzido por diferença, a partir do somatório dos teores de umidade, cinzas, proteína, lipídios e carboidratos totais, subtraídos de 100, conforme a fórmula:

$$\text{Fibras totais (\%)} = 100 - (\% \text{ umidade} + \% \text{ RMF} + \% \text{ proteínas} + \% \text{ lipídios} + \% \text{ carboidratos solúveis totais})$$

4.2.7 Quantificação de minerais

4.2.7.1 Determinação de fósforo

O método descrito por Rangana (1979) para determinar o teor de fósforo das amostras de chocolates, consta da reação, em balões volumétricos de 50 mL, de 0,5 mL da solução de cinzas de cada chocolate, adicionados de 5 mL da solução de molibdato de amônio, 2 mL da solução de ácido 1 amino – 2 naftol – 4 sulfônico e água destilada, para aferir o volume do balão. Após 10 minutos de repouso, a leitura

da absorbância das soluções foi realizada em espectrofotômetro UV-visível (UV-2550, Shimadzu) a 650 nm. A quantificação de fósforo foi feita pela comparação das absorbâncias das amostras às da curva de padrão, obtida por concentrações conhecidas de fósforo (0,0; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0 mL), a partir de uma solução padronizada de fosfato (0,02 mg/mL).

4.2.7.2 Espectrofotometria de absorção atômica

A metodologia adotada para a determinação dos minerais (cálcio, ferro, potássio, magnésio, sódio e cobre), foi descrita por Silva (2005), tendo as seguintes adaptações: pesou-se 0,6 g e 5 g das subamostras, para a determinação dos minerais mais e menos concentrados nos chocolates, respectivamente (FIGURA 16).

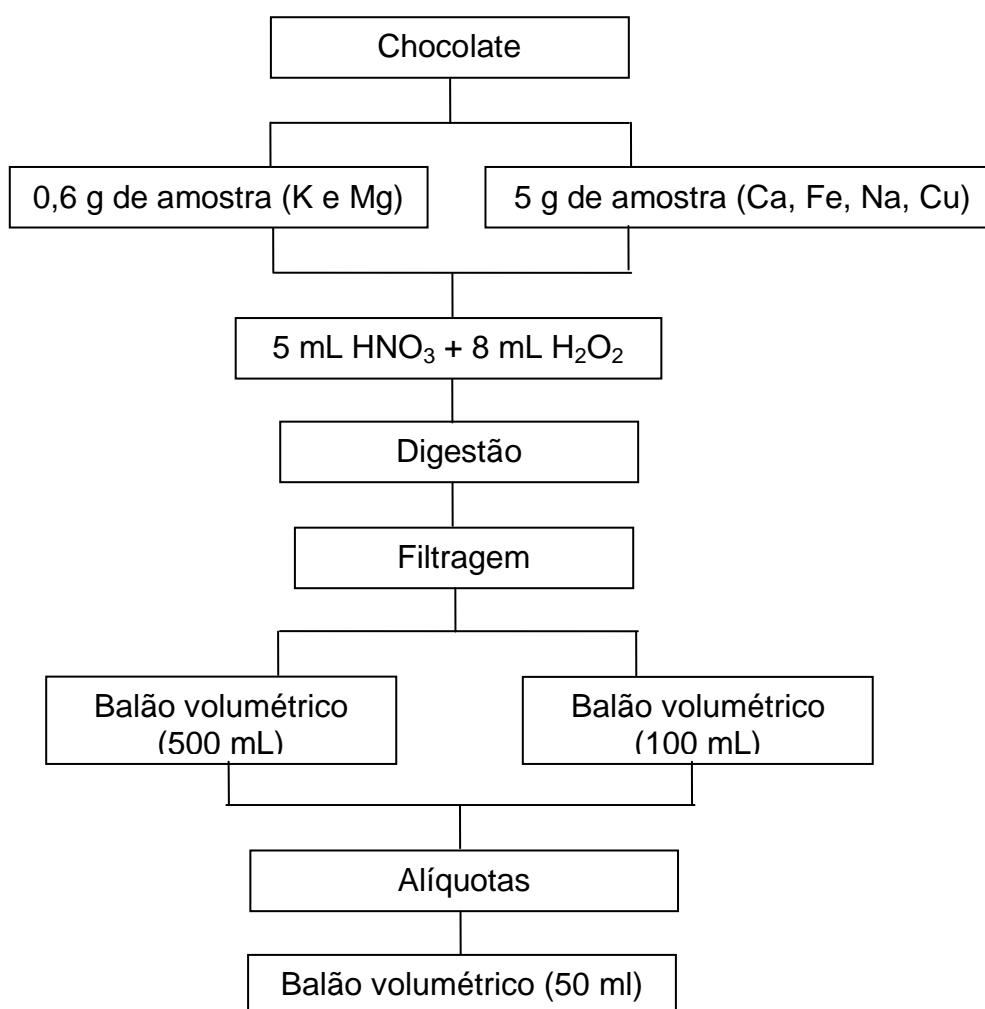


Figura 16 – Tratamento da amostra para análise de minerais.
Fonte: O autor (2010).

As amostras foram transferidas para tubos de Kjeldahl e adicionadas de 5 mL de solução de HNO₃ e 8 mL H₂O₂, sendo posteriormente colocadas no bloco digestor, que teve sua temperatura aumentada gradualmente (50, 100 e 150°C) a cada 30 minutos. Após permanecer por 2 horas a 150 °C, os extratos foram resfriados em temperatura ambiente e filtrados para balões volumétricos de 500 mL e 100 mL, respectivamente, sendo seus volumes aferidos e em seguida, agitados. Das soluções contidas nesses balões, retiraram-se diferentes alíquotas, de acordo com o mineral a ser quantificado, que foram transferidas e diluídas em balões volumétricos de 50 mL, sendo esse material injetado e analisado em triplicata, em espectrômetro de emissão atômica com chama, da marca Shimadzu (modelo AA 6300). A composição da chama foi de acetileno (vazão de 1,8 L.min⁻¹) e de ar (vazão de 15 L.min⁻¹) e a altura do queimador de 7 mm. As medidas de absorvância foram realizadas usando lâmpadas com os seguintes comprimentos de onda (nm): 422,7 (Ca); 248,3 (Fe); 285,2 (Mg); 766,5 (K); 324,80 (Cu); 589,0 (Na). O teor de minerais foi determinado a partir da curva de calibração de cinco pontos, construída com solução padrão (marca Merck) dos mesmos (QUADRO 3). Todas as aferições, diluições e curvas padrões dos metais foram feitas utilizando água ultra pura.

Minerais	Concentração da solução padrão (µg/50mL)		Coeficiente de Correlação (R ²)
	SP ₁	SP ₅	
Ca	25	200	0,9977
Fe	25	200	0,9944
Mg	20	100	0,9932
K	25	150	0,9986
Cu	5	75	0,9997
Na	15	75	0,9979

Quadro 3 – Concentração dos padrões utilizados para análise quantitativa dos minerais e os respectivos coeficientes de correlação.

Legenda: SP₁ – solução padrão de menor concentração, SP₅ – solução padrão de maior concentração.

Fonte: O autor (2010).

4.2.8 Caracterização lipídica do chocolate

A parte lipídica dos chocolates amargos foi submetida à análise cromatográfica, visando-se comparar o perfil lipídico das amostras, determinando a

composição em AG das mesmas, avaliando assim, o padrão de qualidade das barras de chocolate amargo comercializadas.

4.2.8.1 *Extração lipídica do chocolate*

A análise foi efetuada utilizando-se 20 g da subamostra de chocolate de cada lote, colocados em funil de separação e adicionados de 200 mL de hexano, de acordo com a metodologia adaptada de Hammerstone et al. (1999). Após misturar e decantar, o sobrenadante, rico em lipídios, foi recolhido, e o procedimento de extração repetido por mais duas vezes. Em seguida, o líquido coletado foi colocado em um rotavapor Marconi (MA120), a 60 °C por 45 minutos, para a recuperação do solvente, sendo a gordura remanescente recolhida em vidros âmbar (FIGURA 17) e submetida à temperatura de congelamento, para sua maior conservação.



Figura 17 – Armazenamento da gordura de chocolate em vidros âmbar.

4.2.8.2 *Preparação dos ésteres metílicos*

Os ésteres metílicos dos lipídios do chocolate foram obtidos de acordo com a metodologia de Hartman e Lago (1973), que consiste na saponificação de 5 mL do extrato lipídico do chocolate, em um balão de fundo chato de 125 mL e adição de 4 mL de hidróxido de potássio metanólico (agente hidrolizante), sendo a mistura aquecida em refluxo por 4 minutos, até dissolução dos glóbulos de gordura.

Adicionou-se ao balão, 7,5 mL da solução de esterificação, aquecendo o balão em refluxo por 3 minutos. Após resfriamento, o conteúdo do balão foi

transferido para um funil de separação e adicionado de 12,5 mL de éter etílico e 25 mL de água destilada. O conteúdo foi agitado e lavado, até a separação de duas fases e desprendimento total de vapor.

A fase inferior da solução foi transferida para um segundo funil de separação, repetindo-se o procedimento. No segundo funil, a fase inferior foi descartada e a fase superior transferida para o primeiro funil de separação, para a repetição do processo, sendo o conteúdo restante lavado com água por mais três vezes e a fase inferior desprezada. A parte superior é então filtrada, em papel de filtro contendo sulfato de sódio anidro, para um vial, que fica aberto para a evaporação de parte do solvente. Após isso, acrescentou-se 1 mL de hexano ao frasco, deixando-o em repouso para a total separação das fases. Uma alíquota foi coletada do sobrenadante e injetada no cromatógrafo.

4.2.8.3 Identificação e quantificação dos ésteres metílicos dos ácidos graxos

A identificação e quantificação dos ésteres metílicos foi realizada por cromatografia gasosa (CG), em cromatógrafo (modelo CG-Master) e pelo programa PeakSimple II (SRI Instruments), respectivamente. No cromatógrafo utilizou-se uma coluna com fase estacionária contendo polietileno glicol (Carbowax 20M) com 30 m de comprimento, 0,53 mm de diâmetro interno e 0,5 μm de espessura de filme. Foi aferido 1 mL de amostra para 10 mL de solvente, na proporção de 1:10. O gás de arraste utilizado foi o hidrogênio, em vazão de 5 mL min^{-1} e volume de microinjeção de 1 μL , com modo de injeção *split* e razão de divisão de 1:10. A programação de temperatura da coluna foi iniciada em 50 °C e finalizada em 170 °C, sendo sua razão de aquecimento igual a 7 °C min^{-1} , tempo inicial de 3 minutos e tempo final de 10 minutos, totalizando 30 minutos de análise para cada amostra.

As temperaturas do injetor e do detector foram de 200 e 230 °C, respectivamente. A identificação dos AG foi feita por comparação com os tempos de retenção dos ésteres metílicos de AG fornecidos pela Sigma, sendo os percentuais dos AG determinados com base na área relativa de cada pico, em função da área total dos picos identificados.

4.2.9 Análise térmica dos chocolates amargos

Análises termogravimétricas e calorimétricas foram realizadas com as subamostras dos chocolates amargos. Para isso, pesou-se aproximadamente 10 mg de chocolate em cadinho de alumina, sob atmosfera de ar sintético, com vazão de fluxo de 50 mL min⁻¹ e razão de aquecimento de 20 °C min⁻¹.

As análises de TG, DTG e DTA foram realizadas em uma termobalança (Shimadzu modelo DTG-60H *Simultaneous DTA-TG Apparatus*), a uma faixa de temperatura de 25 a 700 °C, pelo método não-isotérmico.

4.2.10 Análise oxidativa dos chocolates amargos

As análises de PDSC foram realizadas em um analisador térmico DSC Q1000, utilizando-se *Module DSC Standart Cell*, a uma faixa de temperatura de 50 a 600°C, pelo método não-isotérmico.

Para isso, pesou-se 10 mg dos chocolates amargos, em cadinho de platina, os quais foram colocados sob atmosfera de oxigênio puro, com vazão de fluxo de 50 mL min⁻¹ e razão de aquecimento de 10°C min⁻¹.

4.2.11 Análise dos compostos fenólicos do chocolate amargo

4.2.11.1 Extração dos compostos fenólicos

Após a retirada do sobrenadante rico em lipídios, utilizado na análise de extração lipídica (**seção 4.2.8.1**), o decantado restante foi filtrado, em funil de Buckner acoplado a um kitassato, para que o excesso de solvente (hexano) fosse aspirado. Posteriormente, foram pesados 100 mg de amostra desengordurada, em tubos de centrífuga, aos quais acrescentou-se 5 mL de solução de acetona 70%, como descrito na metodologia de Amerine e Ough (s.d.) e modificado por Efraim et al. (2006). Os tubos vedados foram agitados por 20 minutos a 4 °C e centrifugados a 4200 rpm, em centrífuga refrigerada (marca Hitachi). O líquido sobrenadante (extrato do chocolate) foi armazenado em vial com tampa e submetido à temperatura de refrigeração, para sua melhor conservação. As alíquotas desse material foram

utilizadas na determinação de fenólicos totais e avaliação da atividade seqüestradora do radical livre 1,1-difenil-2-picril-hidrazina (DPPH●).

4.2.11.2 Determinação dos fenólicos totais

O teor de fenólicos totais foi determinado pelo método de Folin-Ciocalteu, empregando-se o ácido gálico como composto fenólico padrão. Essa técnica foi descrita por Gulcin et al. (2004) e teve as seguintes modificações: uma alíquota de 50 µL dos extratos dos chocolates foi transferida para um balão volumétrico de 5 mL e adicionada de 100 µL do reagente de Folin-Ciocalteu e 3 mL de água destilada, que foram agitados por 1 minuto. Em seguida, foi acrescentado à mistura 300 µL de Na₂CO₃ (15%), sendo o volume aferido para 5 mL com água destilada e agitado por 30 segundos. Após 2 horas, foi realizada a leitura da absorvância das amostras a 760 nm, em espectrofotômetro UV-visível (UV-2550, Shimadzu).

As análises foram realizadas em nove replicatas para cada marca e o teor de fenólicos totais foi determinado pela equação de regressão linear a partir da curva de calibração construída com solução padrão de ácido gálico (0,5 a 50 µg/mL) e expressos em miligramas de equivalente a ácido gálico por grama de chocolate (mg EAG/g) considerando-se Erro Padrão da Média (E.P.M), para análise entre marcas. A equação da curva de calibração de ácido gálico foi: $A = 0,1298 C + 0,114$ com o coeficiente de correlação de $r^2=0,9968$ onde C é a concentração de ácido gálico e A é a absorvância a 760 nm.

4.2.11.3 Análise da atividade antioxidante

Para análise da capacidade antioxidante dos chocolates foi utilizado o teste DPPH, uma técnica rápida e simples, baseada na redução do radical orgânico DPPH● (1-difenil-2-picril-hidrazina), que apresenta o máximo de absorção a 515-520 nm.

Após a abstração do radical hidrogênio do antioxidante em estudo, é possível observar uma diminuição da absorvância e da coloração das soluções (BERTOLDI, 2006; ALEZANDRO, 2009), como demonstrado na Figura 18.

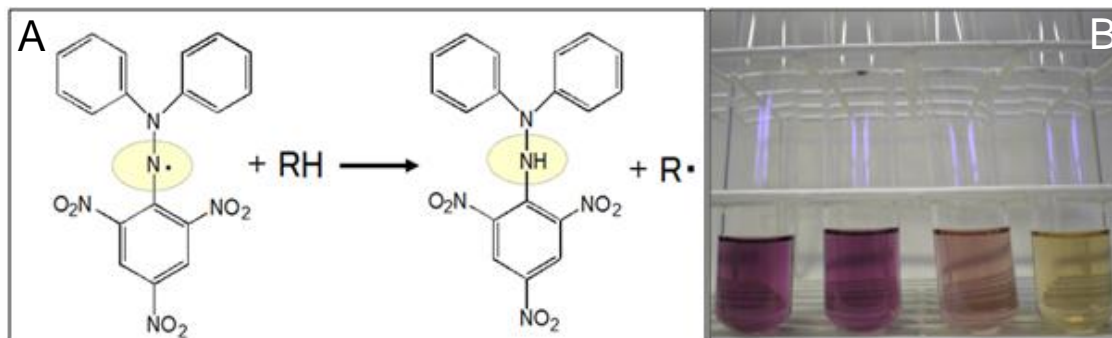


Figura 18 – Estabilização do radical livre DPPH por um antioxidante R (A) e a descoloração das soluções resultantes dessa estabilização e da concentração do antioxidante (B).

Fonte: RUFINO et al., 2007 (adaptação).

O metodologia utilizada foi descrita por Silva et al. (2006) e executada com poucas modificações. Como a concentração de compostos antioxidantes varia de amostra para amostra, foram necessários testes prévios, nos quais se utilizou 200 e 400 μL dos extratos dos chocolates, a 20 mg/mL. Após triagem preliminar, quantidades apropriadas dos extratos foram transferidas para balões volumétricos de 5 mL, adicionados de 3 mL de DPPH• (23,6 $\mu\text{g}/\text{mL}$ em etanol) e aferidos com etanol, fornecendo concentrações finais que variaram 100 a 1200 $\mu\text{g}/\text{mL}$, sendo cada concentração testada em nove replicatas. Após 30 minutos de agitação em aparelho de ultra-som (Unique, modelo usc 1400), a quantidade de radicais DPPH• foi medida em espectrofotômetro UV-Visível (UV-2550, Shimadzu) em comprimento de onda de 517 nm. A porcentagem da atividade seqüestradora (% AS) foi calculada conforme a equação:

$$(\% \text{ AS}) = 100 \times (A_{\text{branco}} - A_{\text{amostra}}) / A_{\text{branco}}$$

O A_{branco} corresponde à absorbância da solução que contém apenas o radical DPPH• e álcool etílico, enquanto a A_{amostra} é a absorbância do radical na presença dos extratos ou do padrão ácido ascórbico.

A eficiência antirradicalar dos chocolates amargos foi estabelecida utilizando a análise de regressão linear no intervalo de confiança de 95% obtido pelo programa estatístico GraphPad Prism 5.0. Os resultados, expressos pelo $\text{EC}_{50} \pm \text{E.P.M.}$, para análise entre marcas, foram definidos como a quantidade do antioxidante ou da amostra necessária para reduzir em 50% a concentração inicial de DPPH, obtendo-se a metade da atividade seqüestradora máxima. Os extratos são considerados

ativos quando apresentam $EC_{50} < 500 \mu\text{g/mL}$ (CAMPOS et al., 2003). Como controle positivo foi utilizado o ácido ascórbico.

4.3 AVALIAÇÃO SENSORIAL DOS CHOCOLATES AMARGOS

Para a realização da avaliação sensorial, por se tratar de um estudo que envolve seres humanos, inicialmente a pesquisa foi submetida ao Comitê de Ética do Hospital Universitário Lauro Wanderley, da Universidade Federal da Paraíba e aprovada com número de protocolo 423/10 (ANEXO A), sendo o estudo realizado conforme os preceitos da Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde, estando entre eles o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (APÊNDICE A).

A avaliação sensorial das amostras foi determinada pelo teste de aceitação e teste de ordenação-preferência, de acordo com Stone e Sidel (1993) e Meilgaard, Civille e Carr (1999), respectivamente.

Foi realizado o recrutamento dos provadores com antecedência e selecionado um grupo de 57 provadores, tendo como critério o consumo do chocolate amargo, bem como, a disponibilidade e o interesse do consumidor em participar da avaliação. Esse grupo foi composto por docentes, estudantes da graduação e pós-graduação e funcionários da UFPB, sendo 67% do gênero feminino e 33% do gênero masculino, com faixa etária compreendida entre os 17 e 50 anos.

Os chocolates amargos constituídos de 70% de cacau foram transportados até o local da análise em caixas isotérmicas, para um maior controle da temperatura ($25 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$). Foi utilizada a décima parte de um tablete de 100 g, ou seja, 10 g de chocolate amargo, servidos em pratos descartáveis, brancos, confeccionados em plástico atóxico. As amostras foram devidamente codificadas com três dígitos definidos de forma casual e apresentadas aos provadores em ordem aleatória, acompanhadas da ficha de avaliação sensorial, um copo com água mineral e guardanapo de papel, em cabines individuais, próprias para testes sensoriais, sob luz branca.

Os provadores foram orientados a fazer a ingestão da água para neutralizar e/ou lavar a cavidade oral, antes e entre as degustações das amostras, para evitar a influência de uma amostra sobre a outra.

No teste de aceitação, as amostras apresentadas em blocos completos casualizados, foram julgadas quanto aos atributos aparência, cor, aroma, sabor,

textura, intensidade de amargor e a avaliação global, utilizando-se escala hedônica estruturada de 9 pontos, ancorada nos pontos desgostei muitíssimo (1) e gostei muitíssimo (9), como mostrado na Figura 19.

No teste de ordenação foi solicitada aos julgadores, a ordem decrescente das amostras, segundo sua preferência (FIGURA 20).

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAIBA – UFPB
CENTRO DE TECNOLOGIA - CT
PROGRAMA DE POS-GRADUAÇÃO EM CIENCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS PPGCTA

Teste de Aceitação

Nome _____ Idade _____ Ocupação _____

Você esta recebendo 3 amostras codificadas de chocolate amargo com 70% de cacau. Prove- as da esquerda para direita, e indique o quanto você gostou ou desgostou de cada um dos atributos sensoriais do produto, dando nota de acordo com a escala abaixo.

Espera 30 segundos antes de consumir a próxima amostra e utilize a água entre cada avaliação. Atente para a sequência dos atributos, analisando primeiro a aparência, cor e odor, e em seguida, os outros atributos.

9) Gostei muitíssimo	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Atributos</th> <th colspan="3">Nº das Amostras</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Aparência</td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Cor</td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Aroma</td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Textura</td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Sabor</td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Intensidade do Amargor</td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Avaliação Global</td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table>	Atributos	Nº das Amostras			Aparência				Cor				Aroma				Textura				Sabor				Intensidade do Amargor				Avaliação Global			
Atributos		Nº das Amostras																															
Aparência																																	
Cor																																	
Aroma																																	
Textura																																	
Sabor																																	
Intensidade do Amargor																																	
Avaliação Global																																	
8) Gostei muito																																	
7) Gostei moderadamente																																	
6) Gostei ligeiramente																																	
5) Nem gostei/ Nem desgostei																																	
4) Desgostei ligeiramente																																	
3) Desgostei moderadamente																																	
2) Desgostei muito																																	
1) Desgostei muitíssimo																																	

Obrigada!

Figura 19– Ficha de avaliação sensorial utilizada no teste de aceitação de chocolates amargos 70%.

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAIBA – UFPB
CENTRO DE TECNOLOGIA - CT
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS PPGCTA

Teste de Ordenação – Preferência

Nome _____ Idade _____ Ocupação _____

Você esta recebendo 3 amostras codificadas de chocolate amargo com 70% de cacau . Prove-as segundo as instruções abaixo:

Avalie cada uma delas, da esquerda para a direita e ordene-as em ordem decrescente. Faça uma primeira ordenação e em seguida, para confirmar a sequência desejada.

	Mais Preferida	—————>	Menos Preferida
Posto	1º Lugar		3ºLugar
Nº da Amostra			

Comente que características mais apreciou na amostra preferida e as que não apreciou na amostra menos preferida.

Obrigada!

Figura 20– Ficha de avaliação sensorial utilizada no teste de ordenação-preferência de chocolates amargos 70%.

4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados obtidos nas análises foram compilados em planilhas eletrônicas e submetidos à análise da variância (ANOVA) e os tratamentos estatisticamente diferentes foram comparados pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Para o tratamento estatístico, foram utilizados os *softwares Sigma Stat*, versão 3.1 e *GraphPad Prism* versão 5.0 (GraphPad Inc.).

Os dados obtidos a partir das curvas TG e DTA foram inicialmente tratados utilizando-se os programas *TA 60* e *TA Universal Analysis 2000*, respectivamente, sendo posteriormente plotados por meio do programa *Origin8*, o qual também foi utilizado para plotar as curvas de PDSC.

Aos resultados da avaliação sensorial, encontrados no teste de aceitação foi aplicada a ANOVA e teste de Tukey a 5% de probabilidade, para comparação das médias, enquanto que no teste de ordenação-preferência, os resultados foram analisados de acordo com o teste de Friedman, utilizando-se a Tabela de Newell Mac Farlane (FARIA; YOTSUYANAGI, 2002).

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 CARACTERIZAÇÃO DOS CHOCOLATES AMARGOS

5.1.1 Composição química

Os valores médios das análises de composição química dos chocolates amargos podem ser observados na Tabela 4.

Tabela 4 – Composição química dos chocolates amargos.

ANÁLISE	MARCAS		
	A	B	C
Umidade (%)	1,82 ^a ± 0,08	1,77 ^a ± 0,22	0,93 ^b ± 0,12
RMF ¹ (%)	2,25 ^a ± 0,06	1,97 ^b ± 0,02	2,14 ^c ± 0,06
Proteína ² (%)	10,68 ^a ± 0,29	10,63 ^a ± 0,17	8,57 ^b ± 0,91
Lipídios (%)	43,01 ^c ± 0,55	44,00 ^a ± 0,69	39,34 ^b ± 0,61
Carboidratos Solúveis Totais (%)	35,52 ^b ± 2,67	32,57 ^b ± 1,38	41,48 ^a ± 2,28
Fibras Totais ³ (%)	4,61 ^c ± 0,50	9,07 ^a ± 1,29	7,54 ^b ± 1,45

Letras diferentes na mesma linha indicam diferença estatística ao nível de $p < 0,05$ no teste de Tukey ($n=9$).

¹ RMF - Resíduo Mineral Fixo.

² O fator de conversão de nitrogênio em proteínas utilizado foi de 6,25.

³ Teor de fibras totais determinado por diferença.

A, B e C – Marcas de chocolate amargo - 70%.

As médias dos teores de lipídios e fibras totais foram superiores para as amostras da marca B, enquanto que as amostras A e C apresentaram maiores teores de RMF e carboidratos solúveis totais, respectivamente. Dentre as amostras, as marcas A e B se destacaram pelo teor médio de proteína em relação à marca C. Os resultados obtidos mostraram que as três amostras são ricas em lipídios e carboidratos, conforme descrito por Farah (2008).

Os teores médios de umidade encontrados para A, B e C foram inferiores à faixa de umidade referida por Genovese e Lannes (2009) (1,93 a 3,05%) para chocolates amargos, demonstrando que as amostras eram mantidas em boas

condições de armazenamento, evitando o aparecimento do *sugar bloom* (GRUNENVALDT, 2009) e preservando assim, a qualidade do produto.

Entre as amostras, o teor médio de cinzas (resíduo mineral fixo) variou de 1,97% a 2,25%, resultados superiores aos obtidos por Vissoto et al. (1999) (0,93 a 1,52%) e por Genovese e Lannes (2009) (1,30%), sugerindo um alto teor de minerais, contido nos chocolates analisados, como mostrado na **seção 5.1.2**.

Em relação aos teores protéicos, as amostras A, B e C tiveram resultados superiores aos informados por seus respectivos fabricantes (7,7%; 8,0% e 7,2%,) e aos valores descritos por Vissoto et al. (1999) (4,6% a 8,31%), por Al-Faris (2008) (6,3%) e por Pascual, Valls e Solà (2009) (4,2% a 7,8%), utilizando-se fator de conversão de 6,25. As amostras por apresentarem um teor protéico alto, proporcionam uma quantidade razoável de peptídeos e aminoácidos como histidina, tirosina, metionina e cisteína, que possuem capacidade antioxidante (JALIL; ISMAIL, 2008) e de triptofano, que estimula os receptores da serotonina, melhorando o humor e atividade mental (BATISTA, 2008).

Os teores lipídicos médios das amostras A, B e C foram elevados comparados aos de Vissoto et al. (1999) e de Pascual, Valls e Solà (2009) (32,8% e 30,6%, respectivamente), mas corroboraram os teores informados em seus rótulos. O alto teor lipídico das amostras pode está relacionado ao processo de maturação do fruto, a sua origem genética e as condições climáticas a que foram submetidas (QUAST, 2008).

Foi verificado ainda, um maior conteúdo de açúcares solúveis totais das marcas A e C, quando comparadas ao rótulo do produto analisado (30% e 32%, respectivamente), mas no geral, as amostras tiveram concentrações glicídicas inferiores as de Mursu et al. (2004) (46%) e de Pascual, Valls e Solà (2009) (60%). Quanto às fibras, a amostra C foi a única que confirmou as informações trazidas no rótulo, apresentando as demais amostras, teores abaixo dos descritos pelos fabricantes (11% e 15,3%, respectivamente).

Para Luccas (2001) e Oliveira (2005), as alterações genéticas, fatores ambientais, o tipo de processamento aplicado às sementes do cacau, que difere entre os fabricantes de chocolate são fatores que podem contribuir para alterações na composição química chocolate, podendo variar mais significativamente de acordo com o acréscimo de massa e liquor do cacau e com a adição de outras matérias-primas não derivadas do cacau à formulação.

5.1.2 Quantificação de minerais

Os valores médios da análise da composição mineral dos chocolates amargos podem ser observados na Tabela 5.

Tabela 5 – Composição mineral dos chocolates amargos.

MINERAL ¹	MARCAS		
	A	B	C
Cálcio	60,72 ^a ± 6,03	47,08 ^b ± 8,05	50,11 ^b ± 7,12
Ferro	7,89 ^b ± 0,40	6,63 ^c ± 0,31	14,78 ^a ± 1,18
Fósforo	227,00 ^a ± 10,47	225,23 ^a ± 9,75	179,63 ^b ± 7,96
Magnésio	282,89 ^a ± 18,40	130,68 ^b ± 8,83	56,12 ^c ± 22,60
Potássio	122,16 ^b ± 25,80	353,90 ^a ± 5,41	364,22 ^a ± 75,81
Cobre	1,46 ^b ± 0,12	1,68 ^a ± 0,09	1,23 ^c ± 0,30
Sódio	7,56 ^b ± 1,17	7,58 ^b ± 0,41	10,52 ^a ± 2,33

¹Resultados expressos em mg/100 g de chocolate amargo (n=9 e Desvio Padrão).

Letras diferentes na mesma linha indicam diferença estatística ao nível de p<0,05 no teste de Tukey. A, B e C – Marcas de chocolate amargo - 70%.

A marca A apresentou os valores de cálcio e magnésio superiores às outras amostras, enquanto os níveis de ferro e sódio foram elevados na marca C e os níveis de cobre, na marca B. As amostras A e B se destacaram ainda pelo teor médio de fósforo e as amostras B e C, pelo teor de potássio. Os dados obtidos demonstram que as três amostras de chocolate amargo são ricas em micronutrientes, possuindo um aporte mineral maior que dos outros tipos de chocolates.

Os teores médios de cálcio e ferro para as três marcas foram superiores aos relatados por Steinberg, Bearden e Keen (2003) (32 mg e 2,2 mg, respectivamente), sendo a média de cálcio da amostra A similar ao referido por Pascual, Valls e Solà (2009) (63 mg/100 g). Quanto ao fósforo, todas as amostras apresentaram valores médios compreendidos entre 167 a 287 mg/100 g, concentração citada por Pascual, Valls e Solà (2009). O teor de magnésio foi elevado nas amostras A e B, ultrapassando a média encontrada por Steinberg, Bearden e Keen (2003) (115 mg).

As concentrações médias de potássio das marcas B e C foram semelhantes às citadas por Steinberg, Bearden e Keen (2003) (355 mg) e as de cobre, em todas as amostras, foram inferiores as de Santos et al. (2005) (2,6 mg), ao analisar o cacau em pó por espectrometria de absorção atômica com chama.

Os teores médios de sódio, encontrados para a amostra B, aproximaram-se das informações trazidas no rótulo do produto (8 mg/100 g), apresentando as demais amostras, A e C, médias muito superiores as das informações de seus fabricantes (0 mg e 6,4 mg, respectivamente). Entretanto, o valor encontrado para a amostra C assemelhou-se à média obtida por Steinberg, Bearden e Keen (2003) (10,91 mg) para os chocolates amargos.

A composição de minerais difere entre as amostras estudadas, no entanto, elas merecem atenção especial, por conterem quantidades adequadas ou superiores de dois ou mais minerais, responsáveis pelo fortalecimento do sistema imunológico (ferro) e pela redução das DCV (cálcio, fósforo, magnésio, potássio e cobre), em especial da hipertensão, com ressalva para o conteúdo de sódio.

5.1.3 Caracterização do perfil lipídico dos chocolates

Os perfis de AG dos chocolates amargos estão demonstrados na Tabela 6 e seus respectivos cromatogramas, ilustrados na Figura 21 e no Apêndice B.

Os lipídios extraídos dos diferentes lotes apresentaram teores de AG saturados variando de 60,6 a 66,7% e de insaturados variando de 33,4 a 39,5%, sendo perceptível uma pequena diferença significativa da marca A em relação às outras marcas ($p < 0,05$). Valores semelhantes foram encontrados na manteiga de cacau, onde os AG saturados ficaram entre 60,0 e 64,6%, e os insaturados, entre 34,2 e 40,2% (LUCCAS, 2001; RUSCHEINSKY, 2005; QUAST, 2008). Nas amostras analisadas, os AG monoinsaturados apresentaram valores que variaram de 29,9 a 36,1%, enquanto o teor de poli-insaturados, de 3,1 a 4,9%. Estes valores foram superiores aos encontrados por Cohen e Jackix (2004), que foram de 25,4 e 1,94%, respectivamente, ao analisarem manteiga de cacau.

Os principais AG encontrados na composição dos chocolates foram: palmítico (C16:0), esteárico (C18:0), oléico (C18:1) e linoléico (C18:2). A marca C apresentou maiores teores de ácido palmítico (média de 30%) e a marca A se destacou pela concentração de ácido oléico (média de 34%) quando comparados às outras

marcas. Em relação aos outros AG, não houve diferença significativa entre as amostras ($p < 0,05$).

Segundo Grimaldi, Gonçalves e Esteves (2000), os produtos com teores acima de 20% de ácido palmítico, podem conter óleos de palma e/ ou algodão, e geralmente possuem boa plasticidade e uma maior tendência de cristalização da gordura na forma β' , que possui ponto de fusão inicial entre 27 e 35 °C, confirmando o comportamento térmico da maioria dos chocolates das três marcas, com destaque para marca C, como mostrado na **seção 5.1.4** e no Apêndice C.

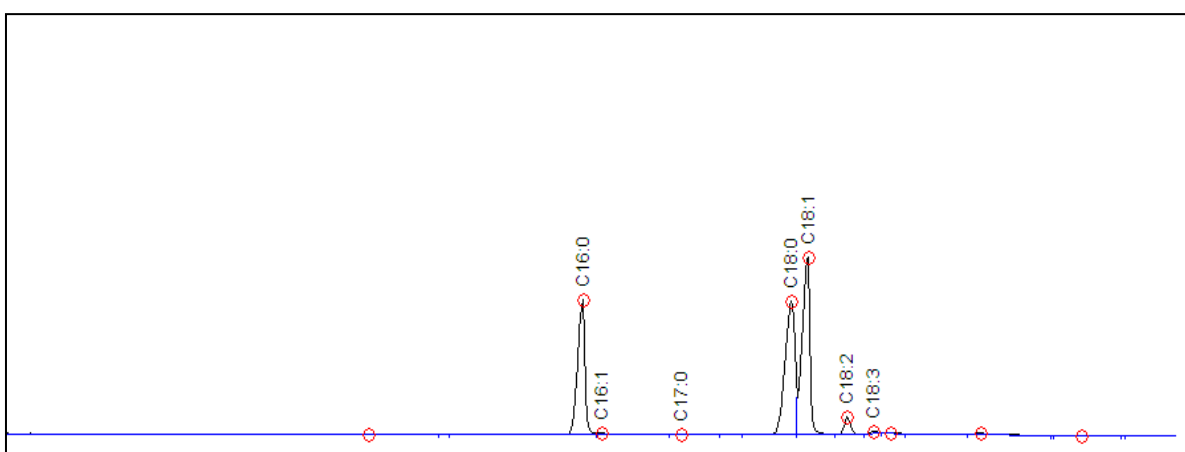


Figura 21 – Cromatograma do chocolate amargo A (lote 1).

O ácido oléico é o principal AG monoinsaturado do chocolate. De acordo com Cohen e Jackix (2004), o alto teor desse AG é o principal responsável pela maciez da gordura.

Outros AG foram identificados em menor escala, como o palmitoléico, que teve resultado semelhante aos de Cohen e Jackix (2004) (0,7%) e Quast (2008) (0,3%). Os ácidos mirístico e linolênico apresentaram maior teor àqueles encontrados por Quast (2008) (0,08% e 0,2%, respectivamente). Entretanto, a concentração do ácido araquídico foi inferior a de Cohen e Jackix (2004) (0,6%).

Tabela 6 – Concentração dos principais ácidos graxos presentes nos chocolates amargos.

ÁCIDOS GRAXOS	A ₁ (%)	A ₂ (%)	A ₃ (%)	B ₁ (%)	B ₂ (%)	B ₃ (%)	C ₁ (%)	C ₂ (%)	C ₃ (%)
Ácido octanóico (C8:0)	n.d	n.d	n.d.	0,1	0,1	0,1	n.d.	0,1	0,1
Ácido decanóico (C10:0)	n.d	n.d	n.d.	0,2	0,2	0,2	0,1	0,2	0,2
Ácido láurico (C12:0)	n.d	n.d	n.d.	0,2	0,2	0,2	0,1	0,2	0,2
Ácido mirístico (C14:0)	n.d	n.d	0,2	0,9	1,0	0,9	0,3	0,7	0,9
Ácido pentadecanóico (C15:0)	n.d	n.d	0,2	0,1	0,3	0,1	0,1	0,1	0,1
Ácido palmítico (C16:0)	25,8	27,2	25,7	26,9	26,7	28,1	30,4*	30,5*	28,3*
Ácido margárico (C17:0)	0,2	0,3	0,5	0,3	0,2	0,3	0,2	0,3	0,4
Ácido esteárico (C18:0)	34,7	33,1	35,1	37,8	34,8	34,5	34,2	34,1	33,7
Ácido araquídico (C20:0)	n.d	n.d.	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
TOTAL SATURADOS	60,7	60,6	61,9	66,7	63,7	64,6	65,6	66,4	64,1
Ácido miristoléico (C14:1)	n.d	n.d.	n.d.	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1
Ácido palmitoléico (C16:1) n-7	0,7	0,1	0,4	0,4	0,5	0,6	n.d.	0,7	0,5
Ácido oléico (C18:1) n-9	35,4*	35,5*	32,9*	29,7	32,3	31,6	30,1	29,0	31,2
TOTAL MONOINSATURADOS	36,1	35,6	33,3	30,2	32,9	32,3	30,2	29,9	31,8
Ácido linoléico (C18:2) n-6	2,8	3,2	2,8	2,9	2,6	2,7	2,9	2,5	2,7
Ácido alfa-linolênico (C18:3) n-3	0,4	0,7	2,1	0,3	0,8	0,4	1,3	1,2	1,4
TOTAL POLI-INSATURADOS	3,2	3,9	4,9	3,2	3,4	3,1	4,2	3,7	4,1
SATURADOS	60,7*	60,6*	61,9*	66,7	63,7	64,6	65,6	66,4	64,1
INSATURADOS	39,3*	39,5*	38,2*	33,4	36,3	35,4	34,4	33,6	35,9

* Houve diferença significativa para os AG saturados e insaturados, quando aplicado o teste de Tukey ($p < 0,05$).

n.d. – não detectado.

A, B e C – Marcas de chocolate amargo - 70%.

Além disso, AG não característicos da manteiga de cacau também foram identificados em pequenas quantidades. No entanto, os valores encontrados são insuficientes para detectar adulterantes da manteiga de cacau nas amostras de chocolate amargo, sendo necessários métodos complementares de análise para essa determinação, como por exemplo, a determinação dos triglicerídeos.

5.1.4 Estabilidade térmica e oxidativa dos chocolates amargos

As curvas termogravimétricas e os dados obtidos a partir destas, referentes ao estudo de variação de massa e de estabilidade térmica dos chocolates amargos, encontram-se representadas na Tabela 7, na Figura 22 e no Apêndice C. Foi observado na Tabela 7 e na Figura 22, um perfil termogravimétrico semelhante para todas as amostras, mesmo após o armazenamento, apresentando cada uma delas cinco etapas comuns de variação de massa na TG, sete etapas na DTG e sete transições na DTA.

A primeira etapa, analisada em todas as marcas e respectivos lotes, a cada 15 dias até o sexagésimo dia de armazenamento, é caracterizada por um evento endotérmico, como demonstrado nas curvas DTA (FIGURA 22 e APÊNDICE C), ocasionado pela desidratação das amostras. Foi observado o início de perda de massa em temperaturas que variaram de 22 a 35 °C, terminando em temperaturas que variaram de 129 a 137 °C, conforme a amostra analisada (TABELA 7 e APÊNDICE C). Notou-se uma perda de massa de 0,45% a 1,66%, resultados próximos aos obtidos pelo método gravimétrico tradicional para determinação de umidade (0,93% a 1,82%) (TABELA 4), sendo o método termogravimétrico considerado mais preciso.

Nessa etapa, ainda foi verificado que a perda de umidade está associada à fusão da fração lipídica contida nas amostras e formada por diversos cristais polimórficos. Essa fusão é ilustrada nas curvas DTA, com a variação de T_{onset} e T_{endset} de 22 a 35 °C e 45 a 63 °C, respectivamente e T_{pico} variando entre 37 e 46 °C, de acordo com o tempo de armazenagem. Essas condições foram similares para T_{onset} (22 a 32 °C) e superiores às T_{endset} (28 a 49 °C) e T_{pico} (27 a 33 °C), identificadas por Afoakwa et al. (2009a) e Afoakwa et al. (2009b).

Variações na T_{pico} dos lipídios podem ser explicadas pela granulometria e tempo de temperagem a que o chocolate foi submetido, composição dos seus AG,

que são, na sua maioria, saturados (**seção 5.1.3**), adição de óleos vegetais em sua formulação (**seção 5.1.3**), assim como, pela formação de cristais polimórficos mais estáveis (β VI) durante períodos mais longos de armazenamento (GRIMALDI; GONÇALVES; ESTEVES, 2000; AFOAKWA et al., 2009a). O conjunto desses fatores pode influenciar diretamente na textura e no sabor do produto final (ROBINSON; SICHINA, 2000; FARIA; SILVA, 2009).

Mesmo os chocolates sendo de marcas e lotes diferentes, foi constatado um comportamento térmico similar entre eles. Estas similaridades são consequência de um processo de temperagem semelhantes dos fabricantes, que pode resultar em uma textura equivalente entre as amostras, a qual pôde ser comprovada pela avaliação sensorial realizada e descrita na **seção 5.2**. Entretanto, mesmo com comportamento térmico semelhante ao das outras marcas, a amostra C, possui um deslocamento maior das curvas de TG, devido a sua composição rica em AG saturados (APÊNDICE B), identificado por CG, na **seção 5.1.3**, que resultam em uma maior estabilidade térmica desse chocolate, evidenciada também no PDSC (**seção 5.1.5**).

O segundo evento endotérmico observado na curva DTA (FIGURA 22 e APÊNDICE C) refere-se à fusão dos açúcares contidos nas amostras, que apresentam T_{pico} entre 188 e 193 °C, corroborando os dados descritos por Afoakwa et al. (2009b), cujas T_{pico} variaram entre 186 e 188 °C. Esses dados também estão de acordo com os descritos por Coultate (2004), para o ponto de fusão da sacarose compreendido entre 160 e 190 °C. A perda de massa ocorrida nessa fase, compreendida entre 0,55% a 1,88% para as três marcas (TABELA 7 e APÊNDICE C), corresponde à liberação da água de cristalização, observada durante a fusão dos carboidratos (RAEMY, 2003).

Também nota-se que as temperaturas finais correspondentes à segunda etapa de variação de massa, nas curvas de TG e DTG, são semelhantes à temperatura descrita por Farias e Silva (2009) (~200 °C). As três amostras variaram entre 190 e 198 °C, em todas as etapas do armazenamento, indicando que esses chocolates, quando processados em temperaturas menores que 198 °C, não possuem variação de massa ou oxidação significativa dos compostos orgânicos, mantendo suas características e propriedades funcionais, assim como sua estabilidade termo-oxidativa. Essa qualidade pode está relacionada à ação protetora

das substâncias antioxidantes presentes nos chocolates, sejam elas representadas por compostos fenólicos ou não fenólicos, como descrito na **seção 5.1.6 e 5.1.7**.

Tabela 7 - Dados termogravimétricos da amostra A₁ de chocolate amargo a 70%, em atmosfera oxidante (ar sintético) até 700 °C.

Amostra	T.A.	Etapa	T _{inicial} (°C)	T _{final} (°C)	Δ massa (%)	T _{pico} DTA(°C)	Transição
A ₁	T ₀	1	26,85	130,72	0,97	42,90	endo
		2	130,72	190,44	1,28	189,43	endo
		3	190,44	260,19	16,43		
		4	260,19	448,87	60,20	440,84	exo
		5	448,87	699,78	19,19		
	T ₁₅	1	32,17	130,82	0,57	42,90	endo
		2	130,82	191,61	1,35	190,12	endo
		3	191,61	263,86	16,85		
		4	263,86	448,22	60,96	439,75	exo
		5	448,22	700,34	18,19		
	T ₃₀	1	32,38	130,05	0,77	42,84	endo
		2	130,05	190,35	1,73	190,35	endo
		3	190,35	260,61	16,38		
		4	260,61	448,49	61,70	434,03	exo
		5	448,49	699,54	17,16		
	T ₄₅	1	31,22	131,00	0,43	43,69	endo
		2	131,00	190,87	1,76	191,87	endo
		3	190,87	260,72	16,29		
		4	260,72	449,31	60,46	441,82	exo
		5	449,31	700,26	18,82		
	T ₆₀	1	29,14	130,83	0,71	44,55	endo
		2	130,83	190,91	1,36	189,37	endo
		3	190,91	260,63	16,39		
		4	260,63	448,58	60,44	436,26	exo
		5	448,58	699,71	18,73		

Legenda: T.A. – Tempo de armazenamento; Endo – Endotérmica; Exo – Exotérmica.

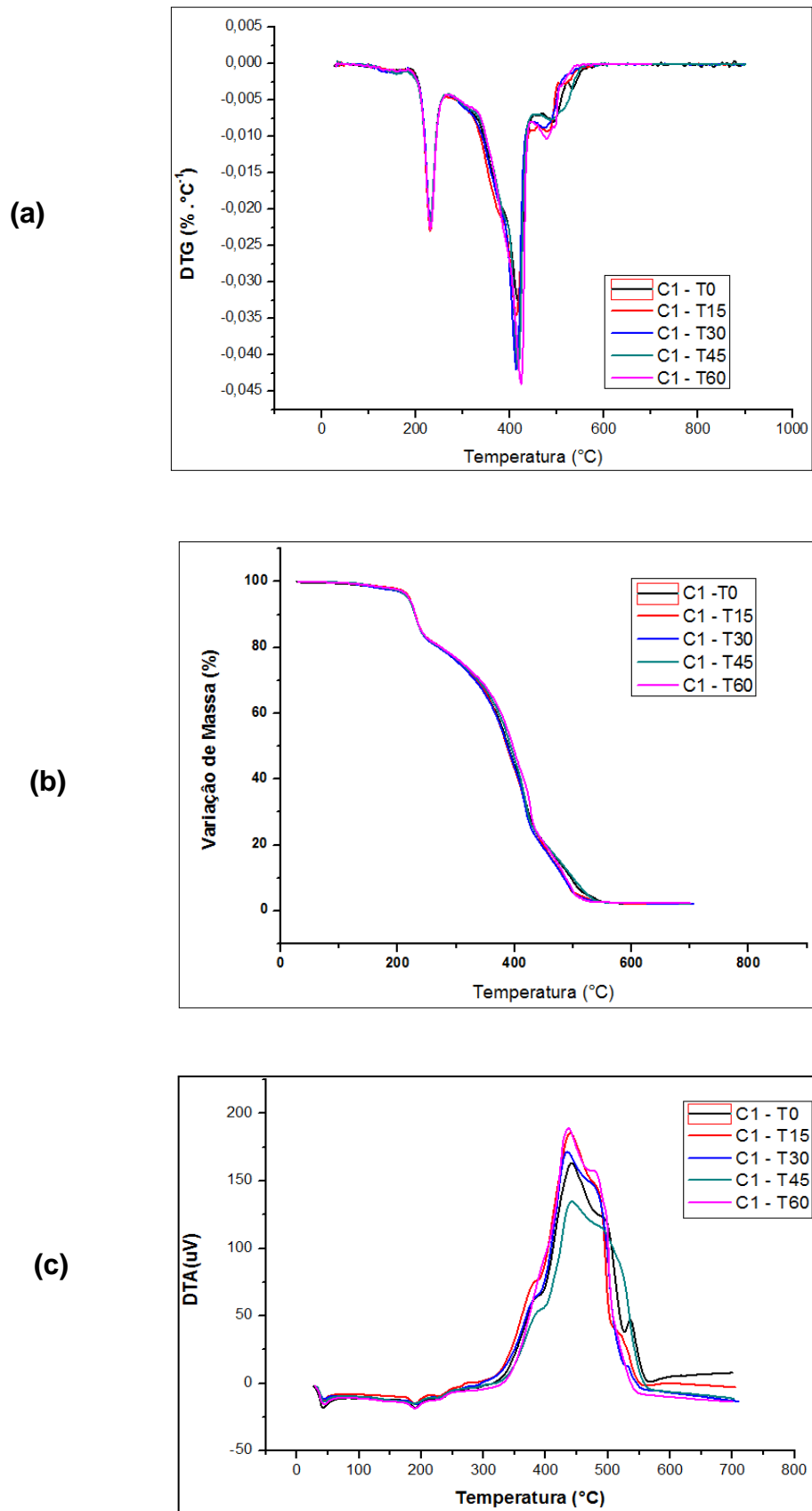


Figura 22 – Curvas DTG (a), TG (b) e DTA (c) do chocolate amargo da marca A (lote 1), em atmosfera oxidante (ar sintético), até 700 °C.

A partir da terceira etapa de variação de massa, inicia-se o processo de perda do valor nutricional do chocolate, identificado por um evento exotérmico, conforme demonstrado na curva de DTA (FIGURA 22 e APÊNDICE C), característico do processo de decomposição térmica da matéria orgânica presente nas amostras. As amostras entram em processo de combustão, sugerida pela grande variação de massa das amostras na curva de TG (TABELA 7), conseqüência da ruptura das moléculas de lipídios, proteínas e carboidratos solúveis e estruturais (fibras), principalmente. No entanto, para avaliar o comportamento destas moléculas, é necessária uma avaliação termogravimétrica isolada de cada um desses compostos.

Nas Tabelas 4 e 8 e o Apêndice D notou-se uma variação do conteúdo de cinzas das amostras, que variou entre 1,97% e 2,25%, no método convencional de determinação de cinzas (BRASIL, 2008), e entre 0,69% e 2,41%, quando determinado pelo método termogravimétrico.

Tabela 8 - Resíduos das amostras de chocolate amargo, marca A (lote 1) em atmosfera oxidante (ar sintético) até 700 °C.

Amostra	T.A	Resíduo (cinzas) (%)
A ₁	T ₀	1,94
	T ₁₅	2,08
	T ₃₀	2,26
	T ₄₅	2,25
	T ₆₀	2,38

Legenda: T.A. – tempo de armazenamento.

Na maioria das amostras, houve uma redução dos valores encontrados pelo método termogravimétrico, quando comparados ao método convencional (APÊNDICE D). Essa redução pode ser justificada pela maior precisão da termogravimetria e pela temperatura de varredura a qual as amostras foram submetidas, pois no método convencional, que se estende até 550 °C, os elementos minerais, como ferro, cálcio, magnésio e outros, definidos pela análise absorção atômica na **seção 5.1.2** (TABELA 5), constituem as cinzas, ficando sob forma de sulfatos, carbonatos, fosfatos, silicatos e cloretos, dependendo das condições de incineração e da composição do alimento (CECCHI, 2003). Já no método termogravimétrico, que se estendeu até 700 °C, essas substâncias são decompostas

em seus respectivos óxidos, ocorrendo uma diminuição dos teores de cinzas obtidos pela termogravimetria.

Com exceção do erro de análise verificado com a amostra B₂, no 30º dia de armazenamento (APÊNDICE C), algumas pequenas discordâncias foram notadas nos resultados das três marcas, quando comparado o método termogravimétrico ao convencional, ocorridas, provavelmente, pela heterogeneidade dos ingredientes acrescentados ao chocolate e pela quantidade relativamente pequena das amostras usadas nas análises (10,0 a 10,9 mg) (SILVA et al., 2001).

5.1.5 Análise oxidativa dos chocolates amargos

O perfil das curvas PDSC de cada chocolate está apresentado na Figura 23 e os dados referentes aos seus comportamentos calorimétricos, na Tabela 9, que evidencia as temperaturas iniciais de oxidação (OT_i) e as temperaturas *onset* de oxidação (OT_{onset}).

Neste estudo, assim como no de Epaminondas (2009), por se tratar de um produto com fins alimentícios, considerou-se mais coerente a determinação da estabilidade oxidativa dos chocolates a partir da temperatura inicial de oxidação (OT_i), sendo mais conveniente analisar os parâmetros correspondentes ao início do processo oxidativo, do que os relacionados à etapa em que há um aumento brusco da temperatura e a formação de produtos da oxidação (OT_{onset} obtida a partir da extrapolação da tangente à curva).

Após execução das curvas PDSC dinâmicas (FIGURA 23 e APÊNDICE E), pode ser observado na Tabela 9, que os chocolates possuem OT_i em torno de 128 °C, próxima da temperatura relatada por Raemy (2003) (100 °C), indicando o início do processo oxidativo dos lipídios. Além disso, identificam-se as T_{pico} , similares entre as amostras A e B (203 °C) e aumentada para a mostra C (207 °C).

A técnica PDSC, método dinâmico, além de mostrar a OT das amostras de chocolate, mostra também as transições endotérmicas ou exotérmicas de cada amostra. As curvas das amostras apresentaram comportamentos semelhantes durante as transições exotérmicas inicial e final, no entanto as amostras A e B apresentam duas 2 transições exotérmicas, enquanto a marca C, possui três transições (TABELA 9 e FIGURA 23).

Tabela 9 - Dados calorimétricos (PDSC) dos chocolates amargos em atmosfera oxidante (O₂ puro), pelo método não-isotérmico (OT_i e OT_{onset}).

Amostra	OT _i (°C)	OT _{onset} (°C)	T _{pico1} (°C)	OT _{onset} (°C)	T _{pico2} (°C)	OT _{onset} (°C)	T _{pico2} (°C)	OT _{endset}
A	127,9	184,2	203,6	224,4	454,8	-	-	249,1
B	129,0	185,1	203,8	219,1	467,4	-	-	239,2
C	127,7	184,4	207,1	222,9	235,8	251,7	447,9	272,9

OT_i – Temperatura inicial de oxidação; OT_{onset} - Temperatura de oxidação (propagação), T_{pico} – temperatura de pico, OT_{endset} – Temperatura final de oxidação.

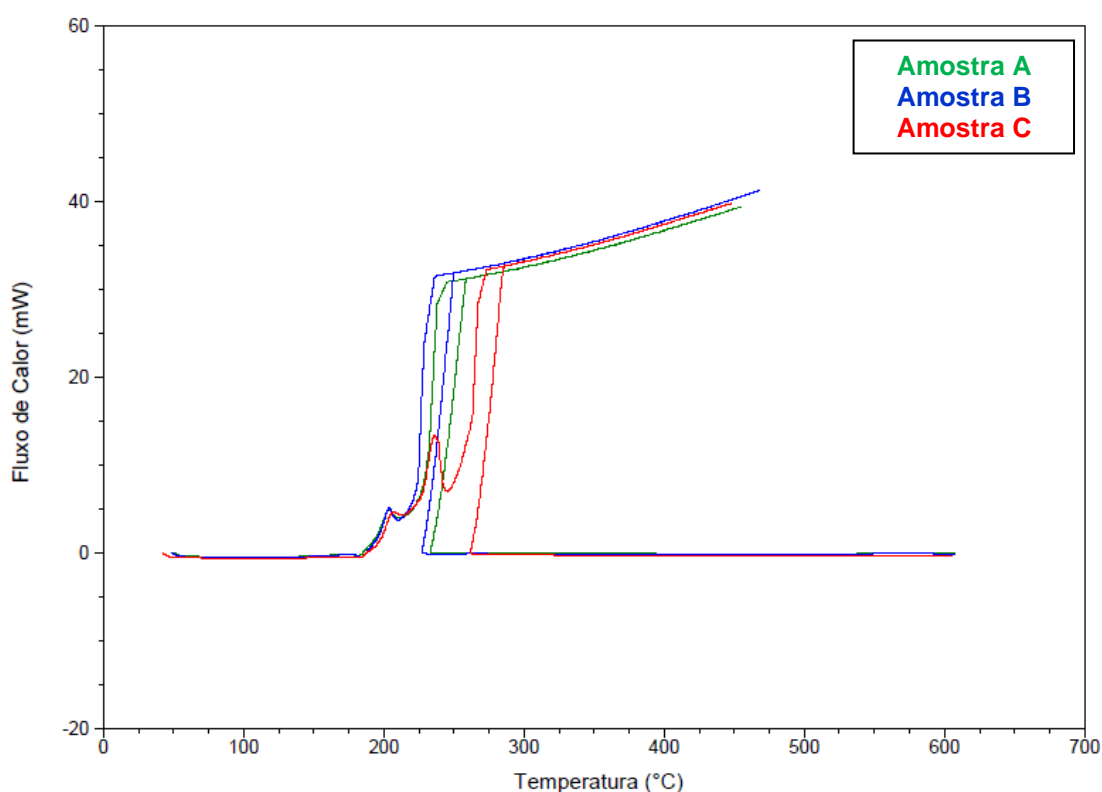


Figura 23 – Sobreposição das curvas PDSC dinâmico dos chocolates amargos comerciais.

O primeiro evento exotérmico pode ser atribuído ao processo de oxidação, seguida da polimerização da cadeia longa cadeia de AG (TAVARES, 2009). A última transição, que ocorre em média a 220 °C para as amostras A e B e, a 251 °C para a marca C, corresponde a um processo de combustão espontânea da matéria orgânica, ocasionada por um aumento brusco de temperatura (447 a 467 °C) e total degradação das amostras. As OT_{endset}, variaram entre 239 e 272 °C de acordo com

a mostra analisada e foram menores que as T_{pico} devido à grande liberação de energia durante a combustão.

Na Tabela 9, é verificado que a curva dos chocolates A e B apresentam T_{pico1} inferior à amostra C, supostamente pela oxidação acelerada dos AG insaturados, devido à maior concentração de O_2 , que se liga as suas insaturações, aumentando tanto o poder de oxidação quanto o de combustão. A marca A apresentou a OT_{onset} e a T_{pico1} ainda menor em relação a marca B, que podem ser atribuídas a sua concentração de AG oléico, linoléico e linolênico (WANG; WANG, 2008), que juntos somam 39%, como visto na **seção 5.1.3**.

Observando a Figura 23 e a Tabela 9, é possível identificar um maior deslocamento da curva da amostra C em relação às outras, assim como a uma maior $T_{\text{pico 1}}$ e a completa oxidação da amostra, após a formação de três eventos exotérmicos. Esses dados corroboram o comportamento de lipídios com alto teor AG saturados, como a amostra C, que se destacou pelo seu alto índice de saturação (65,4%), determinado pela técnica de CG (**seção 5.1.3**) e pela sua maior estabilidade oxidativa em relação aos outros chocolates.

5.1.6 Determinação dos fenólicos totais

O teor de fenólicos totais dos chocolates amargos variou entre $153 \pm 2,57$ a $215 \pm 3,89$ mg EAG/100 g (miligramas de equivalentes de ácido gálico por 100 g de chocolate), como mostrado na Figura 24. Quando comparadas e submetidas ao teste Tukey, a marca C apresentou diferença significativa em relação às outras ($p < 0,05$). A diminuição do teor de polifenóis da amostra C, em relação às outras, pode está relacionada à sua menor concentração protéica (Tabela 5), indicando uma possível relação entre proteínas e conteúdo de polifenóis, como descrito por Schumacher (2008).

Os resultados encontrados para as marcas A e B foram superiores aos relatados por Steinberg, Bearden e Keen (2003) para chocolates amargos (média de 170 mg EAG/ 100g). Entretanto o valor de todas as marcas mostrou-se inferior ao teor de fenólicos totais para chocolates amargos em geral referido por Pascual, Valls e Solà (2009) (299,5 mg EAG/100 g) e por Genovese e Lannes (2009) (680 ± 38 mg EAG/100 g) em chocolates do tipo amargo, produzidos com gordura de cupuaçu. As marcas A, B e C ainda tiveram resultados muito aquém aos de Miller et al. (2006),

que relacionou diferentes marcas de chocolate amargo comercializados nos Estados Unidos (1230 ± 0.10 a 1488 ± 0.37 mg EAG/100 g).

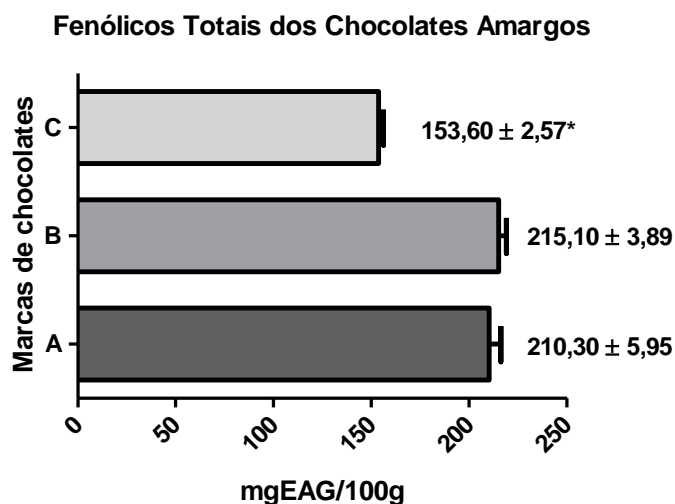


Figura 24 - Fenólicos totais em mg EAG/100 g das três marcas de chocolate amargo \pm E.P.M. (n=9).
* Houve diferença significativa da marca C em relação às outras marcas quando aplicado o teste de Tukey ($p < 0,05$).

O coeficiente de variação encontrado para as marcas A, B e C, foi de 16%. Esse fato pode ser explicado por alterações genéticas, ambientais e o nível de maturação do fruto (GENOVESE; LANNES, 2009), além das condições de processamento para obtenção de chocolate, principalmente nas etapas de fermentação e temperagem, onde há maior perda de flavonóides (SARMENTO, 2007).

No entanto, levando-se em consideração que uma dieta rica em polifenóis deve atingir 1 g/dia (ARABBI; GENOVESE; LAJOLO, 2004), os chocolates podem ter a participação entre 15% e 21% desse total, podendo ser considerados uma fonte de polifenóis a ser acrescentada em uma dieta balanceada, para obtenção de seus benefícios.

5.1.7 Determinação da atividade antioxidante

A atividade antioxidante frente ao radical DPPH• foi determinada por EC_{50} , ou seja, a concentração da amostra necessária para inibir 50% da atividade máxima do

radical livre. Os valores das EC_{50} entre as marcas dos chocolates amargos variaram de $20,59 \pm 4,58$ a $101,90 \pm 20,77$ mg/mL (FIGURA 25).

Os compostos fenólicos são responsáveis por parte da atividade antioxidante de diversos alimentos. No caso dos chocolates analisados, a marca C, além do teor diminuído de fenólicos totais, teve uma baixa atividade antioxidante, apresentando diferença expressiva ($p < 0,05$), após análise pelo teste de Tukey, em relação às outras amostras A ($EC_{50} = 26,32 \pm 7,17$ mg/mL) e B ($EC_{50} = 20,59 \pm 4,58$ mg/mL), que foram mais ativas, devido as menores concentrações necessárias para a inibição da atividade radicalar.

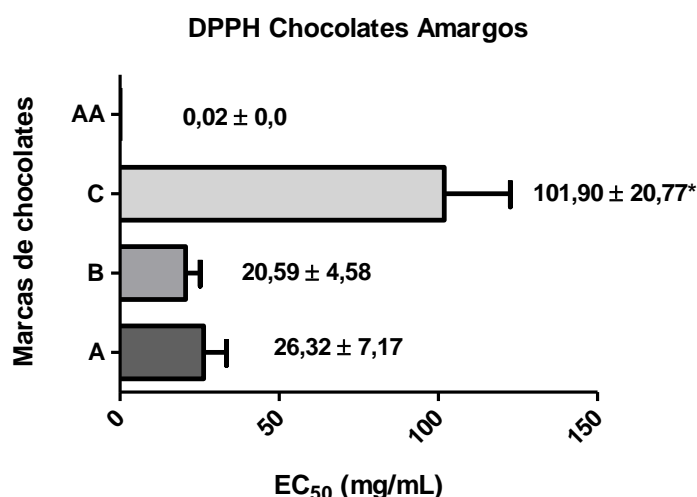


Figura 25 – Atividade antioxidante em EC_{50} (mg/mL) das três marcas de chocolate amargo \pm E.P.M. (n=9).

*Houve diferença significativa da marca S em relação às outras marcas quando aplicado o teste de Tukey ($p < 0,05$)

Legenda: AA – ácido ascórbico.

Os valores obtidos com as marcas A e B ficaram compreendidas entre os resultados encontrados por Arlorio et al. (2008) nas sementes de cacau crua ($14,99 \pm 1,35$ a $30,1 \pm 2,42$ EC_{50} mg/mL) e superior as médias encontradas por Radojčić Redovniković et al. (2009) ($4,82 \pm 0,23$ a $11,01 \pm 0,77$), em pesquisa realizada com liquors de cacau e aos resultados descritos por Othman et al. (2007) ($1,3 \pm 0,01$ a $1,5 \pm 0,1$ EC_{50} mg/mL), para as sementes de cacau originárias de países distintos, indicando que os chocolates possuem atividade anti-radicalar reduzida em relação ao liquor e as sementes de cacau estudados.

As diferentes formas de expressar os resultados para a atividade seqüestradora do radical DPPH• dificultam sua comparação com outros estudos. Por isso, Huang, Ou e Prior (2005), ao discutirem os diferentes testes de atividade antioxidante, sugerem a uniformização dos dados, que devem ser expressos como EC₅₀.

A fim de avaliar a relação existente entre o teor de fenólicos totais e atividade antioxidante dos chocolates estudados, foi realizada uma análise de correlação linear mostrada na Figura 26 abaixo.

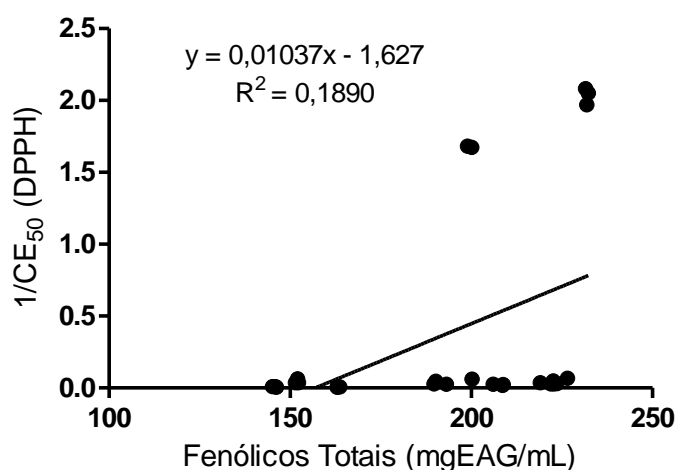


Figura 26 – Correlação linear entre o teor fenólicos totais e a atividade seqüestradora do radical DPPH.

Foi observada uma baixa correlação linear entre a atividade anti-radicalar frente ao radical DPPH• e a concentração de fenólicos totais, visto que o coeficiente de correlação linear (R^2) encontrado foi de 0,1890, o que sugere que 18,90% da atividade antioxidante das amostras deve-se a contribuição dos fenólicos totais. Desta forma, é possível que existam substâncias não fenólicas presentes nos chocolates com significativa atividade antioxidante, como os peptídeos e aminoácidos provenientes do alto teor de proteína das amostras, como descrito na **seção 5.1.1**, as metilxantinas (teobromina e cafeína) (RADOJČIĆ REDOVNIKOVIĆ et al., 2009), além da presença de um perfil de compostos fenólicos que não apresentam boa atividade anti-radicalar, o que explicaria o alto teor de compostos fenólicos e a baixa atividade antioxidante das amostras.

5.2 ANÁLISE SENSORIAL DO CHOCOLATE

5.2.1 Teste de aceitação

Os valores das médias e desvios padrão referentes à aceitabilidade dos chocolates amargos a 70% encontram-se na Tabela 10.

De acordo com os resultados, não houve diferença estatística significativa entre as amostras ao nível de 5% para todos os atributos avaliados, com exceção do atributo aparência.

Tabela 10 - Escores médios de aceitação sensorial dos chocolates amargos a 70% de cacau.

ATRIBUTOS*	MARCAS		
	A	B	C
Aparência	7,8 ^a ± 0,93	8,1 ^a ± 0,85	7,5 ^b ± 1,49
Cor	8,0 ^a ± 0,89	8,0 ^a ± 1,08	7,9 ^a ± 0,87
Aroma	7,4 ^a ± 1,47	7,4 ^a ± 1,26	7,6 ^a ± 1,28
Textura	7,5 ^a ± 1,34	7,6 ^a ± 1,38	7,7 ^a ± 1,32
Sabor	6,9 ^a ± 1,58	7,0 ^a ± 1,72	7,3 ^a ± 1,38
Intensidade de Amargor	6,5 ^a ± 1,98	7,0 ^a ± 1,74	6,8 ^a ± 1,88
Avaliação Global	7,1 ^a ± 1,67	7,3 ^a ± 1,53	7,5 ^a ± 1,07

*Médias obtidas de 57 repetições; escala hedônica de nove pontos desde 9= gostei muitíssimo a 1= desgostei muitíssimo.

Letras diferentes na mesma linha indicam diferença estatística ao nível de $p < 0,05$ no teste de Tukey.

Quanto à aparência, as marcas A e B obtiveram maior escore (7,8 e 8,1, respectivamente), correspondendo na escala ao termo “gostei muito”, enquanto o menor escore foi atribuído a marca C (7,5), correspondente ao termo “gostei moderadamente”. Os julgadores afirmaram que a amostra C não tinha brilho e se fragmentava facilmente, podendo este fato está relacionado à flutuação de temperatura durante o armazenamento do chocolate, que ocasiona o aparecimento do *fat bloom*, tornando-o pouco atraente ao consumidor (LUCCAS, 2001).

A soma da frequência das notas acima do ponto 5 (considerado ponto neutro, da escala hedônica – nem gostei nem desgostei), que variaram de 6 a 9 (gostei

ligeiramente e gostei muitíssimo, respectivamente), equivalem à aceitação da amostra analisada, enquanto que as notas abaixo de 5, variantes entre 1 e 4 (desgostei muitíssimo e desgostei ligeiramente, respectivamente) correspondem a rejeição do produto. Para confirmação da aceitação da amostra avaliada, é necessário que o somatório da frequência das notas acima de 5 seja superior a 70%. Diante disso, foi possível notar que na avaliação de todos os atributos, as três marcas de chocolate amargo comercial foram bem aceitas pelos provadores (TABELA 11).

Tabela 11 – Frequência das notas atribuídas aos chocolates amargos a 70%.

Atributos	Aceitação	Neutro	Rejeição
Aparência			
A	96,5%	--	3,5%
B	96,5%	--	3,5%
C	87,7%	7,0%	5,3%
Cor			
A	96,5%	3,5%	--
B	96,5%	1,8%	1,8%
C	96,5%	3,5%	--
Aroma			
A	87,7%	5,3%	7,0%
B	91,2%	5,3%	3,5%
C	91,2%	7,0%	1,8%
Textura			
A	94,7%	--	5,3%
B	93,0%	3,5%	3,5%
C	91,2%	5,3%	3,5%
Sabor			
A	87,7%	--	12,3%
B	86,0%	5,3%	8,8%
C	91,2%	1,8%	7,0%
Intensidade do Amargor			
A	75,4%	3,5%	21,1%
B	87,7%	1,8%	10,5%
C	80,7%	7,0%	12,3%
Aceitação Global			
A	87,7%	--	12,3%
B	91,2%	1,8%	7,0%
C	94,7%	5,3%	--

A, B e C – Marcas de chocolate amargo - 70%.

Foi verificado que quanto ao atributo aparência, as marcas A e B tiveram maior aceitação (96,5%), seguidos da marca C (87,7%). Quanto à cor das amostras, as três marcas apresentaram aceitabilidade de 96,5%. Para o atributo aroma, as amostras B e C se destacaram com 91,2% de aceitação, seguida da marca A, que obteve 87,7% de aceitabilidade (TABELA 11).

A marca A teve a maior aceitação quanto à textura (94,7%), enquanto a marca C teve a menor frequência de notas (91,2%). Quanto à intensidade de amargor, a marca B se destacou com o índice mais alto (87,7%) e a marca A, com o menor percentual entre as amostras (75,4%).

Na Tabela 11, a intensidade do amargor influenciou na aceitação da amostra B, quanto ao sabor, que teve a menor aceitação (86%) entre as amostras, sendo a amostra C a mais aceita nesse atributo, com 91,2% de aceitação.

Para as três marcas avaliadas houve baixo índice de rejeição em todos os atributos, que ficou compreendido entre 1,8 e 12,3%. No entanto, a marca A, no atributo amargor, teve índice de rejeição superior a média (21,1%), confirmando que se trata de uma amostra com sabor amargo diminuído em relação às outras marcas, na opinião dos julgadores.

Na avaliação global, todas as marcas foram bem aceitas, apresentando 94,7%, 91,2% e 87,7% de aprovação para as marcas C, B e A, respectivamente. Os altos índices de aceitação obtidos por cada marca podem estar relacionados à homogeneidade das formulações dos chocolates analisados, os quais apresentam similaridade de cor, aroma, textura e sabor das amostras.

5.2.2 Teste de ordenação-preferência

Ao comparar os resultados obtidos da diferença entre os pares de amostras com a diferença mínima significativa (DMS), não foi identificada diferença estatística significativa ao nível de 5% de significância entre as marcas, conforme mostrado na Tabela 12.

De acordo com os resultados mostrados na Figura 27, foi verificado que a amostra C se destacou como a marca mais preferida o maior número de vezes (43,9%), sendo seguida das amostras B e A, que tiveram 35,1% e 21,1%, respectivamente.

O destaque da marca C está associado ao seu alto índice de carboidratos na formulação (**seção 5.1.1**), que melhora o sabor do chocolate, considerado agradável e também atípico para um chocolate amargo, segundo a maioria dos provadores.

As amostras A e B possuem um alto teor de fenólicos (**seção 5.1.6**) e uma quantidade mais baixa de glicídios, que tornam seu sabor um pouco mais amargo quando comparado a marca C. Entretanto, a marca B possui uma concentração maior de lipídios e de fibras em sua composição (**seção 5.1.1**), que contribui para uma melhor palatabilidade do produto, que se destaca em relação ao chocolate da marca A.

Tabela 12 - Avaliação sensorial de preferência de chocolates amargos pelo teste de ordenação para as amostras A, B e C.

Marcas	Número de provadores por ordem*			Soma das ordens**	Pares de amostras	Diferença da soma de ordens (pares das amostras)
	1	2	3			
A	23	22	12	103	A – B	15 (ns)
B	16	21	20	118	A – C	18 (ns)
C	18	14	25	121	B – C	3 (ns)

* 1 = menos preferida, 2 = intermediária, 3 = mais preferida.

** Soma das ordens de cada amostra = (1 x nº de provadores) + (2 x nº de provadores) + (3 x nº de provadores).

(ns) = não significativo.

Diferença mínima significativa ($p < 0,05$) = 25.

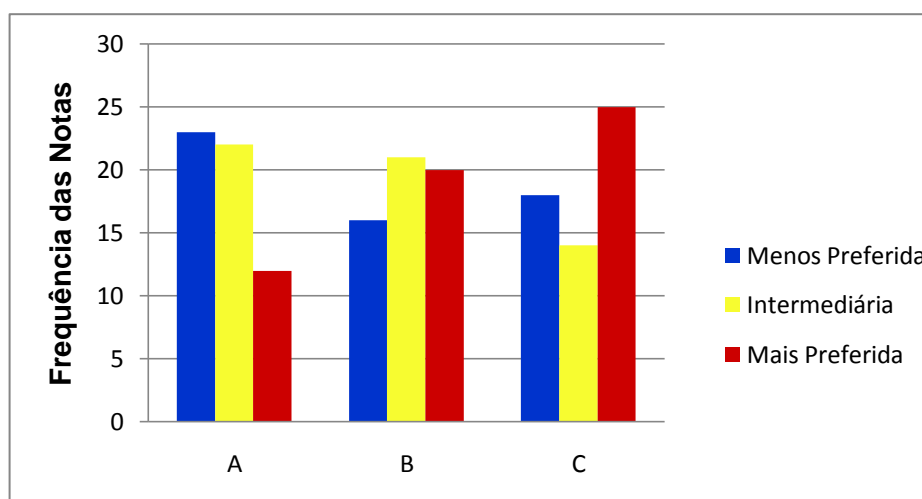


Figura 27 – Frequência das ordens das amostras A, B e C.

6 CONCLUSÃO

Os chocolates amargos das três marcas analisadas apresentam valor nutricional semelhante, sendo ricos em açúcares e lipídeos, com alto teor de ácidos graxos saturados e de ácido oléico, além de apresentarem um teor elevado de minerais derivados do cacau.

Os chocolates ainda demonstraram estabilidade térmica até 190°C e estabilidade oxidativa aproximada de 130 °C, não se degradando facilmente em pequenas flutuações de temperatura, mantendo suas propriedades nutritivas e funcionais.

As amostras estudadas também apresentaram atividade antioxidante reduzida quando comparada ao alto teor de compostos fenólicos encontrados, sugerindo que o chocolate, além dos flavonóides, possui outros tipos de fenólicos não antioxidantes e substâncias antioxidantes não fenólicas.

Os chocolates amargos analisados apresentaram aceitação superior a 70% em todos os atributos analisados, demonstrando uma homogeneidade das formulações dos chocolates dos diferentes fabricantes, não havendo diferença significativa quanto à preferência das diferentes marcas comerciais de chocolate.

Ao analisar todos os dados, a marca A, correspondente a um produto importado e mais viável financeiramente, se destacou como o chocolate amargo mais saudável, por seu perfil lipídico rico em ácido graxo insaturado, alto teor de minerais, quantidade aceitável de fenólicos e atividade antioxidante satisfatória.

A marca nacional B, apresentou o valor de compra mais elevado em relação às outras marcas e se destacou pelo alto teor de fenólicos totais e boa atividade antioxidante. A composição química e de minerais foi semelhante ao da marca A, com exceção do teor de lipídios, elevado em ácidos graxos saturados, possivelmente pelo acréscimo de gordura anidra de leite em sua formulação.

Em contrapartida, a marca nacional C, se destacou com o maior índice de carboidratos, menor teor de minerais em relação às outras marcas de chocolate amargo, além da baixa concentração de fenólicos totais e atividade anti-radicalar. Mesmo possuindo uma menor concentração de lipídios, estes eram em sua maioria, ácidos graxos saturados, que lhe proporcionam maior estabilidade térmica e oxidativa, diminuindo sua atividade nutricional e funcional.

REFERÊNCIAS

- ABICAB. **Associação Brasileira da Indústria de Chocolates, Cacau, Amendoim, Balas e Derivados**, 2008. Disponível em: <http://www.abicab.org.br/ingles/index_home.htm>. Acesso em: 21 ago 2009.
- ADA. American Dietetic Association. **Chocolate and Health: a scientific overview for the health professional**. [S. l.: s. n., 1999?]. 21p. Disponível em: <http://nca.files.cms-plus.com/NCA_Chocolate_and_Health.pdf>. Acesso: 17 mar 2010.
- AFOAKWA, E. O.; PATERSON, A.; FOWLER, M. Factors influencing rheological and textural qualities in chocolate: a review. **Trends in Food Science and Technology**, v. 18, p. 290-298, 2007.
- AFOAKWA, E. O.; PATERSON, A.; FOWLER, M.; VIEIRA, J. Characterization of melting properties in dark chocolates from varying particle size distribution and composition using differential scanning calorimetry. **Food Research International**, v. 41, n. 7, p. 751-757, 2008.
- AFOAKWA, E. O.; PATERSON, A.; FOWLER, M.; VIEIRA, J. Fat bloom development and structure-appearance relationships during storage of under-tempered dark chocolates. **Journal of Food Engineering**, v. 91, n.4, p. 571-581, 2009a.
- AFOAKWA, E. O.; PATERSON, A.; FOWLER, M.; VIEIRA, J. Influence of tempering and fat crystallization behaviours on microstructural and melting properties in dark chocolate systems. **Food Research International**, v. 42, n.1, p. 200-209, 2009b.
- ALEZANDRO, M. R. **Determinação de isoflavonas e capacidade antioxidante de alimentos industrializados à base de soja e/ou produtos derivados consumidos no Brasil**. Dissertação (Mestrado em Bromatologia). Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.
- AL-FARIS, N. A. Short-Term Consumption of a Dark Chocolate Containing Flavanols is Followed by a Significant Decrease in Normotensive Population. **Pakistan Journal of Nutrition**, v. 7, n. 6, p. 773-781, 2008.
- ALLEN, R. R.; CARSON, L.; KWIK-URIBE, C.; EVANS, E. M.; ERDMAN JUNIOR, J. W. Daily consumption of a dark chocolate containing flavanols and added sterol esters affects cardiovascular risk factors in a normotensive population with elevated cholesterol. **The Journal of Nutrition**, v. 138, n. 4, p. 725-731, 2008.
- AMERINE, M. A.; OUGH, S. S. **Methods for Analyses of Musts and Wines**. 2ed. New York. Jy Wiley E. Sons, Inc. s.d, 337p.
- ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos: uma breve revisão. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, v. 66, n.1, p. 232-240, 2007.

ANTONIASSI, R. Métodos de avaliação da estabilidade oxidativa de óleos e gorduras. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos (CEPPA)**, Curitiba, v.19, n. 2, p. 353-380, jul./dez. 2001.

ANZALDÚA-MORALEZ, A. **La evaluación sensorial de los alimentos em la teoria y La práctica**. Zaragoza: Editorial Acribia S.A., 1994. 198p.

ARABBI, P. R.; GENOVESE, M. I.; LAJOLO, F. M. Flavonoids in vegetables foods commonly consumed in Brazil and estimates ingestion by the Brazilian population. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v.52, n.5, p.1124-1131, 2004.

ARAÚJO, J. M. A. **Química de Alimentos: teoria e prática**. 2. ed. Viçosa: UFV, 1999. cap. 1, p. 1-65.

ARAÚJO, K. L. G. V. **Avaliação Físico-química de Óleo de Peixe**. Dissertação (Mestrado em Ciências e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2007. 85p.

ARLORIO, M.; LOCATELLI, M.; TRAVAGLIA, F.; COÏSSON, J. D.; DEL GROSSO, E.; MINASSI, A.; APPENDINO, G.; MARTELLI, A. Roasting impact on the contents of clovamide (N-caffeoyl-L-DOPA) and the antioxidant activity of cocoa beans (*Theobroma cacao* L.). **Food Chemistry**, v.106, n. 2, p. 967–975, 2008.

BATISTA, A. P. S. A. **Chocolate: sua história e principais características**. Monografia (Especialização em Gastronomia e Saúde). Centro de Excelência em Turismo, Universidade de Brasília, Brasília, 2008. 48p.

BECKETT, S. T. **Fabricación y utilización industrial del chocolate**; trad. de Mariano González Alonso. 1 ed. Zaragoza: Acribia, 1988. 423 p.

BELŠČAK, A.; KOMES, D.; HORZIC, D.; GANIC, K. K.; KARLOVIC, D. Comparative study of commercially available cocoa products in terms of their bioactive composition. **Food Research International**, v. 42, p. 707–716, 2009.

BERTOLDI, M. C. **Atividade antioxidante *in vitro* da fração fenólica, das oleorresinas e do óleo essencial de pimenta rosa (*Schinus terebinthifolius Raddi*)**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2006.

BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v. 37, n. 8, p. 911-917, 1959.

BOBBIO, F. O.; BOBBIO, P. A. **Introdução a química de alimentos**. 2. ed. São Paulo, Varela, 1992.

BRASIL. Ministério da Saúde. Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos (CNNPA). Resolução de 12 de Julho de 1978. **Legislação de Chocolate**. 1978.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria nº 398, de 30 de abril de 1999. Aprova o regulamento técnico que estabelece as diretrizes básicas para análise e comprovação de propriedades funcionais e ou de saúde alegadas em rotulagem de alimentos. **Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, 03 mai. 1999.**

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 227, de 28 de agosto de 2003. Aprova Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Chocolate e Chocolate Branco. **Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, 01 set. 2003.**

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. 4ª ed. e 1ª ed. digital. **Instituto Adolfo Lutz**. Brasília: Ministério da Saúde, 2008. 1020 p.

CAMPOS, M.G.; WEBBY, R. F.; MARKHAM, K. R.; DA CUNHA, A. O. Age-induced diminution of free radical scavenging capacity in bee pollens and the contribution of constituent flavonoids. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 742-745, 2003.

CECCHI, H. M. **Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos**. 2. ed. rev. Campinas: Editora UNICAMP, 2003. 207p.

CHAVES, J. B. P.; SPROSSER, R. L. **Práticas de laboratório de análise sensorial de alimentos e bebidas**. Viçosa: UFV, 2001. 81p.

COENTRÃO, P. A. M. **Avaliação de três técnicas de isolamento de polifenóis: aplicação em amostras de chocolate meio amargo**. Dissertação (Mestrado em Química Analítica). Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2005. 111p.

COHEN, K. O.; JACKIX, M. N. H. Obtenção e caracterização física, química e físico-química de licor de cupuaçu e de cacau. **Brazilian Journal of Food Technology**. v. 7, n. 1, p. 57-67, 2004.

COHEN, K. O.; LUCCAS, V.; JACKIX, M. N. H. Revisão: temperagem ou pré-cristalização do chocolate. **Brazilian Journal of Food Technology**. v. 7, n. 1, p. 23-30, 2004.

COSTA, A. T. **O cacau é show**. Ipsis Editora, 2008. cap. 2, p.29 – 44.

COULTATE, T. P. **Alimentos: a química de seus componentes**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. cap. 4, p. 63-100.

CUPPARI, L. **Nutrição**. 2. ed. São Paulo: Manole, 2005. 474p.

DANTAS, H. J. **Estudo termoanalítico, cinético e ecológico de biodiesel derivado do óleo de algodão**. Dissertação (Mestrado em Química). Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2006.

EFRAIM, P. **Estudo para minimizar as perdas de flavonóides durante a fermentação de sementes de cacau para produção de chocolate**. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos). Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2004. 126p.

EFRAIM, P.; TUCCI, M. L.; PEZOA-GARCIA, N. H.; HADDAD, R.; EBERLIN, M. N. Teores de compostos fenólicos de sementes de cacau de diferentes genótipos. **Brazilian Journal of Food Technology**. v. 9, n. 4, p. 229-236, 2006.

EFRAIM, P. **Contribuição à melhoria de qualidade de produtos de cacau no Brasil, por meio da caracterização de derivados de cultivares resistentes à vassoura-de-bruxa e de sementes danificadas pelo fungo**. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos). Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2009. 208p.

ENGLER, M. B.; ENGLER, M. M. The vasculoprotective effects of flavonoid-rich cocoa and chocolate. **Nutrition Research**, v. 24, n. 9, p. 695-706, 2004.

EPAMINONDAS, P. S. **Caracterização físico-química e termo-oxidativa das sementes de linhaça (*Linum usitatissimum* L.) e de seus respectivos óleos**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2009. 103p.

ÉSPIN, J. C.; GARCÍA-CONESA, M.T.; TOMÁS-BARBERÁN, F. A. Nutraceuticals: facts and fiction. **Phytochemistry**, v. 68, n. 22-24, p. 2986–3008, 2007.

ESCRIVÁ, M. V. G. **Caracterização e seleção de gorduras de sementes do gênero *Theobroma* para aplicação tecnológica**. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos). Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2002. 197p.

FACIOLI, N. L.; GONÇALVES, L. A. G. Modificação por via enzimática da composição triglicéridica do óleo de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb). **Química Nova**, v. 21, n. 1, p.16-19. 1998.

FARAH, R. **Chocolate: energia e saúde**. São Paulo: Alaúde Editorial, 2008. 151p.

FARIA, E. A.; LELES, M. I. G.; IONASHIRO, M.; ZUPPA, T. O.; ANTONIOSI FILHO, N. R. Estudo da estabilidade térmica de óleos e gorduras vegetais por TG/ DTG e DTA. **Eclética Química**, v. 27, p. 111-119, 2002.

FARIA, E. V.; YOTSUYANAGI, K. **Técnicas de Análise Sensorial**. Campinas: ITAL/LAFISE, 2002. 116 p.

FARIA, E.; SILVA, M. M. A química do chocolate: uma actividade laboratorial proposta. In: X Congresso Internacional Galego-Português de Psicopedagogia. 2009. Braga. **Actas do X Congresso Internacional Galego-Português de Psicopedagogia**, Braga, p.4046-4055. 2009.

FIORINI, L.S. Dossiê: os minerais na alimentação. **Food Ingredients Brazil**, n.4, p.48-59, 2008.

FLAMMER, A. J.; HERMANN, F.; SUDANO, I.; SPIEKER, L.; HERMANN, M.; COOPER, K. A.; SERAFINI, M.; LÜSCHER, T. F.; RUSCHITZKA, F.; NOLL, G.; CORTI, R. Dark chocolate improves coronary vasomotion and reduces platelet reactivity. **Circulation**, v.116, n. 21 , p. 2376-2382, 2007.

FREITAS, G. L. **Potencial antioxidante e compostos fenólicos na cerveja, chopp, cevada (*Hordeum vulgare L.*) e no bagaço de brassagem**. Dissertação (Mestre em Ciência dos Alimentos). Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2006. 87p.

GENOVESE, M. I.; LANNES, S. C. S. Comparison of total phenolic content and antiradical capacity of powders and “chocolates” from cocoa and cupuassu. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.29, n.4, p. 810-814, 2009.

GIUSEPPE, R.; CASTELNUOVO, A.; CENTRITTO, F.; ZITO, F.; CURTIS, A.; COSTANZO, S.; VOHNOUT, B.; SIERI, S.; KROGH, V. DONATI, M. B.; GAETANO, G.; IACOVIELLO, L. Regular consumption of dark chocolate is associated with low serum concentrations of c-reactive protein in a healthy italian population. **The Journal of Nutrition**, v. 138, n. 10, p. 1939–1945, 2008.

GOZZO, A.M. **Comportamento reológico de chocolates ao leite sem fibras e enriquecido com fibras solúveis**. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos). Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2003. 149p.

GRIMALDI, R.; GONÇALVES, L. A. G.; ESTEVES, W. Características de gorduras comerciais brasileiras. **Braz. J. Food Technol.**, v.3, p.159-164, 2000

GRUNENVALDT, F. L. **Avaliação de propriedades físicas e sensoriais e do desempenho tecnológico de chocolates produzidos com misturas de manteiga de cacau e gorduras low / zero trans**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2009. 151p.

GULCIN, I.; SAT, I. G.; BEYDEMIR, S.; ELMASTAS, M.; KUFREVIOLU, O. I. Comparison of antioxidant activity of clove (*Eugenia caryophyllata Thunb*) buds and lavender (*Lavandula stoechas L.*). **Food Chemistry**, v.87, n.3, p.393-400, 2004.

HARTMAN, L.; LAGO, B. C. A rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. **Laboratory Practice**, v. 22, p. 475-477, 1973.

HAMMERSTONE, J. F.; LAZARUS, S. A.; MITCHELL, A. E.; RUCKER, R.; SCHMITZ, H. H. Identification of procyanidins in cocoa (*Theobroma cacao*) and chocolate using high-performance liquid chromatography/mass spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, n. 2, p.490-496, 1999.

HERRMANN, S. M. Aspectos nutricionais dos flavonóides. In: MARRONI, N. A. P. (Org.). **Estresse Oxidativo e Antioxidantes**. 1. ed. Canoas: Editora da ULBRA, 2002. cap 8, p.105-118.

HOLLENBERG, N. K.; FISHER, N. D. L.; MCCULLOUGH, M. L. Flavanols, the Kuna, cocoa consumption, and nitric oxide. **Journal of the American Society of Hypertension**, v. 3, n.2, p.105-112, 2009.

HUANG, D.; OU, B.; PRIOR, R. L. The chemistry behind antioxidant capacity assays. **J. Agric. Food Chem.**, v. 53, n.6, p. 1841-1856, 2005.

IONASHIRO, M. G. **Fundamentos da termogravimetria, análise térmica diferencial, calorimetria exploratória diferencial**. São Paulo: Giz Editorial, 2005. 80 p.

JALIL, A. M. M.; ISMAIL, A. Polyphenols in cocoa and cocoa products: is there a link between antioxidant properties and health? **Molecules**, v.13, n.9, p. 2190-2219, 2008.

KENN, C. L. Chocolate: food as medicine/ medicine as food. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 20, n. 5, p. 436-439, 2001.

KEEN, C. L.; HOLT, R. R.; OTEIZA, P. I. ; FRAGA, C. G.; SCHMITZ, H. H. Cocoa antioxidants and cardiovascular health. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 81, (suppl):, p.298–303, 2005.

LAJUS, B. **Estudo de alguns aspectos da tecnologia do cacau**. Dissertação (Mestrado). Universidade de São Paulo, São Paulo, 1982. 81p.

LEIVA, C. R. M.; CRNKOVIC, P. M.; SANTOS, A. M. O emprego da termogravimetria para determinar a energia de ativação do processo de combustão de óleos combustíveis. **Química Nova**, v.29, n. 5, p. 940-946, 2006.

LIPP, M.; ANKLAM, E. Review of cocoa butter and alternatives fats for use in chocolate - part A. Compositional data. **Food Chem.**, Amsterdam, v.62, n.1, p.73-97, 1998.

LIPPI, G.; FRANCHINI, M.; MONTAGNANA, M.; FAVALORO, E.J.; GUIDI, G.C.; TARGHER, G. Dark chocolate: consumption for pleasure or therapy? **Journal of Thrombosis and Thrombolysis**, v.28, n.4, p.482-488, 2009.

LIRA, C. R. G.; ZUCCO, F.; NEGRÃO, A. N.; SILVA, M. A. S.; MURAKAMI, F. S. Nutracêuticos: aspectos sobre segurança, controle de qualidade e legislação. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 90, n. 1, p.45-49, 2009.

LUCCAS, V. **Fracionamento térmico e obtenção de gorduras de cupuaçu alternativas a manteiga de cacau para uso na fabricação de chocolate**. Tese (Doutorado em Engenharia Química). Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2001.195p.

LUCCAS, V.; KIECKBUSCH, T. G. Estudo comparativo do polimorfismo da gordura de cupuaçu e da manteiga de cacau por Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC). **Braz. J. Food Technol.**, v.9, n.1, p. 63-68. 2006.

MARTINI, M. H. **Caracterização das sementes de seis espécies de Theobroma em relação ao Theobroma cacao L..** Tese (Doutorado em Alimentos e Nutrição). Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2004. 86p.

MACHADO, M. C. N.; SOUZA, A. G.; NUNES, L. M.; PINHEIRO, C. D.; MACHADO, J. C. Kinetic study of the thermal decomposition on bisdialkyldithiocarbamate cadmium ii complexes by isothermal and non-isothermal thermogravimetry. **Thermochimica Acta**, v. 328, p. 201-207, 1999.

MAYDATA, B. A.G. Chocolate, polifenoles y protección a la salud. **Acta Farm. Bonaerense**, v. 21, n. 2, p.149-152, 2002.

MEILGAARD, M.; CIVILLE, G.V.; CARR, B.T. **Sensory evaluation techniques**. 3 ed. New York: CRC, 1999. 281 p.

MENG, C. C.; JALIL, A. M. M.; ISMAIL, A. Phenolic and theobromine contents of commercial dark, milk and white chocolates on the malaysian market. **Molecules**, v.14, n.1, p.200-209, 2009.

MILLER, K. B.; STUART, D. A.; SMITH, N. L.; LEE, C. Y.; MCHALE, N. L.; FLANAGAN, J. A.; OU, B.; HURST, W. J. Antioxidant activity and polyphenol and procyanidin contents of selected commercially available cocoa-containing and chocolate products in the United States. **J. Agric. Food Chem.**, v.54, n. 11, p.4062-4068, 2006.

MINIM, V.P.R. **Metodologia para determinação de sucedâneos da manteiga de cacau em chocolate.** Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos). Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1996. 207p.

MINIM, V.P.R.; CECCHI, H. M.; MINIM, L. A. Determinação de substitutos da manteiga de cacau em coberturas de chocolate através da análise de triacilgliceróis. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.19, n. 2, p. 277-281, 1999.

MORETTO, E.; FETT, R. **Tecnologia de óleos e gorduras vegetais na indústria de alimentos.** São Paulo: Varela, 1998.150p.

MOTHÉ, C. G.; AZEVEDO, A. D. **Análise térmica de materiais.** São Paulo: iEditora, 2002.

MURPHY, K. J.; CHRONOPOULOS, A. K.; SINGH, I.; FRANCIS, M. A.; MORIARTY, H.; PIKE, M. J.;TURNER, A. H.; MANN, N. J.; SINCLAIR, A. J. Dietary flavanols and procyanidin oligomers from cocoa (*Theobroma cacao*) inhibit platelet function. **Am. J. Clin. Nutr.**,v.77, p. 1,466–1,473, 2003.

MURSU, J.; VOUTILAINEN, S.; NURMI, T.; RISSANEN, T. H.; VIRTANEN, J. K.; KAIKKONEN, J; NYSSONEN, K.; SALONEN, J.T. Dark chocolate consumption increases hdl cholesterol concentration and chocolate fatty acids may inhibit lipid peroxidation in healthy humans. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 37, n. 9, p. 1351–1359, 2004.

NICHOLAS, J. Natural Methods for Reversing Atherosclerosis. **Life Extension Magazine**. 2008.

OLIVEIRA, M. A. **Extração de polifenóis da semente de cacau (Theobroma Cacao)**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005. 72p.

OSAWA, C. C. **Testes rápidos (kits) para avaliação da qualidade de óleos, gorduras e produtos que os contenham e sua correlação com os métodos oficiais da AOCS**. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos). Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005. 404p.

OTHMAN, A.; ISMAIL, A.; GHANI, N. A., ADENAN, I. Antioxidant capacity and phenolic content of cocoa beans. **Food Chemistry**, v. 100, n.4 , p. 1523–1530, 2007.

PASCHOAL, V.; KALLUF, L. Fome de bom humor. In:MARANGONI, S. (Edit.). **Revista Nutrir**, 2.ed., n.2, p.32-35, 2009.

PASCUAL, V.; VALLS, R. M.; SOLÀ, R. Cacao y chocolate: ¿un placer cardiosaludable? **Clin Invest Arterioscl.**, v. 21, n. 4, p. 198-209, 2009.

PIMENTEL, C. V. M. B.; FRANCKI, V. M.; GOLLÜCKE, A. P. B. **Alimentos funcionais**: introdução às principais substâncias bioativas em alimentos. São Paulo: Varela, 2005. 95p.

PIMENTEL, F. A. **Avaliação do poder antioxidante do chocolate amargo: um comparativo com o vinho tinto**. Dissertação (Mestrado em Ciências e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2007. 81p.

POTTER, N.N; HOTCHKISS, J.H. **Ciencia de los alimentos**. Zaragoza: Ed. Acribia. 1995.667p.

QUAST, L. B. **Estudo do efeito da adição de gorduras alternativas na cristalização da manteiga de cacau**. Tese (Doutorado em Engenharia Química). Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2008. 117p.

QIU, C.; HAN, S.; CHENG, X.; REN, T. Determining the antioxidant activities of organic sulfides by rotary bomb oxidation test and pressurized differential scanning calorimetry. **Thermochimica Acta**, v. 447, p. 36- 40. 2006.

RADOJČIĆ REDOVNIKOVIĆ, I.; DELONGA, K.; MAZOR, S.; DRAGOVIĆ-UZELAC, V.; CARIĆ, M.; VORKAPIĆ-FURAC, J. Polyphenolic Content and Composition and Antioxidative Activity of Different Cocoa Liquors. **Czech J. Food Sci.**, v.27, n.5, p. 330–337, 2009.

RAFECAS, M.; CODONY, R. **Estudio nutricional del cacao y productos derivados: resumen**. Universitat de Barcelona, 2000. 16p.

RAEMY, A. Behavior of foods studied by thermal analysis. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v.71, n.1, p. 273–278, 2003.

RANGANA, S. **Manual of analysis of fruit and vegetable products**. New Delhi: Tata Mc Graw-Hill, 1979.

RIBEIRO, E. P.; SERAVALLI, E. A. G. **Química de alimentos**. Instituto Mauá de Tecnologia. São Paulo: Edgard Blücher, 2004. cap. 4, p. 111-142.

RIBEIRO, A. P. B; MOURA, J. M. L. N.; GRIMALDI, R.; GONÇALVES, L. A. G. Interesterificação química: alternativa para obtenção de gorduras zero trans. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 5, p.1295-1300, 2007.

RICHTER, M.; LANNES, S. C. S. Ingredientes usados na indústria de chocolate. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.43, n.3, p. 357-369, 2007.

ROBINSON, P.; SICHINA, B. Characterization of chocolate using power compensated DSC, In: PerkinElmer Technical Note, PETech-43. **Thermal Analysis**, v. 1, 2000.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C. G.; JIMENEZ, J. P.; CALIXTO, F. D. S. Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH. **Comunicado Técnico**, 127. Fortaleza: Embrapa Ceará, 2007. 4p.

RUSCHENSKY, N. **Estudo da cristalização e fracionamento térmico a seco da gordura de cupuaçu**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005. 89p.

SANTOS, W. N. L.; SILVA, E. G. P.; FERNANDES, M. S.; ARAÚJO, R. G. O.; COSTA, A. C. S.; VALE, M. G. R.; FERREIRA, S. L. C. Determination of copper in powdered chocolate samples by slurry-sampling flame atomic-absorption spectrometry. **Anal Bioanal Chem.**, v.382, n.4, p. 1099-1102, 2005.

SARMENTO, L. A. V. **Obtenção e separação de polifenóis de sementes de cacau por extração supercrítica associada a membranas**. Tese (Doutorado em Engenharia Química). Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2007. 91p.

SCALBERT, A.; WILLIAMSON, G. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. **Journal of Nutrition**, v.130, p. 2073S-2085S, 2000.

SCHUMACHER, A., B. **Desenvolvimento de um chocolate meio amargo com um maior percentual de proteína**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008. 91p.

SILVA, F. A. M.; BORGES, M. F. M; FERREIRA, M. A. Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. **Química Nova**, Porto, v. 22, n. 1, p. 94-103, 1999.

SILVA, S. A.; SOUZA, A. G.; CONCEIÇÃO, M. M.; ALENCAR, A. L. S.; PRASAD, S.; CAVALHEIRO, J. M. O. Estudo termogravimétrico e calorimétrico da algaroba. **Química Nova**, v. 24, n. 4, p. 460-464. 2001.

- SILVA, L. L. **Análise fitoquímica e determinação das atividades antioxidantes e vasculogênica dos extratos aquosos padronizados de *Coffea arabica* e *Theobroma cacao***. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia). Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005. 141p.
- SILVA, T.M. S.; CAMARA, C. A.; LINS, A. C. S.; BARBOSA, J. M.; SILVA, E. M. S.; FREITAS, B. M.; SANTOS, F. A. R. Chemical composition and free radical scavenging activity of pollen loads from stingless bee *Melipona subnitida* Ducke. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.19, n.6-7, p.507-511, 2006.
- SMIT, H. J.; BLACKBURN, R. J. Reinforcing effects of caffeine and theobromine as found in chocolate. **Psychopharmacology**, v. 181, n.1, p. 101-106, 2005.
- SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. **Princípios de análise instrumental**. Tradução de Ignez Caracelli. 5. ed. Porto Alegre: Bookman, 2002. 836 p.
- SOBRATTEE, M. A.; NEERGHEEN, V. S.; LUXIMON-RAMMA, A.; ARUOMA, O. I.; BAHORUN, T. Phenolics as potential antioxidant therapeutic agents: Mechanism and actions. **Mutation Research**, p.579, 2005.
- STEINBERG, F. M.; BEARDEN, M. M.; KEEN, C. L. Cocoa and chocolate flavonoids: Implications for cardiovascular health. **Journal of the American Dietetic Association**, v.103, n.2, p.215-223, 2003.
- STONE, H.; SIDEL, J. **Sensory evaluation practices**. Academic Press: New York, 1993. 338p.
- TAVARES, M. L. A. **Análise termo-oxidativa do biodiesel do girassol**. Tese (Doutorado em Química). Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2009.
- VASCONCELOS, A. F. F. **Conformidade de Misturas de Biodiesel Etílico quanto aos Parâmetros Reológicos, Fluidodinâmicos, Oxidativos e Carburantes**. Tese (Doutorado em Química). Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2009.
- VIANNI, R.; BRAZ-FILHO, R. Ácidos graxos naturais: importância e ocorrência em alimentos. **Química Nova**, v. 19, n. 4, p. 400-407, 1996.
- VÍTOVÁ, E.; LOUPANCOVÁ, B.; ŠTOUDKOVÁ, H.; MACKŮ, I.; ZEMANOVÁ, J.; BABÁK, L. Effect of fat composition on some physico-chemical parameters and sensorial evaluation of dark chocolate. **Journal of Food and Nutrition Research**, v. 48, n. 2, p. 72–79, 2009.
- VIVIAN, V. Chocolate: sus mitos y verdades. **Nutrinfo.com**, Buenos Aires, dez. 2004. p. 1-15. Disponível em: < <http://www.nutrinfo.com/pagina/monografias.php>>. Acesso em: 01 mar 2009.
- VISSOTTO, F.Z.; LUCCAS, V.; BRAGAGNOLO, N.; TURATTI, J.M.; GRIMALDI, R.; FIGUEIREDO, M.S. Caracterização físico-química de chocolates comerciais elaborados com gorduras alternativas. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 21, n. 2, p. 139-148, 1999.

VLACHOPOULOS, C.; ALEXOPOULOS, N.; STEFANADIS, C. Effect of dark chocolate on arterial function in healthy individuals: cocoa instead of ambrosia? **Cardiovascular Risk and Hypertension**, v. 8, p. 205–211, 2006.

WALTER, P.; CORNILLON, P. Lipid migration in two-phase chocolate systems investigated by NMR and DSC. **Food Research International**, v.35, n. 8, p. 761-767, 2002.

WANG, G. ; WANG, T. Oxidative stability of egg and soy lecithin as affected by transition metal ions and pH in emulsion. **J Agric Food Chem.**, v.56, n.23, p. 11424-11431, 2008.

WOLGAST, J.; ANKLAN, E. Review in polyphenols in Theobroma cacao: changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. **Food Research International**. n.33, p. 423-447, 2000.

WOLZ, M.; KAMINSKY, A.; LÖHLE, M.; KOCH, R.; STORCH, A.; REICHMANN, H. Chocolate consumption is increased in Parkinson's disease: results from a self-questionnaire study. **J. Neurol**, v. 256, n. 3, p. 488-492, 2009.

YEMN, E. W.; WILLIS, A. J. The estimation of carbohydrate in plant extracts by anthrone. **The Biochemical Journal**, London, v. 57, p. 508-514, 1954.

APÊNDICES

APÊNDICE A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Prezado (a) Senhor (a),

Esta pesquisa, desenvolvida por Alline da Silva Lima de Souza, aluna do Curso de Pós-Graduação e Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal da Paraíba, sob a orientação do Professor Dr. Antônio Gouveia de Souza, trata-se do consumo e da aceitação de chocolates amargos constituídos de 70% de cacau.

O objetivo do estudo é verificar se o chocolate amargo, que possui um maior percentual de cacau em sua formulação, é bem aceito pelo consumidor devido à intensidade do amargor do produto, causado pela maior concentração de polifenóis, além de permitir a correlação do teor lipídico do chocolate a sua melhor palatabilidade.

Solicitamos a sua colaboração para participar da análise sensorial do chocolate amargo – 70% de cacau, como também sua autorização para apresentar os resultados deste estudo em eventos da área de saúde e tecnologia de alimentos e publicar em revista científica. Por ocasião da publicação dos resultados, seu nome será mantido em sigilo. Informamos que essa pesquisa não oferece riscos, previsíveis, para a sua saúde.

Esclarecemos que sua participação no estudo é voluntária e, portanto, o (a) senhor(a) não é obrigado(a) a fornecer as informações e/ou colaborar com as atividades solicitadas pelo Pesquisador(a). Caso decida não participar do estudo, ou resolver a qualquer momento desistir do mesmo, não sofrerá nenhum dano, nem haverá modificação na assistência que vem recebendo na Instituição.

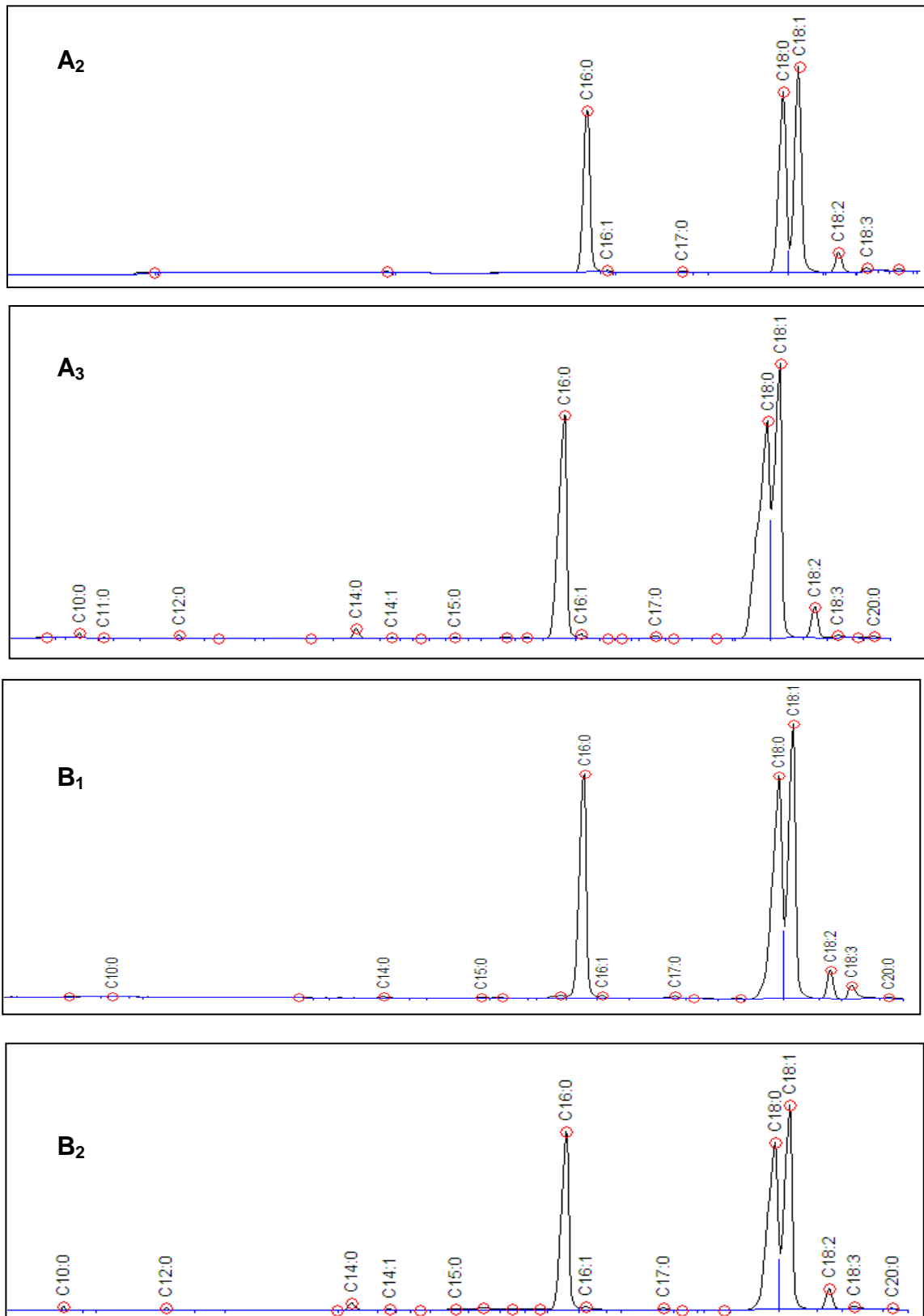
Os pesquisadores estarão a sua disposição para qualquer esclarecimento que considere necessário em qualquer etapa da pesquisa.

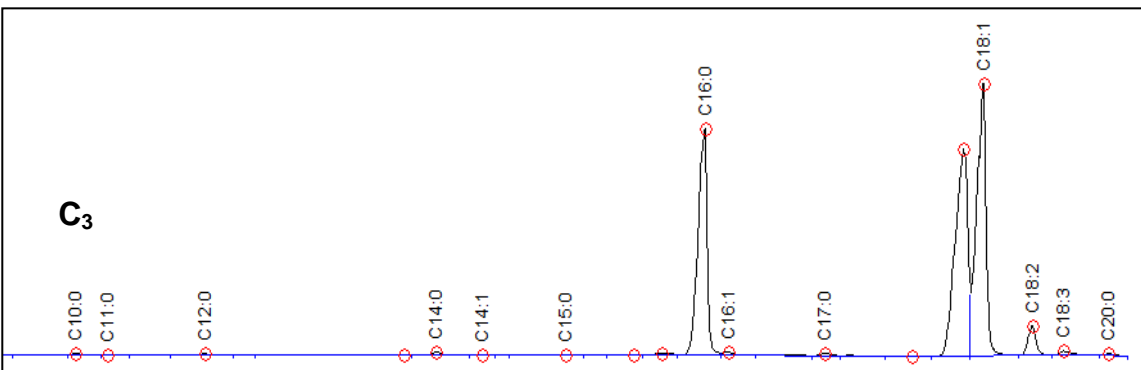
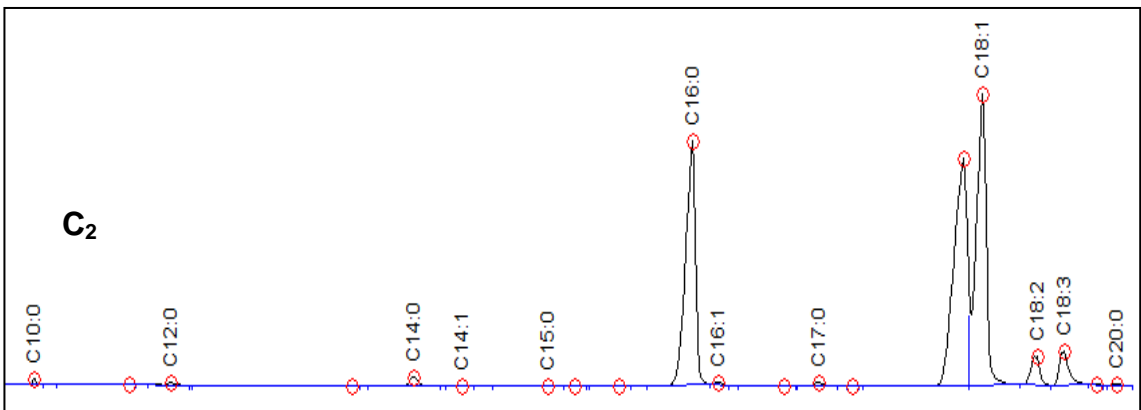
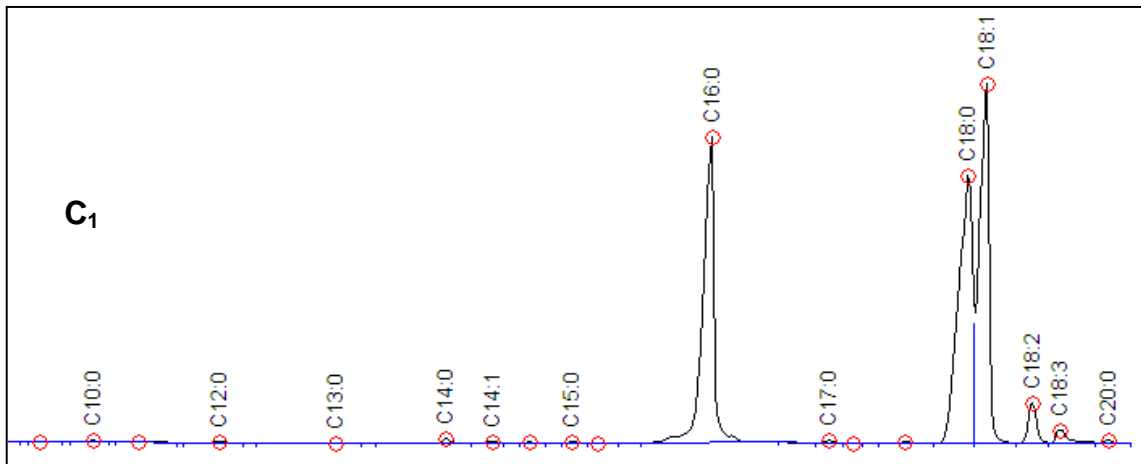
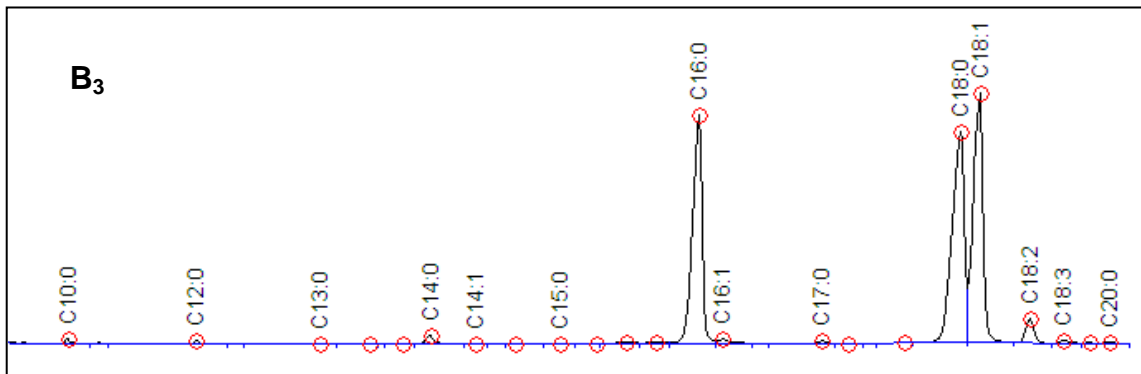
Diante do exposto, declaro que fui devidamente esclarecido (a) e dou o meu consentimento para participar da pesquisa e para publicação dos resultados. Estou ciente que receberei uma cópia desse documento.

Assinatura do Participante da Pesquisa

Caso necessite de maiores informações sobre o presente estudo, favor ligar para:
Pesquisadora: Alline da Silva Lima de Souza
Endereço (Setor de Trabalho): Coordenação de Pós-Graduação em Ciências e Tecnologia de Alimentos
Telefone: 3216-7269

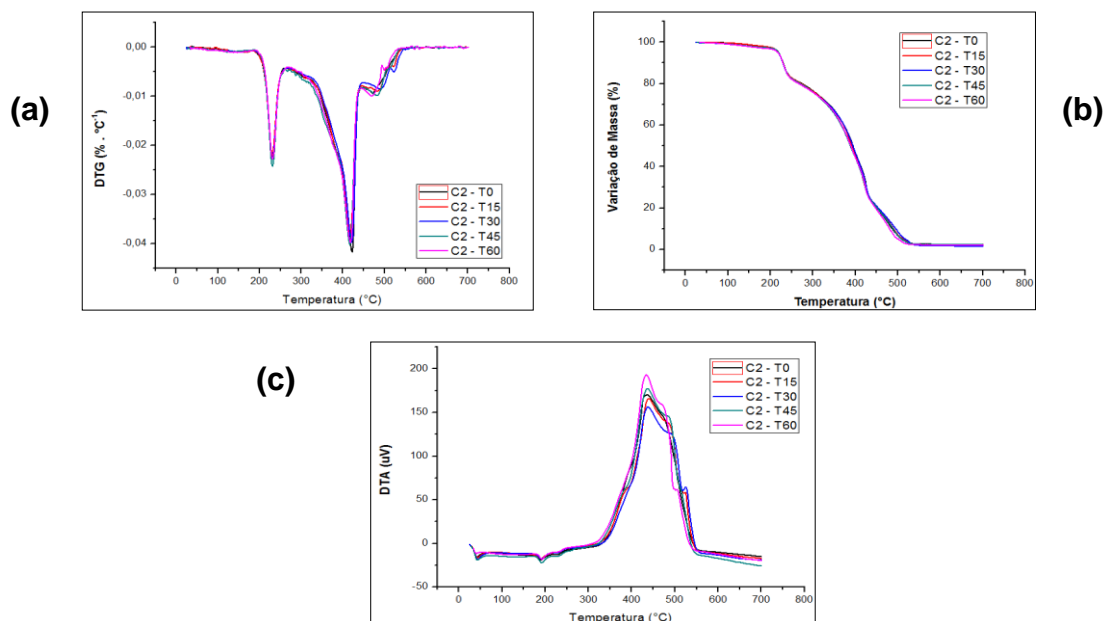
APÊNDICE B - Cromatogramas da gordura dos chocolates amargos



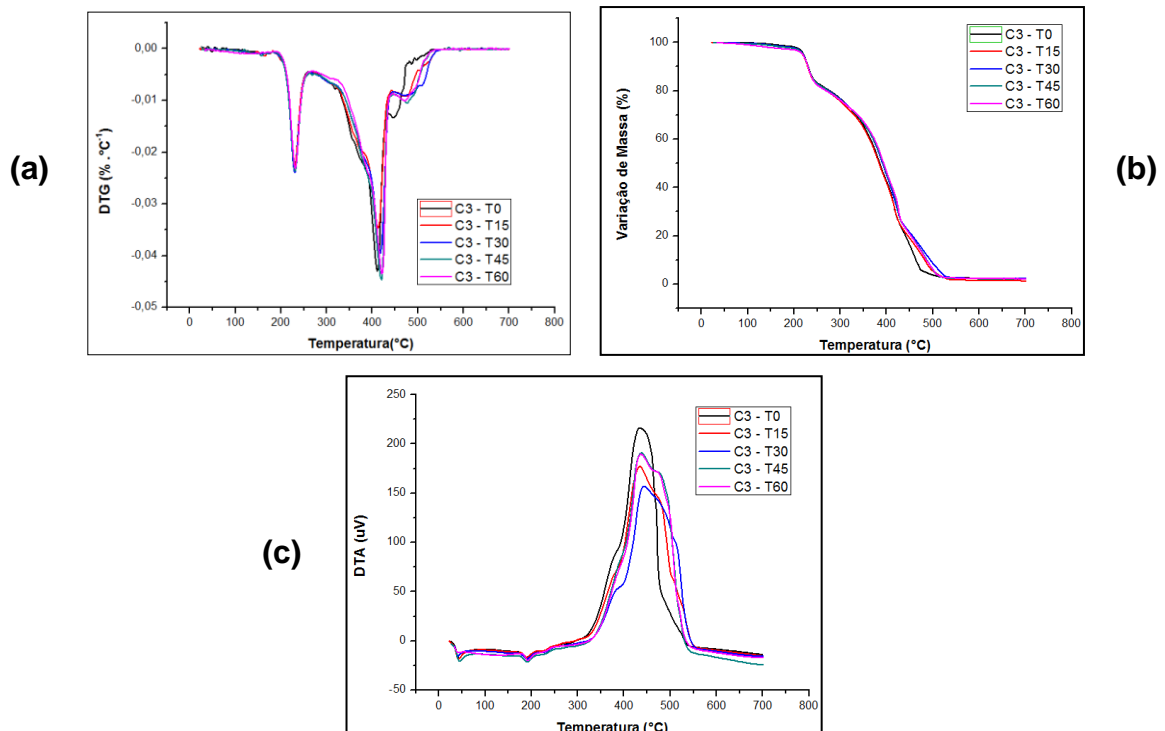


APÊNDICE C – Dados termogravimétricos das amostras de chocolate amargo a 70% e suas respectivas curvas DTG (a), TG (b) e DTA (c).

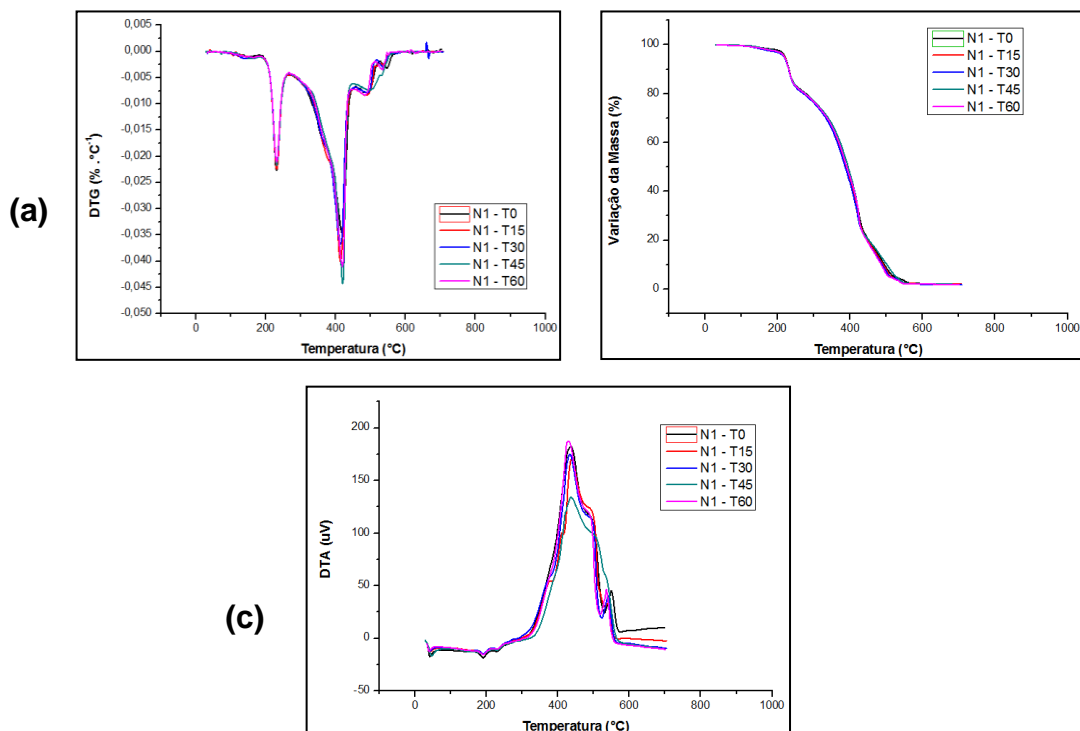
Amostra	T.A.	Etapa	T _{inicial} (°C)	T _{final} (°C)	Δ massa (%)	T _{pico} DTA(°C)	Transição
A ₂	T ₀	1	29,51	130,30	0,78	41,82	endo
		2	130,30	190,32	1,40	189,55	endo
		3	190,32	257,26	15,92	436,92	exo
		4	257,26	443,46	59,95		
		5	443,46	699,67	19,55		
	T ₁₅	1	27,52	130,21	0,73	43,73	endo
		2	130,21	190,43	1,41	190,43	endo
		3	190,43	260,31	16,39	439,82	exo
		4	260,31	448,70	60,46		
		5	448,70	699,63	18,86		
	T ₃₀	1	25,15	130,01	1,49	43,23	endo
		2	130,01	190,83	1,36	190,83	endo
		3	190,83	260,95	16,40	438,00	exo
		4	260,95	448,46	59,47		
		5	448,46	699,50	19,73		
	T ₄₅	1	27,16	130,63	1,43	43,38	endo
		2	130,63	190,85	1,15	190,85	endo
		3	190,85	260,73	16,29	436,00	exo
		4	260,73	448,35	60,32		
		5	448,35	699,29	18,50		
	T ₆₀	1	34,04	130,17	1,59	40,55	endo
		2	130,17	190,67	1,43	191,44	endo
		3	190,67	260,76	16,31	433,86	exo
		4	260,76	448,79	61,00		
		5	448,79	700,78	17,62		



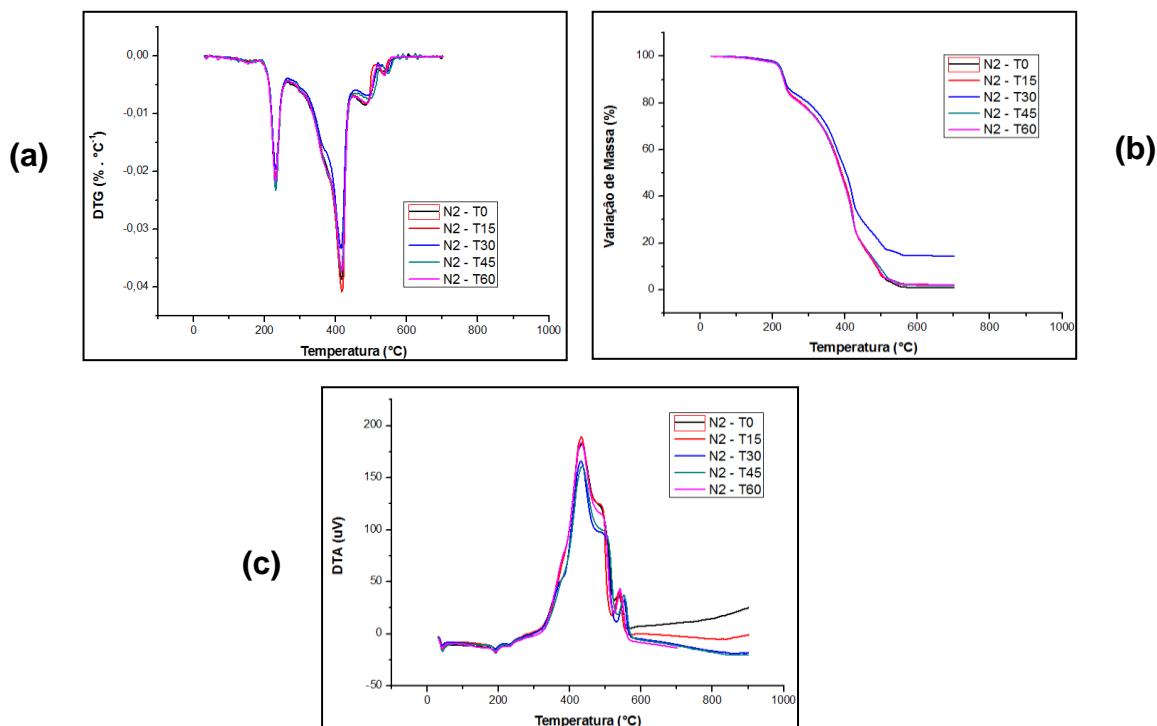
Amostra	T.A.	Etapas	T _{inicial} (°C)	T _{final} (°C)	Δ massa (%)	T _{pico} DTA(°C)	Transição
A ₃	T ₀	1	25,77	137,21	0,42	43,19	endo
		2	137,21	194,09	1,20	189,83	endo
		3	194,09	258,32	16,12	434,76	exo
		4	258,32	440,56	62,23		
		5	440,56	699,42	17,77		
	T ₁₅	1	22,31	130,95	0,79	42,17	endo
		2	130,95	190,91	1,36	189,74	endo
		3	190,91	260,61	16,66	434,65	exo
		4	260,61	447,89	61,66		
		5	447,89	700,20	18,15		
	T ₃₀	1	31,79	130,12	0,66	40,62	endo
		2	130,12	190,43	1,29	190,43	endo
		3	190,43	260,34	16,35	442,79	exo
		4	260,34	448,55	59,98		
		5	448,55	700,53	19,37		
	T ₄₅	1	26,90	130,53	0,79	44,30	endo
		2	130,53	190,85	1,35	190,07	endo
		3	190,85	260,83	16,25	437,15	exo
		4	260,83	448,75	60,57		
		5	448,75	700,08	18,91		
	T ₆₀	1	33,78	130,97	1,66	40,29	endo
		2	130,97	190,27	0,65	191,80	endo
		3	190,27	260,29	15,32	436,67	exo
		4	260,29	448,92	58,29		
		5	448,92	699,91	21,20		



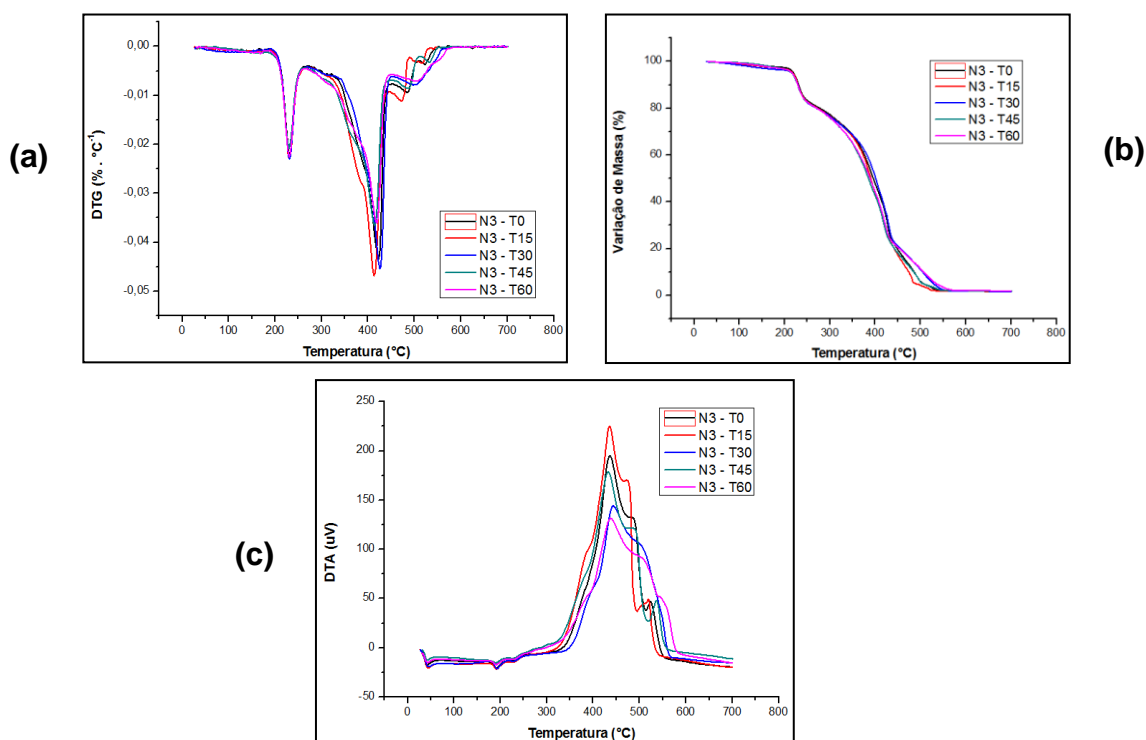
Amostra	T.A.	Etapa	T _{inicial} (°C)	T _{final} (°C)	Δ massa (%)	T _{pico} DTA(°C)	Transição
B ₁	T ₀	1	29,75	130,64	0,67	42,23	endo
		2	130,64	190,57	1,46	190,57	endo
		3	190,57	260,49	15,53	435,29	exo
		4	260,49	448,28	60,97		
		5	448,28	700,49	19,88		
	T ₁₅	1	32,47	130,03	0,73	40,94	endo
		2	130,03	190,26	1,64	190,26	endo
		3	190,26	260,45	15,92	438,64	exo
		4	260,45	448,10	61,72		
		5	448,10	699,96	17,90		
	T ₃₀	1	32,34	129,92	0,93	40,80	endo
		2	129,92	190,16	1,86	190,16	endo
		3	190,16	260,36	15,98	433,61	exo
		4	260,36	448,05	61,92		
		5	448,05	699,97	17,42		
T ₄₅	1	27,26	131,03	0,55	42,17	endo	
	2	131,03	190,69	1,79	189,74	endo	
	3	190,69	260,37	15,84	434,65	exo	
	4	260,37	448,35	61,22			
	5	448,35	699,51	18,65			
T ₆₀	1	32,71	130,02	0,84	38,46	endo	
	2	130,02	190,17	1,60	188,64	endo	
	3	190,17	260,67	15,99	429,62	exo	
	4	260,67	448,40	62,39			
	5	448,40	699,72	17,33			



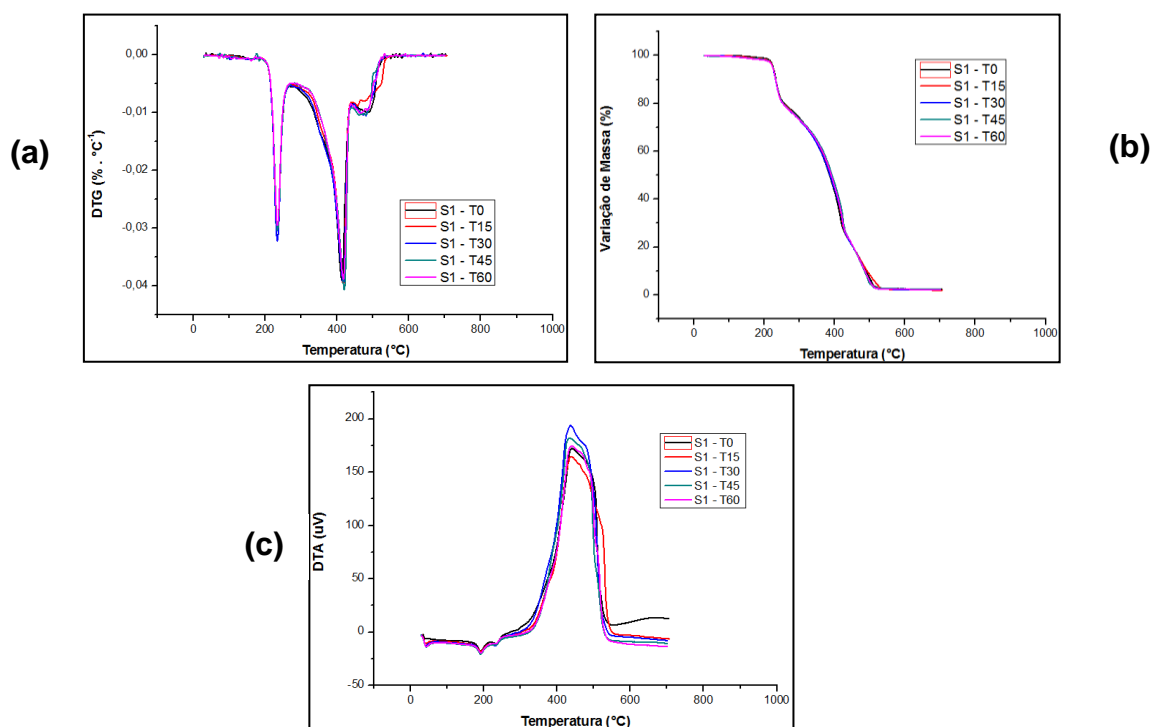
Amostra	T.A.	Etapas	T _{inicial} (°C)	T _{final} (°C)	Δ massa (%)	T _{pico} DTA(°C)	Transição
B ₂	T ₀	1	31,43	130,22	0,54	40,91	endo
		2	130,22	191,09	1,24	191,09	endo
		3	191,09	260,94	16,16	433,57	exo
		4	260,94	448,04	62,67		
		5	448,04	699,50	18,50		
	T ₁₅	1	30,67	130,60	0,46	43,16	endo
		2	130,60	190,56	1,26	190,56	endo
		3	190,56	260,50	16,02	431,88	exo
		4	260,50	447,87	63,23		
		5	447,87	699,69	16,85		
	T ₃₀	1	32,35	130,98	0,53	40,73	endo
		2	130,98	190,31	1,25	190,31	endo
		3	190,31	266,10	14,56	430,65	exo
		4	266,10	453,09	55,33		
		5	453,09	700,90	14,01		
	T ₄₅	1	29,14	130,21	0,83	41,65	endo
		2	130,21	190,25	1,33	190,25	endo
		3	190,25	260,30	16,11	434,42	exo
		4	260,30	448,43	62,07		
		5	448,43	699,11	17,90		
	T ₆₀	1	32,14	130,42	0,84	39,44	endo
		2	130,42	190,70	1,49	190,70	endo
		3	190,70	260,57	15,98	431,41	exo
		4	260,57	448,69	62,28		
		5	448,69	700,53	17,28		



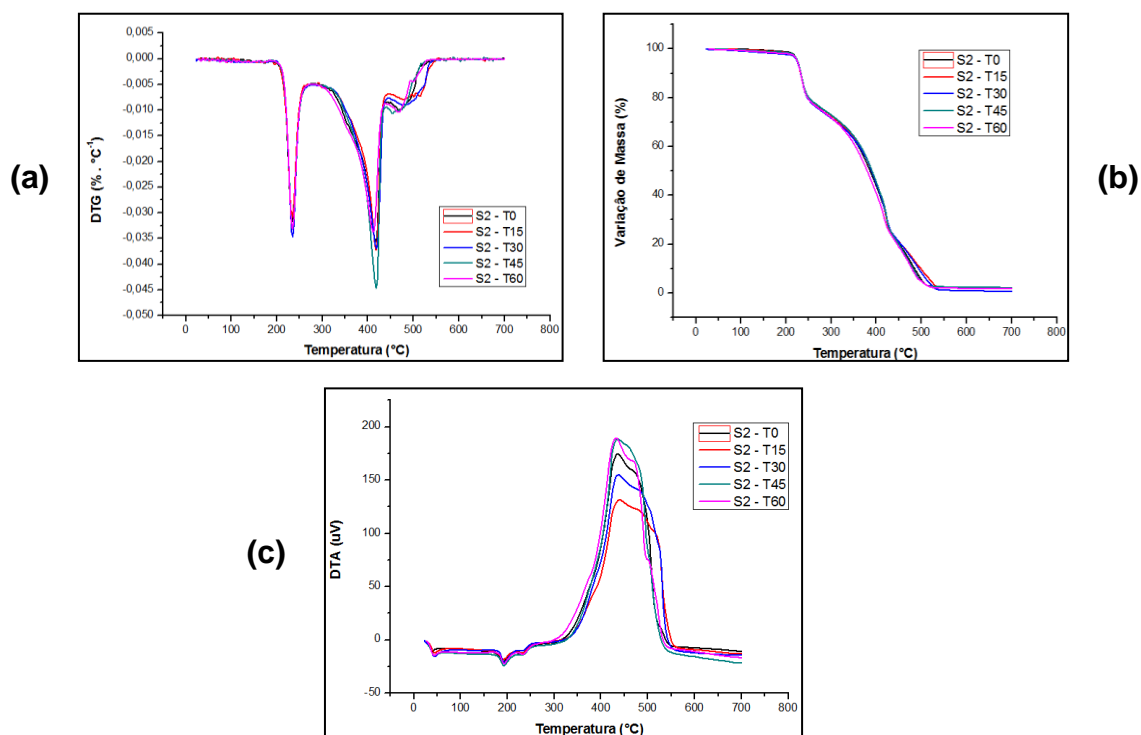
Amostra	T.A.	Etapa	T _{inicial} (°C)	T _{final} (°C)	Δ massa (%)	T _{pico} DTA(°C)	Transição
B ₃	T ₀	1	29,76	130,49	1,23	42,06	endo
		2	130,49	190,47	1,17	191,24	endo
		3	190,47	260,06	15,67	435,39	exo
		4	260,06	449,23	62,13		
		5	449,23	699,14	18,11		
	T ₁₅	1	26,93	130,83	1,63	42,91	endo
		2	130,83	190,37	1,26	191,17	endo
		3	190,37	260,31	15,72	434,94	exo
		4	260,31	448,53	63,63		
		5	448,53	699,89	16,17		
	T ₃₀	1	27,90	130,52	2,32	45,26	endo
		2	130,52	190,70	1,21	193,02	endo
		3	190,70	260,53	15,37	443,77	exo
		4	260,53	448,08	59,72		
		5	448,08	699,05	19,90		
T ₄₅	1	31,18	130,38	1,00	41,95	endo	
	2	130,38	191,13	1,88	191,13	endo	
	3	191,13	257,26	15,48	432,58	exo	
	4	257,26	445,66	62,48			
	5	445,66	699,80	17,28			
T ₆₀	1	31,07	130,88	1,36	46,36	endo	
	2	130,88	190,77	1,62	191,53	endo	
	3	190,77	260,25	15,75	437,60	exo	
	4	260,25	448,35	60,36			
	5	448,35	699,41	18,96			



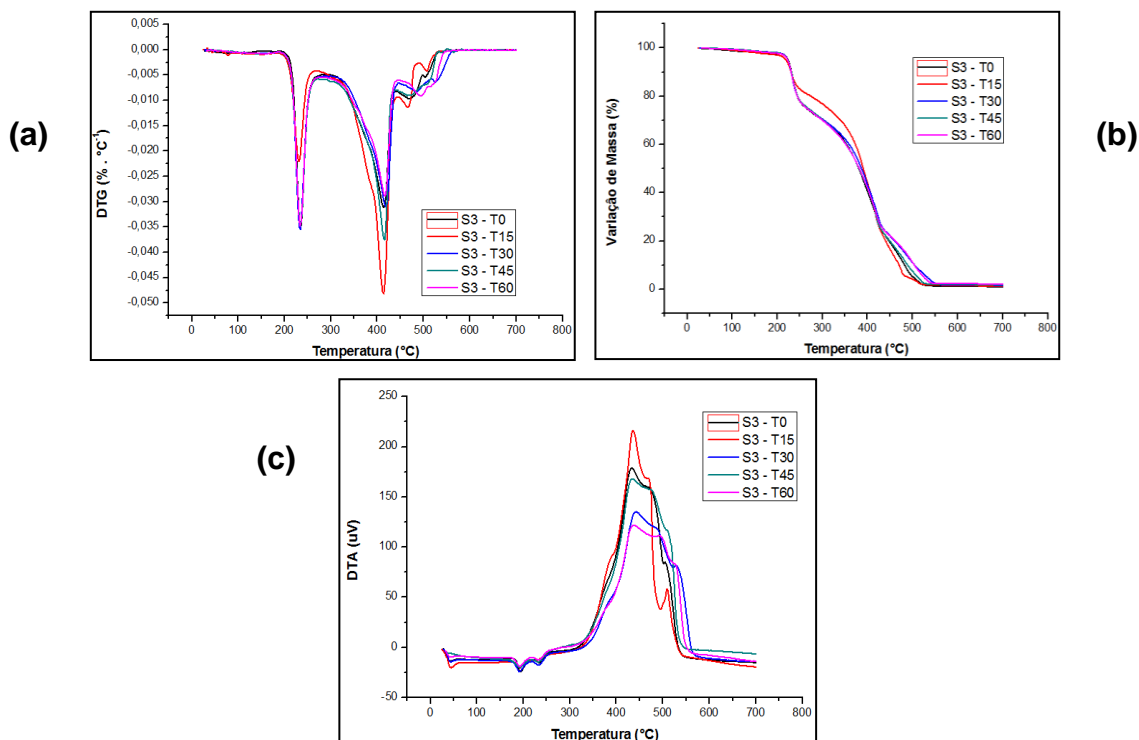
Amostra	T.A.	Etapa	T _{inicial} (°C)	T _{final} (°C)	Δ massa (%)	T _{pico} DTA(°C)	Transição
C ₁	T ₀	1	33,61	135,17	0,43	37,34	endo
		2	135,17	190,43	0,79	190,76	endo
		3	190,43	261,62	19,78	440,60	exo
		4	261,62	446,87	58,37		
		5	446,87	700,23	18,65		
	T ₁₅	1	31,10	130,84	0,42	40,57	endo
		2	130,84	190,69	0,99	191,69	endo
		3	190,69	261,51	19,78	438,05	exo
		4	261,51	447,53	57,84		
		5	447,53	699,88	19,12		
	T ₃₀	1	29,30	130,97	0,69	40,86	endo
		2	130,97	190,28	0,99	191,05	endo
		3	190,28	260,76	19,80	437,14	exo
		4	260,76	448,69	57,83		
		5	448,69	699,79	18,65		
	T ₄₅	1	27,81	130,59	0,66	43,26	endo
		2	130,59	190,87	1,58	190,87	endo
		3	190,87	260,81	19,49	433,15	exo
		4	260,81	447,83	54,26		
		5	447,83	699,77	21,96		
	T ₆₀	1	29,88	130,03	0,76	42,20	endo
		2	130,03	190,13	0,94	191,67	endo
		3	190,13	260,62	19,68	440,52	exo
		4	260,62	448,61	57,33		
		5	448,61	700,55	19,17		



Amostra	T.A.	Etapa	T _{inicial} (°C)	T _{final} (°C)	Δ massa (%)	T _{pico} DTA(°C)	Transição
C ₂	T ₀	1	30,95	130,82	0,44	39,79	endo
		2	130,82	190,74	0,85	191,51	endo
		3	190,74	261,81	21,14	434,66	exo
		4	261,81	448,49	54,27	434,66	exo
		5	448,49	699,70	21,40		
	T ₁₅	1	27,87	130,38	0,44	45,02	endo
		2	130,38	190,61	0,88	192,20	endo
		3	190,61	259,61	20,61	439,50	exo
		4	259,61	448,27	56,86	439,50	exo
		5	448,27	699,95	19,59		
	T ₃₀	1	22,68	130,35	1,27	43,28	endo
		2	130,35	190,99	0,84	192,55	endo
		3	190,99	260,57	20,80	437,825	exo
		4	260,57	448,71	55,73	437,825	exo
		5	448,71	699,42	20,68		
T ₄₅	1	30,35	130,28	0,67	43,42	endo	
	2	130,28	190,23	0,70	192,54	endo	
	3	190,23	260,57	20,41	435,82	exo	
	4	260,57	448,12	57,66	435,82	exo	
	5	448,12	699,47	18,31			
T ₆₀	1	28,10	130,72	1,02	42,76	endo	
	2	130,72	190,90	0,80	193,22	endo	
	3	190,90	261,50	21,02	430,86	exo	
	4	261,50	448,22	57,79	430,86	exo	
	5	448,22	699,75	17,57			



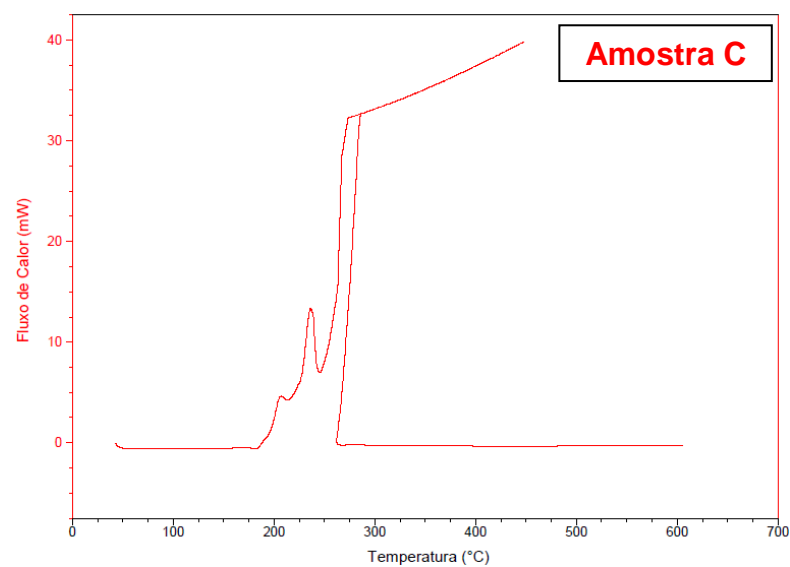
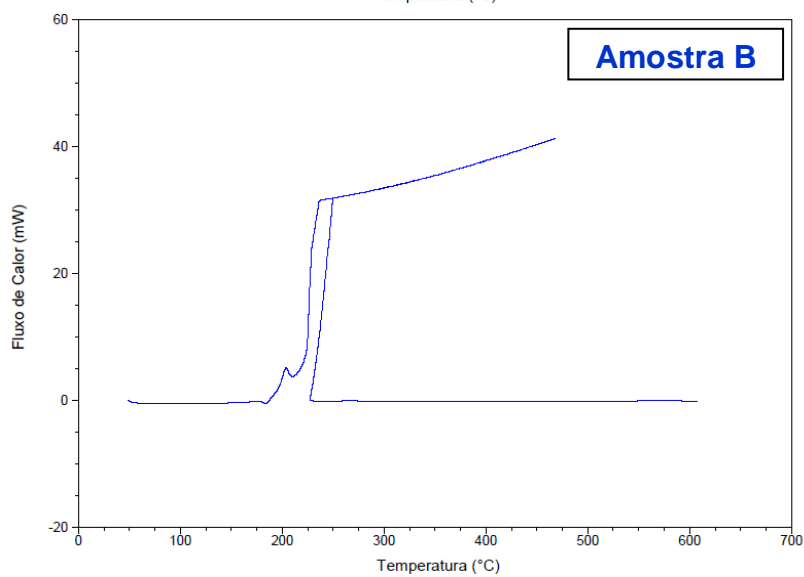
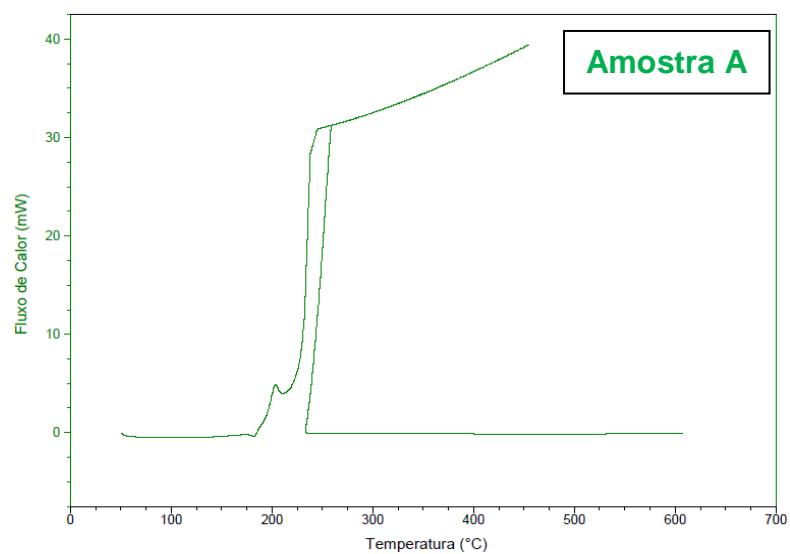
Amostra	T.A.	Etapa	T _{inicial} (°C)	T _{final} (°C)	Δ massa (%)	T _{pico} DTA(°C)	Transição
C ₃	T ₀	1	27,48	130,27	1,58	42,94	endo
		2	130,27	190,55	0,54	193,64	endo
		3	190,55	261,26	22,37	432,82	exo
		4	261,26	448,28	55,61		
		5	448,28	700,22	18,79		
	T ₁₅	1	24,66	130,90	1,44	43,91	endo
		2	130,90	190,63	1,20	191,43	endo
		3	190,63	260,79	15,78	435,97	exo
		4	260,79	438,38	60,85		
		5	438,38	700,16	19,39		
	T ₃₀	1	28,04	130,60	0,92	44,23	endo
		2	130,60	190,75	0,89	190,75	endo
		3	190,75	261,31	22,32	442,15	exo
		4	261,31	448,70	53,57		
		5	448,70	699,32	20,66		
	T ₄₅	1	35,80	134,90	0,90	44,57	endo
		2	134,90	192,46	0,98	192,46	endo
		3	192,46	261,45	22,09	433,74	exo
		4	261,45	448,61	55,76		
		5	448,61	699,42	18,38		
	T ₆₀	1	31,92	133,95	1,09	43,43	endo
		2	133,95	198,78	1,09	191,49	endo
		3	198,78	265,52	22,84	437,36	exo
		4	265,52	448,10	52,53		
		5	448,10	699,73	20,27		



APÊNDICE D – Resíduos das amostras de chocolate amargo

Amostra	T.A	Resíduo (cinzas) (%)
A₂	T ₀	2,41
	T ₁₅	2,15
	T ₃₀	1,56
	T ₄₅	2,32
	T ₆₀	2,05
A₃	T ₀	2,26
	T ₁₅	1,39
	T ₃₀	2,35
	T ₄₅	2,12
	T ₆₀	2,26
B₁	T ₀	1,48
	T ₁₅	2,10
	T ₃₀	1,88
	T ₄₅	1,95
	T ₆₀	1,86
B₂	T ₀	0,90
	T ₁₅	2,20
	T ₃₀	14,32
	T ₄₅	1,76
	T ₆₀	2,13
B₃	T ₀	1,68
	T ₁₅	1,58
	T ₃₀	1,48
	T ₄₅	1,89
	T ₆₀	1,95
C₁	T ₀	1,99
	T ₁₅	1,86
	T ₃₀	2,04
	T ₄₅	2,04
	T ₆₀	2,12
C₂	T ₀	1,90
	T ₁₅	1,62
	T ₃₀	0,69
	T ₄₅	2,25
	T ₆₀	1,79
C₃	T ₀	1,10
	T ₁₅	1,35
	T ₃₀	1,64
	T ₄₅	1,90
	T ₆₀	2,18

APÊNDICE E – Curvas PDSC das amostras de chocolate amargo



ANEXO

ANEXO A – Certidão de aprovação da pesquisa pelo CEP/HULW.



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAIBA - UFPB
 HOSPITAL UNIVERSITÁRIO LAURO WANDERLEY - HULW
**COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA COM SERES
 HUMANOS - CEP**

CERTIDÃO

Com base na Resolução nº 196/96 do CNS/MS que regulamenta a ética da pesquisa em seres humanos, o Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Lauro Wanderley - CEP/HULW, da Universidade Federal da Paraíba, em sua sessão realizada no dia 27/07/2010, após análise do parecer do relator, resolveu considerar **APROVADO** o projeto de pesquisa intitulado **AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE TÉRMICA E OXIDATIVA DE CHOCOLATES AMARGOS**. Protocolo CEP/HULW nº. 423/10, da pesquisadora ALLINE DA SILVA LIMA DE SOUZA.

No final da pesquisa, solicitamos enviar ao CEP/HULW, uma cópia desta certidão e da pesquisa, em CD, para emissão da certidão para publicação científica.

João Pessoa, 28 de julho de 2010.

Iaponira Cortez Costa de Oliveira
 Coordenadora do Comitê de Ética
 em Pesquisa - CEP/HULW

Prof^a Dr^a Iaponira Cortez Costa de Oliveira
 Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa-HULW

Endereço: Hospital Universitário Lauro Wanderley-HULW - 4º andar. Campus I - Cidade Universitária.
 Bairro: Castelo Branco - João Pessoa - PB. CEP: 58051-900 CNPJ: 24098477/007-05
 Fone: (83) 32167302 — Fone/fax: (083)32167522 E-mail - cepulw@hotmail.com

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)