

Caio Henrique de Souza

Estudante do Curso de Nutrição / UNIFAL-MG
caiohsouza@gmail.com

Isadora Maria Padilha de Paula

Estudante do Curso de Nutrição / UNIFAL-MG
dorinha.padilha@hotmail.com

Gislene Regina Fernandes

Laboratório de Nutrição Experimental, docente da
Faculdade de Nutrição / UNIFAL-MG
gislene.fernandez@unifal-mg.edu.br

Bruno Martins Dala Paula

Laboratório de Nutrição Experimental, docente da
Faculdade de Nutrição / UNIFAL-MG
bruno.paula@unifal-mg.edu.br

TEORES DE FLAVONOIDES, COMPOSTOS FENÓLICOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM DIFERENTES TIPOS E MARCAS DE CHOCOLATES COMERCIAIS.

RESUMO

Estudos recentes apontam melhoras significativas em biomarcadores metabólicos quando produtos com elevados teores de cacau são consumidos regularmente. O perfil e principalmente os teores de flavonoides nos chocolates são variáveis, pois sua concentração depende da fonte da semente do cacau, das condições de processamento e das etapas de fabricações do produto. Em função disso, foi analisado comparativamente o conteúdo de compostos fenólicos, flavonoides e a atividade antioxidante de quatro marcas de chocolates comerciais do tipo meio amargo e duas do tipo amargo, analisados em triplicata por métodos espectrofotométricos. Os teores de compostos fenólicos totais variaram de 27,81 a 48,14 mg de ácido gálico por/25 g de amostra, sendo os maiores teores encontrados nos chocolates do tipo amargo ($P \leq 0,05$). Os flavonoides variaram de 18,09 a 24,47 mg de catequinas/ 25 g de amostra. A atividade antioxidante variou de 0,57 a 2,61 mmols equivalentes de Trolox/25 g de amostra, sendo os maiores valores observados nos chocolates do tipo amargo ($P \leq 0,05$). O chocolate meio amargo da marca D apresentou os menores valores ($P \leq 0,05$) entre todos os parâmetros pesquisados. As análises realizadas indicaram que o tipo de chocolate (teor de cacau) e a marca são variáveis importantes para os teores de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante, contudo, o teor de cacau não possibilitou correlação direta com os teores de flavonoides. Pode-se concluir que os chocolates comerciais são fontes significativas de compostos bioativos e a marca, refletindo nas diferentes condições de processamento, demonstrou-se importante para seus teores finais.

Palavras-chave: Cacau. Método espectrofotométrico. ABTS. Catequina. Potencial antioxidante.

FLAVONOID CONTENT, PHENOLIC COMPOUNDS AND ANTIOXIDANT ACTIVITY IN DIFFERENT TYPES AND BRANDS OF COMMERCIAL CHOCOLATES.

ABSTRACT

Recent studies point to significant improvements in metabolic biomarkers when products with high cocoa content are consumed on a regular basis. The profile and particularly the flavonoid contents in chocolates are variable, as their concentrations depend on the source of the cocoa seed, processing conditions and the processes of product manufacturing. Considering the above, the

phenolic compound and flavonoid contents and antioxidant activity of two brands of bitter and four of semi-sweet commercial chocolates, analyzed in triplicate via spectrophotometric methods, were compared. The contents of total phenolic compounds ranged from 27.81 to 48.14 mg of gallic acid equivalent/25 g of sample, with the bitter chocolates having the highest contents ($P \leq 0.05$). The flavonoid contents ranged from 18,09 to 24,47 mg catechins equivalent/25 g sample. Antioxidant activity ranged from 0.57 to 2.61 mM Trolox equivalents/25 g of sample, with bitter chocolates having the highest values ($P \leq 0.05$). Semi-sweet chocolate brand D had the lowest values ($P \leq 0.05$) among all of the parameters studied. The analyses indicated that chocolate type (cocoa content) and brand are important variables for total phenolic compound content and antioxidant activity, however, it was not possible to determine a direct correlation between cocoa content and flavonoid content. It can be concluded that commercial chocolates are significant sources of functional compounds and the brand, with differing processing conditions, proved to be important for their final contents.

Keywords: Cocoa seed. Spectrophotometric method. ABTS. Catechin. Antioxidant potential.

Recebido em: XX/XX/XXXX - Aprovado em: XX/XX/XXXX - Disponibilizado em: XX/XX/XXXX

1. INTRODUÇÃO

O chocolate é um derivado do cacau (*Theobroma cacao* L.) que pertence à família Sterculiaceae, ordem Malvales, que tem origem na América Central. Os povos maias e astecas cultivavam sementes de cacau, e a usavam para extrair uma bebida chamada chocolatl, que futuramente seria chamada de chocolate moderno (BAHARUM et al. 2016).

No Brasil a legislação define o chocolate como produto obtido de uma mistura de derivados de cacau, massa cacau em pó ou manteiga, com outros ingredientes, contendo, no mínimo, 25% de sólidos totais de cacau podendo ou não conter recheio, cobertura formato e consistência variados (BRASIL, 2005).

As variedades mais comuns de chocolates são: amargo, onde na sua composição contém sementes de cacau, o mínimo de

manteiga de cacau e pouco açúcar; meio amargo, que apresenta um elevado teor de massa de cacau, pouca manteiga de cacau e pouco açúcar; ao leite que contém licor, manteiga de cacau, açúcar, leite em pó ou leite condensado e por fim, o branco que é um tipo de chocolate não vai massa de cacau na sua composição, tendo como ingredientes apenas leite, açúcar, manteiga de cacau, lecitina e aromatizantes (MARTINS, 2007).

A matéria prima base na fabricação de chocolates, massa de cacau, é fonte de compostos fenólicos monoméricos, como epicatequina (em quantidade equivalente a 35% do conteúdo de polifenóis) antocianinas, e uma grande variedade de compostos voláteis (TODOROVIC et al. 2015). Esses compostos são constituídos basicamente, por três anéis fenólicos, onde os seus carbonos podem sofrer variações químicas, como hidroxilação,

hidrogenação metilação e sulfonação, podendo levar a formação de outros compostos (GEORGI; ANANGA; TSOLOVA, 2014).

Os compostos fenólicos são metabólitos secundários presentes no reino vegetal e integrado diretamente na dieta humana (SALVADOR, 2011). Os efeitos sobre a saúde destes compostos variam de acordo com o tipo de polifenol ingerido e a biodisponibilidade presente em cada tipo de alimento (CLIFORD, 2004; DUEÑAS et al., 2015).

O cacau é um alimento rico em compostos com propriedades antioxidantes, que retardam a oxidação da lipoproteína de baixa densidade (LDL), e ainda, inibem a oxidação induzida pelos raios UV (Ultravioleta) (CORTIR et al., 2009). Segundo Lee et al. (2003), a atividade antioxidante do cacau foi superior à de outros alimentos, apresentando também elevados níveis de fenólicos totais, 611 mg equivalente de ácido gálico (EAG)/porção e flavonoides, 564 mg de equivalente de catequinas (EC)/porção, quando comparado à porção de vinho tinto, 340 mg EAG e 163 mg de EC; chá verde, 165 mg EAG e 47 mg de EC; e chá preto, 124 mg EAG e 34 mg EC, respectivamente.

De acordo com alguns estudos, o consumo moderado de chocolate está associado a redução dos níveis de pressão sanguínea, produção de serotonina provocando sensações de prazer e bem-estar, estímulo do sistema nervoso central, circulação e rins, reduzindo o cansaço, melhorando a coordenação motora e aumentando a atividade sensorial. Podem apresentar também ações antioxidantes, anti-hipercolesterolêmicas, anti-inflamatórias, anticancerígenas e neuroprotetoras analgésica e

vasodilatadora (GOTTI et al., 2006; IRANSHAHI et al., 2015; MUHAMMAD et al., 2018).

A maioria dos estudos que são realizados sobre a tecnologia de produção do chocolate tem foco na melhoria do sabor, textura, aparência e tempo de prateleira dos produtos à base de cacau, enquanto as características físico-químicas e seus benefícios para a saúde permaneceram amplamente desconhecidos até o final do século passado, porém algumas evidências relacionadas aos benefícios à saúde proporcionada pelo consumo de produtos à base de cacau vêm sendo investigadas (PETYAEV; BASSHMAKOV; YURIY, 2017).

Considerando a busca por melhor qualidade de vida, a escolha por alimentos com propriedades funcionais é cada vez mais comum, recebendo destaque os alimentos com propriedades antioxidantes, conferidas por compostos fenólicos, em especial, os flavonoides (MEDEIROS et al., 2015). A partir dessa perspectiva, o objetivo deste estudo foi analisar e comparar o conteúdo fenólico, de flavonoides, além da atividade antioxidante de diferentes marcas de chocolates comerciais do tipo meio amargo e amargo.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 AMOSTRAGEM

Foram selecionadas duas barras de chocolate de quatro marcas (A, B, C e D). Para as marcas A e C coletou-se apenas amostras de chocolate do tipo meio amargo. Para as marcas B e D foram coletadas amostras do tipo meio

amargo e amargo (Tabela 1). As amostras foram adquiridas no mercado varejista do município de Alfenas-MG.

Tabela 1 - Tipos de chocolates analisados e seus percentuais de cacau declarados nos rótulos das embalagens comerciais.

Amostra	Tipo	Percentual de cacau*
Ama	Meio amargo	40%
Bma	Meio amargo	40%
Cma	Meio amargo	40%
Dma	Meio amargo	40%
Ba	Amargo	60%
Da	Amargo	70%

Leg.: Ama: Chocolate meio amargo da marca A; Bma: Chocolate meio amargo da marca B; Cma: Chocolate meio amargo da marca C; Dma: Chocolate meio amargo da marca D; Ba: Chocolate amargo da marca B; Da: Chocolate amargo da marca D. *informação obtida a partir dos rótulos das amostras.

As amostras coletadas foram congeladas a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ e raladas com raladores de aço inoxidável. Uma alíquota de 0,1 g de cada amostra foi pesada e adicionado 1 mL de solução de metanol/água (80:20 v/v). As amostras foram homogeneizadas e levadas ao banho ultrassom, modelo Ultra Cleaner 1400 (Unique, São Paulo, Brasil) por 20 min, sendo em seguida, centrifugadas a $12.000 \times g$ por 5 min. (SALVADOR et al., 2011). Foram realizados três processos independentes de extração para cada amostra de chocolate.

Os sobrenadantes foram armazenados em temperatura de refrigeração, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$, em frascos de vidro envoltos em papel alumínio até o momento das análises químicas.

2.2 MÉTODOS

Para determinação dos fenólicos totais, foram utilizados 50 μl de amostra, 250 μl do

reagente Folin–Ciocalteu, 2,5 ml de H_2O , a mistura foi agitada por 1 min e acrescida de 1 mL de Na_2CO_3 (7% p/v). As amostras foram novamente homogeneizadas por 1 min e incubadas por 1 h em temperatura ambiente e ao abrigo da luz. As leituras foram feitas a 750 nm no espectrofotômetro Bilphotonics UV-MS1 (BEL Engineering S.R.L, Shanghai, China) tendo como “branco” 50 μl de H_2O acrescidos dos reagentes do ensaio (UNTEA et al., 2018). Os resultados obtidos foram calculados a partir de uma curva padrão de ácido gálico e expressos em equivalentes de ácido gálico (EAG)/25 g de amostra. A alíquota de 25 g de chocolate é equivalente a uma porção do produto nos rótulos nutricionais, segundo especificações da Resolução - RDC N^o. 359, de 23 de dezembro de 2003 (BRASIL, 2003).

Para a determinação dos flavonoides totais, foram utilizados 250 μl do extrato metanoico, 1,0 ml de água destilada, 75 μl de solução de NaNO_2 (5% p/v), sendo a mistura homogeneizada e incubada a temperatura ambiente por 5 min. Em seguida foram adicionados 75 μl de AlCl_3 (10% p/v), a mistura homogeneizada e incubada por mais 5 minutos, sendo então adicionada de 0,5 mL de NaOH 1M (GÓMEZ-MEJÍA et al., 2019). As leituras foram realizadas a 510 nm feitas no espectrofotômetro, tendo como “branco” 250 μl de H_2O acrescidos dos reagentes do ensaio. Uma curva padrão de catequinas foi utilizada para a quantificação dos flavonoides, sendo os resultados expressos em equivalentes de catequinas (EC)/25 g de amostra.

A atividade antioxidante foi determinada pelo método espectrofotométrico de neutralização do radical 2,2-azinobis (3-

etilbenzotiazolína-6-ácido sulfônico) (ABTS) (UNTEA et al., 2018). Uma alíquota de até 250 µl do extrato de cada amostra foi adicionada à 750 µl de solução ABTS. A solução ABTS foi previamente preparada utilizando, 0,096 g de ABTS solubilizados em 25 mL de água destilada, sendo adicionado a essa solução 0,01655 g de persulfato de potássio. A solução foi incubada sob proteção da luz, em temperatura ambiente, por 16 horas. O Trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametacromano-Ácido 2 carboxílico) foi utilizado como antioxidante padrão para a construção da curva analítica, sendo as leituras das absorbâncias realizadas no espectrofotômetro a 734 nm e os resultados expressos em equivalentes de trolox (ET)/25 g de amostra.

Os ensaios descritos anteriormente foram realizados em triplicata para cada extrato de chocolate. Os resultados foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA) para comparação das médias, seguido do Teste de Tukey, com nível de significância de 5% ($P \leq 0,05$) para identificação dos tratamentos que se diferiram. A relação entre as variáveis foi determinada pela Correlação de Pearson, sendo todas as análises realizadas no programa estatístico Minitab 16[®].

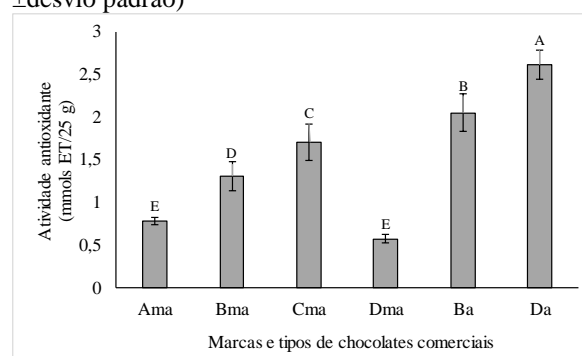
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados de atividade antioxidante (Figura 1) variaram de $0,57 \pm 0,05$ a $2,61 \pm 0,17$ mmols ET/25 g. A amostra de chocolate Da, cuja indicação de cacau informada no rótulo equivale a 70%, apresentou o maior valor de atividade

antioxidante, sendo esta a amostra com maior teor de cacau, dentre as analisadas.

As atividades antioxidantes dos chocolates do tipo meio amargo diferiram entre si (Figura 1), apesar de possuírem o mesmo teor de cacau, 40% (Tabela 1). Essas diferenças podem estar relacionadas à qualidade das matérias-primas utilizadas, assim como nas variáveis envolvidas na tecnologia de produção adotada, como o aumento do pH e temperatura de tostamento das sementes de cacau, condições de fermentação do cacau, perfil e teores dos demais ingredientes, embalagem e formas de armazenamento (GÜLTEKIN-OZGÜVEN; BERKTAS; OZÇELIK; 2016; DI MATTIA et al., 2017; MUDENUTI et al., 2018). Dessa forma, a marca, foi um fator relevante para os valores de atividade antioxidante dos chocolates comerciais.

Figura 1 - Atividade antioxidante de diferentes marcas de chocolates meio amargo e amargo (média \pm desvio padrão)



Leg.: ET: Equivalentes de Trolox; Ama: Chocolate meio amargo da marca A; Bma: Chocolate meio amargo da marca B; Cma: Chocolate meio amargo da marca C; Dma: Chocolate meio amargo da marca D; Ba: Chocolate amargo da marca B; Da: Chocolate amargo da marca D. *Barras representam as faixas dos desvios padrões e colunas acompanhadas de letras iguais não se diferem pela ANOVA, seguida do teste de Tukey ($P \leq 0,05$). Fonte: autoria própria.

Resultados semelhantes foram encontrados na avaliação de chocolates

comerciais, onde os chocolates contendo 70% de cacau, apresentaram os maiores potenciais antioxidante e o chocolate do tipo branco, os menores (FERNANDEZ et al., 2014). No entanto, Laličić-Petronijević et al. (2016) não observaram diferença entre a atividade antioxidante de chocolates do tipo amargo, com 75% de cacau (0,88 mmols ET/25 g) e meio amargo, com 44% de cacau (0,74 mmols ET/25 g). Os autores observaram diferença deste parâmetro, apenas para as amostras de chocolate ao leite, com 27% de cacau (0,12 mmol ET/25 g).

Os teores de compostos fenólicos totais variaram de $27,81 \pm 3,47$ a $48,14 \pm 0,84$ mg EAG/25 g de amostra (Tabela 2). Considerando uma mesma marca, os chocolates do tipo amargo (Ba e Da) apresentaram teores superiores aos do tipo meio amargo (Bma e Dma), seguindo a tendência das proporções de cacau utilizadas nos dois tipos de chocolate.

Tabela 2 - Teores de fenólicos e flavonoides totais em diferentes marcas de chocolates meio amargo e amargo (média \pm desvio padrão)

Amostra	Fenólicos totais (mg EAG/25 g)	Flavonoides (mg EC/25 g)
A _{ma}	$45,05 \pm 0,80^B$	$24,47 \pm 0,39^A$
B _{ma}	$38,28 \pm 5,15^C$	$23,00 \pm 1,09^{AB}$
C _{ma}	$45,45 \pm 5,15^B$	$22,70 \pm 1,19^{AB}$
D _{ma}	$27,81 \pm 3,47^D$	$18,09 \pm 7,61^B$
B _a	$48,07 \pm 0,43^A$	$22,55 \pm 0,79^{AB}$
D _a	$48,14 \pm 0,84^A$	$22,34 \pm 0,14^{AB}$

Leg.: EAG: Equivalentes de ácido gálico; EC: Equivalentes de Catequina; Ama: Chocolate meio amargo da marca A; Bma: Chocolate meio amargo da marca B; Cma: Chocolate meio amargo da marca C; Dma: Chocolate meio amargo da marca D; Ba: Chocolate amargo da marca B; Da: Chocolate amargo da marca D. Valores acompanhados de letras iguais, numa mesma coluna, não se diferem pela ANOVA, seguida do Teste de Tukey ($P \leq 0,05$). Fonte: autoria própria.

Ao se comparar os teores de fenólicos totais entre chocolates de diferentes marcas, do tipo meio amargo, todos contendo 40% de cacau, as amostras das marcas Ama e Cma foram aquelas com maiores teores de fenólicos, seguidas da amostra Bma e com os menores teores, a amostra Dma. Possivelmente, a qualidade das matérias primas e os distintos métodos de produção adotados pelas diferentes marcas, justificam a diferença encontrada (DI MATTIA et al., 2017).

Laličić-Petronijević et al. (2016) analisaram chocolates meio amargos (44% de cacau) e amargos (77% de cacau), encontrando resultados distintos ao deste estudo, por não observarem diferenças significativas entre estes tipos de chocolates, contudo, os autores observaram resultados inferiores de fenólicos totais, para os chocolates do tipo ao leite (27% de cacau) quando comparado aos outros dois tipos de chocolate, em coerência ao pressuposto de que os teores de compostos fenólicos e a porcentagem de sólidos de cacau, aumentam no chocolate de forma proporcional, sendo a marca também um fator importante nas análises realizadas. Fernandez et al. (2014) também encontraram maiores teores de fenólicos em chocolates com 45% e 70% quando comparados com chocolates brancos.

As amostras Ama e Dma apresentaram o maior ($24,47 \pm 0,39$ mg EC/25 g) e o menor valor ($18,09 \pm 7,61$ mg EC/25 g) de flavonoides totais (Tabela 2), respectivamente. As duas amostras apresentaram diferenças estatísticas entre si, porém não se diferiram das demais amostras analisadas. Além dos menores teores de

flavonoides, a amostra Dma, apresentou a menor atividade antioxidante e os menores teores de compostos fenólicos, comparados aos demais chocolates.

Gültekin-Ozğüven; Berktaş e Özçelik; (2016) determinaram os teores de flavonoides e fenólicos totais em amostras de chocolates amargos de fabricação própria, elaborados a partir de diferentes temperaturas de tostamento da semente do cacau (115-135 °C) e alcalinização do licor do chocolate (pH 7-9), e observaram ampla faixa de flavonoides totais (39,0 a 165,25 mg EC/25 g) e de fenólicos totais (51,75 e 219,75 mg EC/25 g). Hu; Kim e Baik (2016) identificaram elevado conteúdo de flavonoides em sementes de cacau (474 mg EC/25 g) quando comparado aos chocolates analisados neste estudo. Porém, diferenças na amostragem, nos métodos de preparo e análise das amostras podem influenciar e dificultar a realização de comparações entre resultados (ANDRES et al., 2008).

Etapas de processamento, técnicas de armazenamento dos chocolates durante a cadeia de produção e comercialização e diferenças climáticas entre as regiões de onde o cacau foi produzido também podem influenciar nos parâmetros citados (SILVA et al., 2014; DI MATTIA et al., 2017). A fermentação, uma das etapas do processamento, pode afetar o conteúdo de fenólicos presentes no cacau (LESSA et al., 2018), sendo assim, chocolates com a mesma porcentagem de cacau produzidos por técnicas distintas, podem apresentar diferentes teores de fenólicos totais.

Uma correlação positiva foi encontrada entre teores de fenólicos totais e a atividade

antioxidante ($r = 0,67$, $P \leq 0,01$), demonstrando que os compostos fenólicos estão diretamente relacionados à atividade antioxidante no chocolate. Salvador (2011) também encontrou uma forte correlação ($r = 0,97$) entre compostos fenólicos e atividade antioxidante e segundo a autora, os altos valores indicam que os compostos antioxidantes que mais contribuem para a capacidade antioxidante do cacau e seus produtos têm estrutura fenólica.

A correlação entre os resultados de flavonoides e fenólicos totais foi positiva ($r = 0,42$, $P \leq 0,01$), indicando moderada correlação entre os teores dos fenólicos totais e da subclasse flavonoides, sendo a catequina e a epicatequina os principais flavonoides encontrados no cacau e seus derivados (BAIÃO et al., 2017). Não foi possível observar correlação significativa entre a atividade antioxidante e flavonoides totais nas amostras analisadas, no entanto, o teor de cacau informado no rótulo apresentou correlação positiva com os fenólicos ($r = 0,54$, $P \leq 0,01$) e potencial antioxidante ($r = 0,74$, $P \leq 0,01$), reforçando a importância da escolha de chocolates com maiores teores de cacau, para se obter efeitos benéficos à saúde.

Para superar problemas de perda do processamento do cacau pesquisas recentes relatam mudanças nos processos de fabricação e enriquecimento desses produtos com polifenóis derivados de outras plantas como canela, gengibre, folhas de framboesa podem ser eficazes para aumentar o conteúdo fenólico de produtos à base de chocolate e superar o problema de perdas desses compostos orgânicos (JOANNA; EWA, 2016; DI MATTIA et al., 2017; GIANFREDI et al., 2018).

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

As análises realizadas no presente estudo, indicaram que o teor de cacau e as diferentes marcas foram variáveis importantes para a determinação dos teores de compostos fenólicos totais e para a atividade antioxidante. Contudo, nas amostras analisadas, o teor de cacau e de fenólicos totais não apresentaram correlação com os teores de flavonoides totais. A marca Dma foi aquela com os menores valores entre todos os parâmetros estudados. Os teores de fenólicos foram superiores em todas as amostras de chocolate do tipo amargo.

5. AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e à Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL-MG) pelo financiamento e suporte necessário à realização da pesquisa.

6. REFERÊNCIAS

ANDRES -KACUEVA, C.; MONAGAS, M.; KHAN, N.; IZQUIERDO-PULIDO, M.; URPI-SARDA, M.; PERMANYER, J.; LAMUELA-RAVENTÓS- R.M. Flavanol and flavonol contents of cocoa powder products: influence of the manufacturing process. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 56, n. 9, p. 3111-3117, 2008. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/jf0728754>>. Acesso em: 25 set. 2019.

BAHARUM Z, AKIM, A. M.; HIN, T.Y.Y.; HAMID, R.; KASRAN, R. Theobroma cacao: review of the extraction, isolation, and bioassay of its potential anti-cancer compounds. **Tropical life sciences research**, v. 27, n. 1, p. 21-42, 2016.

BAIÃO, D., et al. Polyphenols from root, tubercles and grains cropped in Brazil: Chemical and nutritional characterization and their effects on human health and diseases. **Nutrients**. 9(9), 1044, 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 264, de 22 de setembro de 2005. Aprova o **Regulamento técnico para chocolate e produtos de cacau**.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC Nº. 359, de 23 de dezembro de 2003. **Aprova Regulamento Técnico de Porções de Alimentos Embalados para Fins de Rotulagem Nutricional**

CLIFFORD, M. Diet-derived phenols in plasma and tissues and their implications for health. **Planta Medica**, v. 70, n. 12, p. 1103-1114, 2004.

CORTIR, R., FLAMMER, A.J.; HOLLENBERG, N.K.; LUSCHER, T.F. Cocoa and cardiovascular health. **Circulation**. v. 119, n. 10, p. 1433-1441, 2009. Disponível em: <<https://www.ahajournals.org/doi/full/10.1161/circulationaha.108.827022>>. Acesso em: 31 jul. 2019.

DI MATTIA, C.D.; SACCHETTI, G.; MASTROCOLA, D.; SERAFINI, M. From cocoa to chocolate: the impact of processing on in vitro antioxidant activity and the effects of chocolate on antioxidant markers in vivo. **Frontiers in immunology**, v. 8, p. 1-7, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.01207>>. Acesso em: 31 jul. 2019.

DUENÑAS M.; MUÑOZ-GONZÁLEZ, I.; CUEVA, C.; JIMÉNEZ-GIRÓN, A.; SÁNCHEZ-PATÁN, F.; SANTOS-BUELGA, C.; MORENO-ARRIBAS, M.V.; BARTOMOMÉ, B. A survey of modulation of gut microbiota by dietary polyphenols. **BioMed Research International**. v. 15, 2015. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4352430/>> Acesso em: 31 jul. 2019.

FERNANDEZ, V.; YEE, A.; SULBARÁN, B.; PEÑA, J. Antioxidant activity and polyphenol content in Venezuelan commercial chocolates.

Revista de la Facultad de Agronomía, v. 31, n. 1, p. 129-144, 2014. Disponível em: <
https://www.researchgate.net/publication/284712637_Antioxidant_activity_and_polyphenol_content_in_Venezuelan_commercial_chocolates>.
Acesso em: 31 jul. 2019.

GEORGI V, ANANGA A, TSOLOVA V. Recent advances and uses of grapes flavonoids as nutraceuticals. **Nutrients**. v. 6, n. 1, p. 391-415, 2014. Disponível em: <
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3916869/>>. Acesso em: 31 jul. 2019.

GIANFREDINI, V.; SALVATORI, T.; NUCCI, D.; VILLARINI, M.; MORETTI, M. Can chocolate consumption reduce cardiovascular risk? A systematic review and meta-analysis. **Nutrition**, v. 46, p. 103-114, 2018. Disponível em: <
<https://doi.org/10.1016/j.nut.2017.09.006>>.
Acesso em: 31 jul. 2019.

GÓMEZ-MEJÍA, E.; ROSALES-CONRADO, N.; LEÓN-GONZÁLEZ, M.E.; MADRID, Y. Citrus peels waste as a source of value-added compounds: extraction and quantification of bioactive polyphenols. **Food Chemistry**, 295:289-299, 2019. Disponível em: <
<http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.05.136>>. Acesso em: 21 abr. 2019.

GOTTI R, R.; FURLANETTO, S.; PINZAUTI, S.; CAVRINI, V. Analysis of catechins in *Theobroma cacao* beans by cyclodextrinmodified micellarelektrokinetic chromatography. **Journal of Chromatography**. v. 1112, p. 345-352, 2006. Disponível em: <
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021967305022168?via%3Dihub>>. Acesso em: 31 jul. 2019.

GÜLTEKIN-OZGÜVEN, M.; BERKTAS, L.; ÖZELIK, B. Influence of processing conditions on procyanidin profiles and antioxidant capacity of chocolates: Optimization of dark chocolate manufacturing by response surface methodology. **LWT-Food Science and Technology**, v. 66, p. 252-259, 2016. Disponível em: <
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.10.047>>.
Acesso em: 31 jul. 2019.

HU, S.; KIM, B-Y.; BAIK, M-Y. Physicochemical properties and antioxidant

capacity of raw, roasted and puffed cacao beans, **Food Chemistry**, v. 194, p. 1089-1094, 2016. Disponível em: <
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.08.126>>.
Acesso em: 31 jul. 2019.

IRANSHAHI, M.; REZAEI, R.; PARHIZ, H.; ROOHBAKHSH, A.; SOLTANI, R. Protective effects of flavonoids against microbes and toxins: The cases of hesperidin and hesperetin. **Life sciences**, v. 137, p. 125-132, 2015. Disponível em: <
<https://doi.org/10.1016/j.lfs.2015.07.014>>.
Acesso em: 31 jul. 2019.

ORACZ, J.; NEBESNY, E. Antioxidant Properties of Cocoa Beans (*Theobroma cacao* L.): Influence of Cultivar and Roasting Conditions, **International Journal of Food Properties**. v. 19, n. 6, p. 1242-1258, 2016. Disponível em: <
<https://doi.org/10.1080/10942912.2015.1071840>>.
Acesso em: 31 jul. 2019.

LALIČIĆ-PETRONIJEVIĆ, J.; KOMES, D.; GORJANOVIC, S.; BELŠČAK-CVITANOVIC, A.; PEZO, L.; PASTOR, F.; OSTOJIC, S.; POPOV-RALJIC, J.; SUZNJEVIC, D. Content of Total Phenolics, Flavan-3-Ols and Proanthocyanidins, Oxidative Stability and Antioxidant Capacity of Chocolate During Storage. **Food Technology Biotechnology**. v. 54, n. 1, p. 13-20, 2016. Disponível em: <
<http://doi.org/10.17113/ftb.54.01.16.4014>>. Acesso em: 31 jul. 2019.

LEE, K.W.; KIM, Y.J.; LEE, H.J.; LEE, C.Y. Cocoa has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 51, n. 25, p. 7292-7295, 2003. Disponível em: <
<https://doi.org/10.1021/jf0344385>>. Acesso em: 31 jul. 2019.

LESSA, O.A.; REIS, N.dosS.; LEITE, S.G.F.; GUTARRA, M.L.E.; SOUZA, A.O.; GUALBERTO, S.A.; OLIVEIRA, J.R.de; AGUIAR-OLIVEIRA, E.; FRANGO, M. Effect of the solid state fermentation of cocoa shell on the secondary metabolites, antioxidant activity, and fatty acids. **Food Science and Biotechnology**. v. 27, n. 1, p. 107-111, 2018. Disponível em: <
<https://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2Fs10068-017-0196-x.pdf>>. Acesso em: 31 jul. 2019.

MARTINS, R. Dossiê Técnico, Processamento de Chocolate, **Rede de Tecnologia do Rio de Janeiro, REDETEC** 2007. Disponível em: <<http://www.respostatecnica.org.br/dossie-tecnico/downloadsDT/MTY4>>. Acesso em: 31 Jul. 2019.

MEDEIROS, N.daS.; MARDER, R.K.; WOHLBERG, M.F.; FUNCHAL, C.; DANI, C. Total phenolic content and antioxidant activity of different types of chocolate, milk, semisweet, dark, and soy, in cerebral cortex, hippocampus, and cerebellum of wistar rats. **Biochemistry research international**. v. 9. 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1155/2015/294659>> Acesso em: 31 jul. 2019.

MUDENUTI, N.V.deR.; CAMARGO, A.C.de; SHAHIDI, F.; MADEIRA, T.B.; HIRROKA, E.Y.; GROSSMANN, M.V.E. Soluble and insoluble-bound fractions of phenolics and alkaloids and their antioxidant activities in raw and traditional chocolate: A comparative study. **Journal of Functional Foods**. v. 50, p. 164-171, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.10.003>>. Acesso em: 31 jul. 2019.

MUHAMMAD, D.R.A.; SAPUTRO, A.D.; ROTTIERS, H.; de WALLE, D.V.; DEWETTINCK, K. Physicochemical properties and antioxidant activities of chocolates enriched with engineered cinnamon nanoparticles. **European Food Research and Technology**, v. 244, n.7, p.1185-1202, 2018. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s00217-018-3035-2>>. Acesso em: 31 jul. 2019.

PETYAEY IM., BASSHMAKOV, YURIY K., Dark chocolate: opportunity for and Alliance, between Medical Science and the Food Industry? **Frontiers in Nutrition**, v. 4, p. 43; 2017. Disponível em: <<https://doaj.org/article/1b9978fd4bab40378980bc40a4621baa?frbrVersion=4>>. Acesso em: 31 jul., 2019.

SALVADOR, I. Atividade antioxidante e teor de resveratrol em cacau, chocolates, achocolatados em pó e bebidas lácteas achocolatadas. Dissertação de mestrado em Energia Nuclear na Agricultura e no Ambiente, Universidade de São Paulo, 2011, 91p. Disponível em: <<https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/64/64>

[134/tde-08022012-100355/publico/Mestrado.pdf](https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/64/64)>. Acesso em: 25 set. 2019.

SILVA, E.N.; RAMOS, D.daC.; MENEZES, L.M.; SOUZA, A. O.de; LANNES, S.C.daS.; SILVA, M.V.da. Nutritional value and antioxidante capacity of “cocoa honey” (Theobronma cacao L). **Food Science and Technology**, v. 34, n. 4, p. 755-759, 2014. Disponível em: <www.scielo.br/pdf/cta/v34n4/v34n4a16.pdf>. Acesso em: 31 jul. 2019.

TODOROVIC V.; REDOVNIKOVIC, I.R.; TODOROVIC, Z.; JANKOVIC, G.; DODESVKA, M.; SOBAJIC, S. Polyphenols, methylxanthines, and antioxidant capacity of chocolates produced in Serbia. **Journal of Food Composition and Analysis**. v. 41, p. 137-143, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jfca.2015.01.018>>. Acesso em: 31 jul. 2019.

UNTEA, A.; LUPU, A.; SARACILA, M.; PANAITTE, T. Comparison of ABTS, DPPH, phosphomolybdenum assays for estimating antioxidant activity and phenolic compounds in five different plant extracts. **Bulletin UASVM Animal Science and Biotechnologies**, v. 75, n. 2, p. 111-114, 2018. Disponível em: <[DOI:10.15835/buasvmcn-asb:2018.0009](https://doi.org/10.15835/buasvmcn-asb:2018.0009)>. Acesso em: 02 jul. 2019.

Caio Henrique de Souza

Estudante do Curso de Nutrição da Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL-MG).

Isadora Maria Padilha de Paula

Estudante do Curso de Nutrição da Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL-MG).

Gislene Regina Fernandes

Nutricionista, mestra e doutora em Ciência de Alimentos pela Universidade Federal de Viçosa, é professora adjunta nível 4 na Universidade Federal de Alfenas e atualmente, diretora da Faculdade de Nutrição da mesma instituição.

Bruno Martins Dala Paula

Nutricionista, mestre e doutor em Ciência de Alimentos pela Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais, com estágio

sanduíche no United States Department of Agriculture (USDA-ARS), é professor adjunto nível 1 na Universidade Federal de Alfenas e coordenador do Programa de Pós-Graduação Lato Sensu em Tecnologia e Qualidade na Produção de Alimentos (PPGTecQual/UNIFAL-MG).
