



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA**  
**DEPARTAMENTO DE SAÚDE**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENFERMAGEM E SAÚDE**

---

**TALITA BATISTA MATOS**

**Chocolate 70% de cacau incorporado de ácido ursólico e ácido oleanólico:  
desenvolvimento e avaliação do consumo na saúde da família.**

**JEQUIÉ//BA**

**2017**

**TALITA BATISTA MATOS**

**Chocolate 70% de cacau incorporado de ácido ursólico e ácido oleanólico:  
desenvolvimento e avaliação do consumo na saúde da família.**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Enfermagem e Saúde da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, área de concentração em Saúde Pública, para apreciação e julgamento da Banca Examinadora.

**Orientador (a):** Prof<sup>a</sup>. DSc. Maria Patrícia Milagres

Coorientador: Prof. DSc. Daniel de Mello Silva.

Colaborador: Ivan de Oliveira Pereira  
Linha de Pesquisa: Família em seu ciclo vital.

**JEQUIÉ/BA**

**2017**

Matos, Talita Batista.

M382 Chocolate 70% de cacau incorporado de ácido ursólico e ácido oleanólico: desenvolvimento e avaliação do consumo na saúde da família/Talita Batista Matos.- Jequié, UESB, 2017.  
77 f: il.; 30cm. (Anexos)

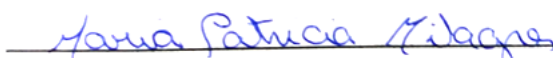
Dissertação de Mestrado (Pós-graduação em Enfermagem e Saúde)-Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, 2017.  
Orientadora: Profª. Drª. Maria Patrícia Milagres.

1. Alimentação saudável (inovação) – Chocolate 70% de cacau incorporado de ácido ursólico e ácido oleanólico 2. Alimento funcional – Influência do consumo de um chocolate 70% de cacau adicionado de ácido ursólico e ácido oleanólico na saúde dos indivíduos e família I. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia II. Título.

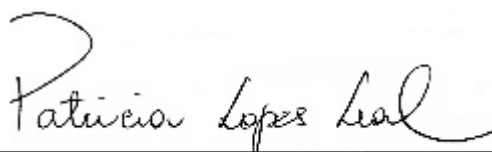
CDD – 613.2

## FOLHA DE APROVAÇÃO

MATOS, Talita Batista. **Chocolate 70% de cacau incorporado de ácido ursólico e ácido oleanólico: desenvolvimento e avaliação do consumo na saúde da família.** 2017. Dissertação [Mestrado]. Programa de Pós-Graduação em Enfermagem e Saúde, área de concentração em Saúde Pública. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Jequié, Bahia.



Prof<sup>ª</sup>. DSc. Maria Patrícia Milagres  
Programa de Pós-Graduação em Enfermagem e Saúde  
Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia -UESB  
Orientadora e Presidente da Banca Examinadora



Prof<sup>ª</sup>. DSc. Patrícia Lopes Leal  
Programa de Pós-Graduação em Biociências  
Universidade Federal da Bahia – UFBA



Prof. DSc. Rafael Pereira de Paula  
Programa de Pós-Graduação em Enfermagem e Saúde  
Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia - UESB

Jequié, 13 de março de 2017

Aos meus eternos amores, minha avó Célia (*in memorian*) e minha tia Ura (*in memorian*), que de onde estiverem estão cuidando para que nenhum mal chegue até mim.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, Senhor dos meus dias, minha fortaleza, sempre me amparando e me dando forças nos momentos mais difíceis.

Aos meus pais Gilson e Iêda, que não só acreditaram em mim, mas embarcaram comigo nessa aventura, me ajudando em cada fase desse processo. São meu apoio, minha base e minhas fontes de cuidado e amor incondicional.

Aos meus tios Antônio e Vânia que sempre tiveram uma palavra de incentivo e carinho por acompanharem essa trajetória desde o início.

À minha irmã Elisa que mesmo longe deve estar morrendo de orgulho de mim.

Ao meu namorado, Beбето, por sempre acreditar no meu potencial e na minha capacidade de aprender todos os dias, além do amor e paciência comigo nos dias de estresse e cansaço.

À minha querida orientadora Maria Patrícia Milagres, pela sua amizade, carinho e dedicação. Sou muito grata por poder ter ao lado pessoas com o coração enorme como você, que confiou imensamente em mim e no nosso projeto e eu pude aprender muito, muito obrigada!

Ao meu co-orientador Daniel de Melo Silva, por ser sempre amigo, disposto a ajudar e tirar minhas dúvidas. Obrigada pelo afeto e pela confiança, você também apostou todas as suas fichas nesse projeto e em mim, muito obrigada!

Ao Professor Ivan Pereira, sua generosidade foi enorme comigo, seu apoio e seu comprometimento fizeram diferença nessa caminhada. Obrigada pelo empenho em fazer acontecer.

Aos amigos que fiz no Instituto Federal Baiano, em especial Ludimila, Ângela, Joabes e Cristiane, sem eles esse trabalho não seria possível, foram solícitos e me ajudaram muito. Já sinto saudades do nosso convívio.

A minha turma de mestrado na qual fui muito feliz, aprendi bastante coisa e fiz vários amigos. Não sei nem como agradecer todo carinho, companheirismo e boas risadas, Deus foi muito bom quando colocou vocês em meu caminho.

Aos meus voluntários da pesquisa, por terem sido responsáveis e queridos durante o processo de intervenção.

À Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB) e ao Programa de Pós-Graduação em Enfermagem e Saúde (PPGES), no corpo de professores e funcionários, por todo ensinamento.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB), pela concessão de bolsa.

## RESUMO

Alimentos inovadores ricos em nutrientes podem ser utilizados em uma dieta saudável e que promova saúde. Nesse contexto, o objetivo desse estudo foi desenvolver um chocolate 70% de cacau adicionado de ácido ursólico e ácido oleanólico e avaliar a influência do consumo deste na saúde dos indivíduos e famílias. Para tanto, na metodologia foi desenvolvido um chocolate 70% incorporado de 150mg de uma mistura ácido ursólico e ácido oleanólico. Foram realizadas análises físico-químicas, microbiológicas, análise da estabilidade dos ácidos (cromatografia) e a análise sensorial de aceitação. Para a avaliação da influência do consumo, foi realizada uma intervenção com indivíduos isolados e com famílias, divididos em grupo controle e teste. Os grupos da intervenção passaram por avaliação antropométrica e exames laboratoriais. Como resultados o chocolate formulado apresentou características físico-químicas e microbiológicas dentro dos padrões exigidos pela legislação vigente e apresentou boa aceitação sensorial. Os ácidos ficaram estáveis no chocolate após o processamento e armazenamento. Os voluntários da pesquisa apresentaram diminuição nas variáveis antropométricas no grupo teste (peso, IMC e circunferência da cintura), enquanto no grupo controle houve aumento das mesmas. Não houve alteração significativa ( $p < 0,05$ ) dos resultados dos exames laboratoriais nos dois grupos, assim como na família não foram observadas modificações significativas ( $p > 0,05$ ). Desta forma, o desenvolvimento de um chocolate inovador com adição dos ácidos ursólico e oleanólico, pensando nas características benéficas destes, oportuniza aos consumidores um produto com propriedades que agregam valor nutricional e pode promover saúde.

Palavras chaves: Alimentação saudável. Inovação. Alimento funcional.

## ABSTRACT

Innovative nutrient-rich foods can be used in a healthy diet that promotes health. In this context, the objective of this study was to develop a 70% cocoa chocolate added with ursolic acid and oleanolic acid and to evaluate the influence of its consumption on the health of individuals and families. For this, in the methodology was developed a chocolate 70% incorporated of 150mg of an ursolic acid and oleanolic acid mixture. Physico-chemical, microbiological analyzes, acid stability analysis (chromatography) and sensorial acceptance analysis were performed. For the evaluation of the influence of consumption, an intervention was performed with isolated individuals and families, divided into control and test groups. The intervention groups underwent anthropometric evaluation and laboratory tests. As a result, the formulated chocolate presented physical-chemical and microbiological characteristics within the standards required by current legislation and showed good sensorial acceptance. The acids remained stable in the chocolate after processing and storage. Research volunteers presented a decrease in the anthropometric variables in the test group (weight, BMI and waist circumference), while in the control group there was an increase. There were no significant changes ( $p < 0.05$ ) in the results of the laboratory tests in the two groups, nor in the family, no significant changes were observed ( $p > 0.05$ ). In this way, the development of an innovative chocolate with addition of ursolic and oleanolic acids, considering the beneficial characteristics of these, gives the consumers a product with properties that add nutritional value and can promote health.

Key words: Food Habits. Innovation. Functional Food.



## **LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS**

CC – Circunferência da Cintura

CT – Colesterol Total

DCNT – Doenças Crônicas não Transmissíveis

HDL – Lipoproteína de Alta Densidade

IF Baiano – Instituto Federal Baiano

IMC – Índice de Massa Corporal

LDL – Lipoproteína de Baixa Densidade

TCLE – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

UESB – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia

## **LISTA DE ILUSTRAÇÕES**

### **MANUSCRITO 1**

Tabela 1: Teor de água, cinzas, pH, acidez, lipídios, proteínas, tamanho médio das partículas do chocolate.

Tabela 2: Resultados das Análises Microbiológicas para os chocolates.

Tabela 3: Impressão global do chocolate, média e mediana.

Tabela 4: Parâmetros dos voluntários antes e depois do consumo do chocolate.

Figura 1: Alteração da variável peso no grupo teste.

Figura 2: Alteração da variável IMC no grupo teste

Figura 3: Alteração da variável circunferência da cintura no grupo teste.

### **MANUSCRITO 2**

Tabela 1: Medidas de Peso, Índice de Massa Corporal (IMC) e Circunferência da Cintu (CC) dos voluntários do grupo teste antes (I) e depois da intervenção (F).

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO .....	13
2	OBJETIVOS .....	16
2.1	Objetivo geral.....	16
2.2	Objetivos específicos .....	16
3	REVISÃO DE LITERATURA .....	17
3.1	Alimentação saudável e qualidade de vida .....	17
3.2	Inovações em Alimentos .....	18
3.3	Chocolate.....	19
3.4	Ácido ursólico e Ácido oleanólico .....	20
4	MATERIAIS E MÉTODOS .....	21
4.1	Tipo de pesquisa.....	21
4.2	Local do estudo .....	22
4.3	População do Estudo .....	22
4.3.1	Critérios de Inclusão .....	22
4.3.2	Critérios de Exclusão .....	23
4.4	Questões Éticas .....	23
4.5	Obtenção dos ácidos ursólico e oleanólico .....	23
4.6	Produção dos Chocolates .....	23
4.7	Caracterização físico-química.....	24
4.8	Análise Microbiológica.....	25
4.9	Análise Sensorial - Teste de aceitação dos chocolates.....	26
4.10	Intervenção para avaliação do consumo de chocolate na saúde das famílias. ....	26
5	RESULTADOS.....	29
5.1	MANUSCRITO 1 .....	30
5.2	MANUSCRITO 2.....	50
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	63
	REFERÊNCIAS .....	64
	APÊNDICES .....	68
	ANEXOS.....	75

## 1 INTRODUÇÃO

As doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) são consideradas um grave problema de Saúde Pública e uma ameaça ao desenvolvimento dos países, uma vez que a prevalência destas vem aumentando substancialmente e atingindo grandes proporções (MALTA e SILVA JR, 2013). De acordo com dados da Organização Mundial de Saúde, as DCNT foram a causa de aproximadamente 38 milhões de óbitos no ano de 2012 (WHO, 2015).

Essas doenças aparecem também como responsáveis pela perda de qualidade de vida, pelo aparecimento de limitações e incapacidade funcionais, além de um importante impacto econômico para famílias e comunidades, e sobre o sistema de saúde (DUNCAN, et al., 2012). Em função da gravidade das DCNT e seus efeitos adversos na sociedade é oportuno prevenir seus principais fatores de risco individuais como o tabagismo, consumo abusivo de álcool, inatividade física e alimentação não saudável (ROCHA-BRISCHILIARI et al., 2014).

Entre esses comportamentos que podem prevenir o aparecimento de doenças têm-se os hábitos alimentares com importante influência na saúde. Uma alimentação balanceada ao longo do tempo, que considere as propriedades preventivas de alguns nutrientes, além de ter como princípio as necessidades de cada organismo, é hoje, um aspecto imprescindível para uma vida saudável para pessoas em distintas faixas etárias (VIANA, 2002).

No entanto, estudos demonstram que existem algumas barreiras para a manutenção de dietas balanceadas, a ideia de consumir alimentos saudáveis muitas vezes vem associada ao conceito de alimentos sensorialmente desagradáveis (GOUGH e CONNER, 2006; WERLE et al., 2013). Dado isso, as indústrias alimentícias e instituições de pesquisa na área, após um longo período atendendo apenas a demanda de praticidade e aceitação sensorial, passam a investir em alimentos saudáveis e saborosos que promovam saúde (SHAMA, et al., 2010).

Assim são os alimentos funcionais uma nova tendência do mercado alimentício (SEBRAE, 2014), prometem aliar sabor e saúde, acompanhando o crescente movimento de autocuidado. Em razão disto, a indústria alimentícia tem se beneficiado com o comércio de alimentos funcionais, que tem aumentado os rendimentos a taxas anuais de aproximadamente 10% (GOUVEIA, 2006).

Outra tendência, que deve ser respeitada pelas indústrias de alimentos é a “regionalidade”. O uso de matérias primas regionais, para desenvolvimento de alimentos inovadores, que gerem uma economia sustentável para o país é requerido, visto o impacto econômico e social causado, com a geração de renda, emprego e favorecimento da agroindústria (GALEMBECK, 2013). A Bahia é um estado que se destaca pela sua riqueza de recursos naturais, contendo

plantas que podem ser usadas como matéria primas para desenvolvimento de medicamentos e alimentos devido as suas propriedades de promover saúde.

Dentre essas plantas que podem promover saúde, o cacau e seus derivados, como o chocolate, agregam prazer sensorial a um alimento saudável. Pesquisas apontam que seu consumo aumenta a concentração de colesterol HDL (lipoproteína de alta densidade) e os ácidos graxos presentes no chocolate podem inibir a peroxidação lipídica em humanos saudáveis (MURSU, et al. 2004), é uma fonte rica em flavonóides, o que aumenta a atividade antioxidante do alimento e protege o organismo de danos causados pelos radicais livres (WAN, et al. 2001) e há evidências que chocolate com altas concentrações de cacau possui efeitos anti-inflamatórios (COLOMBO et al., 2015).

Similarmente ao cacau, outras plantas regionais possuem boas características funcionais, como é o caso da *Mansoa hirsuta* DC, ou como é popularmente conhecida cipó d'alho. O “cipó d'alho” possui vários usos na medicina tradicional relatados, os mais citados são para tratamento de gripe, febre, dor e inflamação de artrite e reumatismo (ZOGHBI et al., 2008). Na sua composição, possui dois ácidos, ursólico e oleanólico, responsáveis por outras atividades como antifúngicos, anti-hipertensivos, diuréticos, com atividade antitumoral, e usados no tratamento da diabetes (Chaves & Reinhard, 2003).

Os benefícios à saúde do consumo de chocolate fazem com que pesquisas visando desenvolver alimentos saborosos, saudáveis e que utilizem o chocolate em sua formulação sejam relevantes, atuais e realizada por diversos pesquisadores. Assim existem estudos sobre a utilização do chocolate em benefícios para a saúde, como a incorporação de frutas em chocolate (SETTI et al., 2014), sobremesa láctea de chocolate com adição de prebióticos e substituição de sacarose com diferentes adoçantes de alta intensidade (MORAES, et al., 2014), chocolate branco adicionado de cogumelo (SANDRI, 2012), chocolate meio amargo com maior percentual de proteína (SCHUMACHER, 2008). Entretanto, pesquisas com a adição de ácido ursólico e oleanólico ao chocolate visando promover uma alimentação saudável, são escassas.

As tendências globais no mercado de chocolate refletem a modernização da sociedade, aumentam as demandas por inovações e a preferência por produtos mais elaborados, com forte escolha e procura por alimentos ricos em nutrientes (SETTI et al., 2014). Uma maneira de agregar valor nutricional ao chocolate é a incorporação de ácido ursólico e ácido oleanólico em sua formulação sem que estes prejudiquem as características sensoriais do produto final.

Percebendo a importância do tema e a falta de estudos na área, o desenvolvimento desse estudo tem como objetivo desenvolver chocolate 70% de cacau incorporado de ácido ursólico e ácido oleanólico e avaliar o efeito do seu consumo na saúde da família.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

- Desenvolver um alimento inovador, saboroso, prático e saudável para ser utilizado no consumo das famílias como forma de promoção da saúde, utilizando cacau e ácidos triterpênicos.

### **2.2 Objetivos específicos**

- Desenvolver chocolate 70% de cacau incorporado de ácido ursólico e ácido oleanólico;
- Realizar a caracterização físico-química do chocolate;
- Determinar as condições microbiológicas do chocolate;
- Verificar a aceitação sensorial do chocolate com ácido ursólico e ácido oleanólico;
- Averiguar a influência do consumo do chocolate acrescido com os ácidos na saúde de famílias por meio de exames laboratoriais e antropométricos.

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 Alimentação saudável e qualidade de vida

A expectativa de vida tem aumentado de forma significativa nos últimos anos e sincrônico a ela o aumento crescente das Doenças Crônicas Não Transmissíveis (DCNT). Essas doenças são responsáveis por ocasionar incapacidades, gerando sofrimentos e custos materiais diretos aos pacientes e suas famílias, além de um importante impacto financeiro sobre o sistema de saúde e óbitos precoces (MALTA e SILVA JR, 2013).

Esses problemas gerados pelas DCNT evidenciam a importância de se preparar à população para um envelhecimento bem-sucedido, com autonomia e independência (OMS, 2002). Segundo a *Academy of Nutrition and Dietetics* (2012), uma alimentação saudável, juntamente com outros fatores ambientais, tais como o envolvimento em atividades físicas, a abstenção de fumo e álcool, entre outros, tem grande influência na qualidade de vida das pessoas, podendo retardar ou diminuir o aparecimento das DCNT.

Nesse sentido, de acordo com Fazzio (2012), uma alimentação saudável deve ser baseada nas Leis da Alimentação que enfocam que a alimentação normal deve ser quantitativamente suficiente, qualitativamente completa, além de ser harmoniosa em seus componentes e adequada à sua finalidade e ao organismo a que se destina, visto este equilíbrio é essencial para promoção da saúde e redução do risco de doenças (FAZZIO, 2012).

Mesmo que se conheça como deve ser uma alimentação saudável e completa, os motivos que orientam as escolhas alimentares dos indivíduos fundamentam-se em inúmeras questões, estas perpassam por fatores como os socioculturais, os psicológicos e biológicos, além dos econômicos, midiáticos e as escolhas alimentares familiares que juntos definem as preferências alimentares das pessoas (HEITOR, 2015).

Dessa forma, considerando o ambiente sobre o qual o indivíduo está inserido um determinante da prática alimentar, as escolhas alimentares familiares são de grande importância para a construção inicial deste comportamento. Com o estilo de vida moderno e as mulheres cada vez mais adentrando no mercado de trabalho, a alimentação familiar passou por uma época marcada pela escassez de tempo para preparo e consumo de alimentos, o que proporcionou a emergência de alimentos do tipo *fast food*, diminuindo o tempo e trabalho, mas sem a preocupação com a saúde e o surgimento de DCNT relacionadas à nutrição (ESTIMA et al., 2009).



O problema dessa utilização da alimentação do tipo *fast food* de maneira recorrente é que esta aumenta a incidência das doenças crônico-degenerativas, como a hipertensão, hiperlipidemias e/ou hiperinsulinemia. Em contrapartida, atualmente, uma parte da população desperta para os aspectos da saúde, optando por uma alimentação saudável, prezando pela escolha dos alimentos e pela qualidade das preparações (DUNCAN et al., 2012).

E nesse contexto de mudança nos hábitos alimentares, a indústria alimentícia tem investido em inovações a fim de atender essa nova demanda, todavia agora com a preocupação de manter atributos como o prazer proporcionado, a sociabilidade, a necessidade de facilidade de preparo e aquisição do alimento e os benefícios para a saúde (GOUVEIA, 2016).

### **3.2 Inovações em Alimentos**

O ser humano tem evoluído bastante no que diz respeito à elaboração de tecnologias e, nesse sentido, inovações têm desempenhado papel fundamental na elevação da qualidade de vida da humanidade, o que reflete em modificações benéficas em diversos setores.

Partindo do pressuposto de que o ato de inovar é uma maneira de transformação do conhecimento em riqueza e no aumento do padrão de vida da população, o Governo Federal Brasileiro criou uma legislação específica para estímulo à inovação tecnológica, a Lei nº 10.973, de 2 de dezembro de 2004, que dispõe sobre incentivos à inovação e à pesquisa científica e tecnológica no ambiente produtivo (BRASIL, 2004).

Investimentos em pesquisa e desenvolvimento com relação à criação de novos produtos com maior valor adicionado podem viabilizar o crescimento de empresas que se mobilizam para acompanhar a tendência de consumo (ENKEL, 2010). Apesar de existirem leis que estimulam a inovação, alguns setores possuem mais destaque no cenário mundial e nacional, como é o caso de jogos e aplicativos, enquanto algumas áreas ainda precisam de mais investimentos, como por exemplo, o setor de alimentício.

A produção de alimentos, de acordo com Gouveia (2006), é um dos pilares de qualquer economia, seja por sua abrangência e essencialidade, seja pela rede de setores direta e indiretamente relacionados. A elaboração de alimentos inovadores, segundo Komatsu et al.(2008), é uma tarefa que requer a superação de inúmeros desafios, à medida que procura atender à nova demanda dos consumidores por produtos que sejam saudáveis e atrativos, simultaneamente (KOMATSU et al., 2008).

As principais inovações ligadas ao mercado de alimentos segundo Gouveia (2006) estão nas áreas de aromas, corantes, amidos modificados, enzimas e moléculas, criados pela

indústria de ingredientes e aditivos, assim como os microorganismos probióticos, antioxidantes, imunopeptídeos, isoflavonas e outros componentes que caracterizam os alimentos como funcionais (GOUVEIA, 2006).

Produtos inovadores funcionais podem contribuir com a nutrição e possivelmente possuir substâncias consideradas biologicamente ativas, produtoras de benefícios clínicos ou de saúde, podendo interferir no surgimento de doenças crônicas não transmissíveis (KOMATSU et al., 2008). Devido a crescente preocupação com a saúde pela população, esse mercado mundial de alimentos funcionais tornou-se muito promissor, movimentando cerca de US\$ 176,7 bilhões em 2013, representando 5% do mercado global de alimentos e esse número vem aumentando cada vez mais (SIDONIO, 2013;TRIPATHI E GIRI, 2014).

Diversos são os alimentos que são alvos de inovação tecnológica, possuindo potencial para promover a saúde através de mecanismos não previstos na nutrição convencional (KOMATSU, 2008), a título de exemplo, o chocolate. Atualmente, existem no mercado diversos chocolates com alegações de saúde (SHUMACHER, 2008).

### **3.3 Chocolate**

O chocolate, produto feito à base de cacau (*Theobroma cacao*), pode ser definido como sendo uma dispersão de partículas muito finas de cacau, leite e açúcar envolvidas por uma fase gordurosa composta por leite e manteiga de cacau (SAMPAIO, 2011). Obtido a partir de líquor (massa de cacau) e pode ter diferentes formatos e quantidade de cacau, dependendo do tipo de chocolate (BRASIL, 2005).

No Brasil, a mais importante região voltada para o cultivo da matéria-prima do chocolate, o cacau, é Região Sul da Bahia, onde essa produção exerceu por muitos anos, papel principal no desenvolvimento de seu estado. Apesar da crise enfrentada pela Bahia, a produção de cacau ainda exerce papel fundamental na agroindústria local e nos fenômenos sociais, culturais e econômicos da região conhecida por “Região Cacaueira” (FONTES, 2013).

A utilização do cacau tem se mostrado bastante interessante na melhoria das funções cardíacas, digestiva e renal, além de estimular o sistema nervoso e a função intestinal (CORTI et al, 2009). Como o chocolate possui grandes quantidades das substâncias presentes no cacau, seu consumo também tem demonstrado ser benéfico à saúde, desde que utilizado de maneira correta (NOGUEIRA, 2009).

Os benefícios do consumo de chocolate são conhecidos há bastante tempo, inclusive a sensação de prazer ao consumi-lo de maneira que é interessante introduzi-lo na dieta das

peças como um alimento saudável (OWEN, 2013). Cabe ressaltar que o chocolate é um produto que pode ser consumido por todas as idades, desde que não haja nenhuma restrição às substâncias presentes na formulação, e ainda o consumidor poderá adquirir um produto nutritivo, saboroso e que traz benefícios à saúde e bem-estar (PIMENTEL, 2007).

Porém, os ingredientes empregados na produção de chocolates têm importante papel na aceitação pelo consumidor (CANDIA; DIAS, 2014). A dificuldade principal na formulação de chocolates com porcentagens maiores de cacau é a aceitação sensorial, já que estes são compostos de uma quantidade menor de açúcar e o sabor amargo prevalece, e existe uma tendência inata dos indivíduos para rejeitar alimentos azedos e amargos (ALMEIDA, 2010).

E é exatamente o chocolate amargo o mais saudável, rico em cacau, pois induz importante efeito sobre o aumento da vasodilatação arterial, e a proteção contra peroxidação lipídica (FRITSCH et al., 2013). Outro fator interessante é a presença de flavonóides no chocolate, antioxidantes que podem auxiliar na prevenção de algumas doenças ligadas ao processo de envelhecimento, também ajudam a diminuir riscos de doenças cardiovasculares, além de evitar os danos oxidativos causados por radicais livres que podem causar doenças como câncer e doenças cerebrovasculares (SCHUMACHER, 2008).

Com base nesses benefícios à saúde alguns estudos que exploram a possibilidade de aliar o chocolate a substância que forneçam propriedades para torná-lo um alimento funcional, como no estudo de Fritsch et al. (2013), no qual desenvolveram um chocolate em barra adicionado guaraná em pó a fim de aumentar os efeitos estimulantes do mesmo, e outros estudos como chocolate para elevar seu valor nutricional: adicionados com cogumelos *Agaricus blazei*, (SANDRI et al., 2012), chocolates amargos produzidos com amêndoas fermentadas com polpas de frutas (SAMPAIO, 2011), sobremesas de chocolates com pré-bióticos (MORAIS et al., 2014) e ainda chocolate com maior percentual de proteína (SHUMACHER, 2008).

Dessa forma, como o chocolate é um produto consumido mundialmente, saboroso e ainda pode promover saúde, como um alimento funcional, torna-se imprescindível a investigação da utilização do mesmo agregado a novas substâncias que podem agregar valor nutricional.

### **3.4 Ácido ursólico e Ácido oleanólico**

O ácido ursólico é um triterpeno (C<sub>30</sub>) pentacíclico e normalmente surge associado ao seu isômero, o ácido oleanólico. Amplamente distribuídos no reino vegetal, estão presentes em muitas ervas medicinais e outras plantas, incluindo ginseng (*Panax ginseng*), calêndula

(*Callendula officinalis*), alecrim (*Rosmarinus officinalis*), melaleuca (*Melaleuca leucadendron*), maçã (*Malus domestica*), pera (*Pyrus pyrifolia*), ameixa (*Prunus domestica*), entre outras. Estes ácidos compartilham muitas propriedades farmacológicas comuns, de acordo com a literatura, por isso o interesse neles está crescendo (FRIGHETTO, 2005; ZOGHBI et al., 2009; ELOY et al., 2012).

Os usos tradicionais de plantas que contenham ácido oleanólico ou ácido ursólico em medicina popular são múltiplos, como anti-inflamatório, para hepatoproteção, analgesia, como cardiotônico, sedativos e para efeitos tônicos na musculatura, além da utilização na prevenção do câncer (LIU, 2005; SHANMUGAM et al., 2013).

Apesar de estar presente em inúmeras plantas, a obtenção desses dois ácidos geralmente é feita através do seu isolamento de cascas de maçã, um processo oneroso (SIANI, 2014). No entanto, recentemente, esses mesmos compostos foram isolados da *Mansoa hirsuta* DC, uma planta do semiárido do estado da Bahia, eleita pelo programa IMSEAR (Instituto do Milênio do Semi-árido, 2002) como planta promissora em relação a esses dois compostos de interesse pela indústria farmacêutica (SILVA, 2006).

A *Mansoa hirsuta* DC é uma liana que ocorre em toda a extensão da mata atlântica, e estudos demonstram atividades anti-hipertensiva (BRAGA, 2000), antifúngica *in vitro* frente aos microorganismos *Aspergillus Níger* e *Fusarium oxysporum* (ROCHA, 2002) e atividade imunossupressora (SILVA, 2006) da espécie. Com o isolamento do ácido oleanólico/ursólico a partir de plantas medicinais novas, outras propriedades farmacológicas destes dois compostos, podem ser avaliadas e a obtenção desses ácidos pode ter seu custo reduzido.

É importante destacar que não foram identificados produtos com adição dos ácidos ursólico e oleanólico na indústria de alimentos funcionais, nutracêuticos e fitoterápicos de origem nacional oriundos da espécie vegetal *Mansoa hirsuta* DC, e atualmente, no Brasil, é necessária a importação de produtos contendo estes ácidos (SILVA, 2006).

Acrescentar esses compostos isolados ao chocolate pode contribuir para o desenvolvimento sustentável dessa região do semiárido em paralelo com a promoção da cultura do cacau na “Região Cacaueira” permitindo ainda aumentar as possibilidades de novas táticas para a melhoria da qualidade do chocolate e o desenvolvimento de produtos funcionais inovadores que podem promover saúde.

## **4 MATERIAIS E MÉTODOS**

### **4.1 Tipo de pesquisa**

A pesquisa apresenta caráter experimental e quantitativo.

## **4.2 Local do estudo**

As amostras de chocolate foram produzidas e realizadas as análises microbiológicas, físico-químicas e sensoriais no Instituto Federal Baiano (IF Baiano), na cidade de Uruçuca, Bahia, no Centro de Tecnologia de Alimentos.

A análise de estabilidade dos chocolates foi realizada no laboratório de farmacognosia da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, campus de Jequié.

A avaliação da influência do consumo do chocolate na saúde das famílias e os exames laboratoriais foram realizados com famílias cadastradas no programa Saúde da Família na Unidade de Saúde da Família do Bairro Santo Antônio, na cidade de Itajuípe, Bahia.

## **4.3 População do Estudo**

A população do estudo foi composta por uma amostra de conveniência, sendo não-probabilística, homens e mulheres, de faixa etária maior/igual a 18 anos, totalizando 130 voluntários.

Para o estudo de análise sensorial a população foi composta de 100 (cem) voluntários da cidade de Uruçuca.

Já no estudo de intervenção para avaliação do consumo de chocolate na saúde das famílias, a população foi formada por 10 (dez) famílias – constituídas de pai, mãe e filho (a), com o total de 30 (trinta) participantes, da cidade de Itajuípe, cadastrados na Unidade de Saúde da Família do Bairro Santo Antônio.

Dessas, 05 (cinco) famílias são do grupo controle, que consumiram o chocolate 70% de cacau sem os ácidos e 05 (cinco) famílias são do grupo teste, que consumiram o chocolate 70% de cacau adicionado dos ácidos ursólico e oleanólico. Os grupos foram separados de forma randômica.

### **4.3.1 Critérios de Inclusão**

Os critérios de inclusão, para o teste de aceitação do chocolate, foram pessoas maiores de 18 anos que quiseram participar de todo processo de análise sensorial, possuíram disponibilidade de tempo, que gostavam de comer chocolate e assinaram corretamente o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE.

Foram incluídas na intervenção as famílias cadastradas em uma unidade básica da cidade de Itajuípe que foram encontradas no seu endereço nos dias da pesquisa, aceitaram participar de todo o processo, não possuísse nenhum distúrbio que limitasse o consumo de chocolate (como por exemplo, alergias, intolerância, diabetes), gostasse de chocolate, assinaram corretamente o TCLE e possuíram disponibilidade de tempo.

### 4.3.2 Critérios de Exclusão

Foram excluídos do teste de aceitação dos chocolates os candidatos que apresentaram intolerância/alergia a qualquer componente do produto, estar em uso de medicamentos que interfiram na percepção dos odores e sabores ou possuir qualquer patologia que possa ser agravada com a pesquisa e/ou que atrapalhe na percepção sensorial (diabetes, por exemplo).

Os critérios de exclusão para a intervenção com o chocolate foram: as famílias que não foram encontradas no endereço cadastrado no programa de saúde da família, não aceitaram participar de todo o processo ou não se enquadraram nos critérios de inclusão.

### 4.4 Questões Éticas

Esta pesquisa foi realizada de acordo com as diretrizes e normas da Resolução 466 de 12 de Dezembro de 2012, do Ministério da Saúde, que normatiza as pesquisas realizadas com seres humanos (BRASIL, 2012). Ademais, foi entregue e explicado aos participantes o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE (Apêndices A e B).

A pesquisa foi enviada para o Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (CEP/ UESB) e foi aprovada com o número de CAAE 46718615.0.0000.0055.

### 4.5 Obtenção dos ácidos ursólico e oleanólico

O ácido ursólico e seu isômero o ácido oleanólico, isolados e extraídos das folhas da planta *Mansoa hirsuta* DC, em um processo realizado sob depósito de patente nº BR 1020150081804, foram fornecidos pelo Laboratório de Farmacognosia do curso de Farmácia da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. O direito de uso dos ácidos foi cedido pelo autor da patente.

### 4.6 Produção dos Chocolates

Os chocolates foram desenvolvidos a partir de uma formulação contendo liquor de cacau ou massa (64,00%), manteiga de cacau (6,00%), açúcar (29,54%) e lecitina de soja líquida (0,40%), obtendo concentração de cacau de 70%. Posteriormente adicionado 0,06% da mistura de ácido oleanólico e ácido ursólico na formulação de chocolate, correspondente à 150 mg/barra de 25g de chocolate (Figura I – Apêndice C).

Os chocolates utilizados para a intervenção no grupo controle foram desenvolvidos sem adição do ácido, numa formulação contendo liquor de cacau ou massa (64,00%), manteiga de cacau (6,00%), açúcar (29,6%) e lecitina de soja líquida (0,40%), para uma concentração de 70% de sólidos de cacau (64,0% da massa + 6,0% da manteiga de cacau).

O refino, a etapa de mistura dos ingredientes e a conchagem foram realizados em um moinho de rolos tipo melanger, onde foram homogeneizados e mantidos sob agitação a uma

temperatura em torno de 54° C. Todos esses processos tiveram duração de 24 horas. Na etapa de temperagem utilizou-se mesa de mármore para o resfriamento até 29° C. Após a temperagem o chocolate foi moldado manualmente em formas específicas de 25g e as mesmas transferidas resfriamento a aproximadamente 5° C durante duas horas. E depois, o chocolate foi desmoldado e embalado a 25° C (Apêndice D).

#### **4.7 Caracterização físico-química**

As análises para caracterização físico-químicas do chocolate foram feitas em triplicata para cada repetição, conforme metodologia descrita no Manual de Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (2004):

- Teor de água (umidade): determinado pela perda de peso em estufa, à temperatura de 105° C, até peso constante;
- Resíduo por incineração (Cinzas): determinado a partir resíduo obtido por aquecimento de um produto em temperatura próxima a (550-570°) C, até as cinzas ficarem brancas ou parcialmente acinzentadas.
- pH: foi medido por meio de um pHmetro de bancada QUIMIS® Q400MT, por leitura direta na amostra triturada e diluída;
- Acidez titulável total: determinada a partir da titulação das amostras de chocolate com soluções de álcali padrão (NaOH 0,1 mol/L), usando como indicador a fenolftaleína;
- Lipídios: o percentual de lipídios das amostras foi determinado a partir da hidrólise prévia da amostra com a utilização de solução de ácido clorídrico 3 mol/L sob aquecimento (refluxo), extração no extrator de Soxhlet e quantificação do resíduo obtido após a remoção do solvente;

A análise de proteína foi realizada através de metodologia Micro-Kjeldahl AOAC (2000) modificada:

- Proteína (teor de nitrogênio): a porcentagem proteica das amostras foi encontrada multiplicando-se a porcentagem de nitrogênio pelo fator de conversão 6,25.
- Carboidratos totais: foi realizada por diferença dos valores de umidade, cinzas, proteínas e lipídios.
- Foi realizada análise qualitativa para verificar a presença dos ácidos nas amostras de chocolate, por meio da metodologia de cromatografia em camada delgada, utilizando para fins comparativos os padrões dos ácidos ursólico e oleanólico, nas seguintes condições: placas cromatográficas de sílica gel, fase móvel solução clorofórmio:metanol (5% v/v), vapores de iodo e vanilina sulfúrica como reveladores.

#### **4.8 Análise Microbiológica**

As análises microbiológicas foram efetuadas a fim de garantir a segurança alimentar para os testes sensoriais e intervenção com as famílias, seguindo o anexo III da Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003 (BRASIL, 2003) e em placas Petrifilm3M™, segundo recomendações do fabricante (3M, 1997).

Para o preparo da amostra foram utilizados 25g de chocolate em 225 mL de Solução Salina Peptonada estéril 0,1% para obtenção de uma diluição de  $10^{-1}$ , esta solução foi utilizada para a realização de todas as análises.

##### **4.8.1 Análise de Aeróbios Mesófilos**

Foi utilizado o meio PCA (Plate Count Agar) para análise de aeróbios mesófilos, sob uma superfície plana dentro da câmara de fluxo laminar previamente preparada. A seguir, foi inoculado 1 mL da diluição  $10^{-1}$ , em placa Petri estéril. Verteu-se 20 mL do meio fundido, aquecido (banho-maria) na placa, sobre a amostra diluída ( $10^{-1}$ ).

As membranas foram incubadas invertidas em incubadoras do tipo B.O.D. por 48 horas sob temperatura de 25° C. Após decorrido o tempo de incubação, as colônias foram contadas em contador de colônias e os resultados foram expressos pelo número de Unidades Formadoras de Colônia por grama de amostra (UFC.g-1). Todas as análises foram realizadas em triplicatas.

##### **4.8.2 Análise de Bolores e Leveduras**

Para a determinação de bolores e leveduras das amostras de chocolate, foi realizado em Petrifilm YM 3M™.

A amostra (10g) foi diluída em água peptonada, Flip Top Dilution Botter 3M™, dentro de câmara de fluxo laminar, devidamente preparada. Em seguida, foi transferida 1mL da amostra diluída para o Petrifilm. Após homogeneização, a amostra foi incubada em B.O.D a 25°C por 5 dias. As colônias foram contadas em contador de colônias e os resultados foram expressos pelo número de Unidades Formadoras de Colônia por grama de amostra (UFC/g). Todas as análises foram realizadas em triplicatas.

##### **4.8.3 Análise de Coliformes com diferenciação para *Escherichia coli***

Para a determinação de Coliformes com diferenciação para *Escherichia coli* nas amostras de chocolate, foi realizado em Petrifilm EC 3M™.

A amostra (10g) foi diluída em água peptonada, Flip Top Dilution Botter 3M™, dentro de câmara de fluxo laminar, devidamente preparada. Em seguida, foi transferida 1mL da



amostra diluída para o Petrifilm. Após homogeneização, a amostra foi incubada em B.O.D a 35°C por 48 horas. As colônias foram contadas em contador de colônias e os resultados foram expressos pelo número de Unidades Formadoras de Colônia por grama de amostra (UFC.g-1). Todas as análises foram realizadas em triplicatas.

#### **4.9 Análise Sensorial - Teste de aceitação dos chocolates**

Para verificar a aceitação sensorial do chocolate desenvolvido foi realizado o teste de aceitação sensorial com escala hedônica de 09 pontos de acordo com Minim (2013). As amostras de chocolate foram avaliadas quanto à impressão global por 100 avaliadores.

Desta forma, pratos codificados com 03 dígitos aleatórios contendo 10 g de chocolate a temperatura ambiente, foram servidos aos avaliadores. Também foi servida água filtrada à temperatura ambiente para os candidatos utilizarem ao provar as amostras, a fim de retirar gostos residuais da boca.

O chocolate foi servido aos avaliadores em cabines individuais, usando luz branca, e de forma monódica.

Juntamente com o chocolate, o avaliador recebeu uma ficha de aceitação sensorial de escala hedônica, com termos variando entre gostei extremamente e desgostei extremamente, onde foi solicitado a marcar sua impressão global sobre o chocolate – Apêndice E (MINIM, 2013).

Para a análise dos resultados, os dados foram transformados de nominais para numéricos, onde 01 (um) era desgostei extremamente e 09 (nove) que era gostei extremamente. Os resultados do teste de aceitação foram submetidos à análise estatística descritiva. Para tal foi utilizado o software Statistical Package for the Social Sciences® (SPSS, versão 21.0).

#### **4.10 Intervenção para avaliação do consumo de chocolate na saúde das famílias.**

Foram entrevistadas todas as famílias (n=31) que estavam cadastradas em uma unidade básica da cidade de Itajuípe-Bahia, no período de julho a agosto de 2016. Todas receberam a visita do pesquisador em seus domicílios para explicação de todas as fases da pesquisa.

Os participantes foram instruídos a manterem suas atividades diárias e seguir com a alimentação habitual, sem inserir nenhum outro chocolate na dieta e qualquer medicamento que pudesse interferir no resultado do estudo, ou alterar suas atividades físicas.

Também foram informados para escolherem um horário fixo para consumir 25g de chocolate todos os dias durante um período 04 (quatro) semanas. Os 25g de chocolate foram

servidos todos os dias à temperatura ambiente, no local do seu endereço, como barras pequenas e embaladas separadamente.

Para verificar se não houve alteração na rotina alimentar dos pacientes, foi usado como ferramenta de controle o recordatório de 24 horas (BUZZARD, 1998).

Antes de iniciar a intervenção, e após serem fornecidas todas as instruções, foi realizada a avaliação antropométrica, mediante aferição das medidas de peso (kg), altura (m) e circunferência da cintura (cm) e com base nessas medidas, foi calculado o índice de massa corporal ( $IMC=kg/m^2$ ). As medidas de peso foram realizadas em balança, com capacidade máxima de 150 kg e mínima de 2 kg, e fita métrica para altura e circunferência da cintura até 200cm.

Além da avaliação nutricional e antropométrica, também foram realizados testes clínicos de avaliação do perfil lipídico: colesterol total e suas frações (HDL – Lipoproteína de Alta Densidade, LDL – Lipoproteína de Baixa Densidade), triglicerídeos e glicemia de jejum. Para tanto, foi coletado o sangue venoso dos participantes após jejum de 12 horas, em laboratório de análises clínicas terceirizado (LL Laboratório – Itajuípe, Bahia). Para a análise foram utilizados os métodos segundo Lima (2001).

As avaliações clínicas e antropométricas foram realizadas em duas ocasiões nos participantes: antes da primeira semana do experimento e imediatamente após a quarta semana da suplementação com o chocolate (grupos controle e teste), a fim de avaliar se houve alterações nos indicadores analisados.

Para comparar se houve diferença nas variáveis (peso, IMC, circunferência da cintura, glicemia, HDL, LDL, triglicerídeos, colesterol total) entre os grupos controle e teste; e também para comparar estas variáveis antes e após o consumo de chocolate no grupo teste, inicialmente foi realizado teste de Kolmogorov-Smirnov para atestar a normalidade dos dados, e após essa definição, foi utilizado teste de médias para comparação, sendo usado teste de Wilcoxon nas variáveis que não possuíam distribuição normal, e o Teste t para amostras pareadas nas variáveis que seguiam a distribuição normal e eram pareadas. Nas amostras não pareadas e de distribuição normal, foi usado o teste de Mann-Whitney.

Para comparação das variáveis (peso, IMC, circunferência da cintura, glicemia, HDL, LDL, triglicerídeos, colesterol total) entre os grupos pai, mãe e filho, foi realizado teste de Kolmogorov-Smirnov para atestar a normalidade dos dados, sendo usado o teste de Kruskal-Wallis para variáveis que não seguem distribuição normal, e ANOVA One-Way para variáveis com distribuição normal.

Além disto, a correlação entre variáveis foi realizada usando metodologia de Pearson.

Todos os testes de médias foram realizados a 5% de probabilidade, utilizando o software licenciado Statistical Packpage for the Social Sciences® (SPSS, versão 21.0).

#### **4.10.1 Recordatório de 24 horas**

O Recordatório de 24horas consiste em definir e quantificar todos os alimentos e bebidas ingeridas no período anterior à entrevista, que podem ser as 24 horas precedentes ou, mais comumente, o dia anterior (Buzzard, 1998). Este foi aplicado em todas as visitas à família, para estabelecer o consumo diário de cada indivíduo, além de avaliar se dieta habitual não foi modificada. As informações foram fornecidas pelos indivíduos pesquisados (APÊNDICE F).

## **5 RESULTADOS**

A fim de responder os objetivos desse estudo, os resultados foram dispostos em dois manuscritos científicos. O primeiro intitulado “Desenvolvimento de chocolate com alta concentração de cacau, incorporados com ácidos triterpênicos para ser utilizado no consumo alimentar como forma de promoção da saúde.” e o segundo com o título: “Avaliação de consumo de chocolate de alta concentração de cacau incorporado com ácidos triterpênicos na saúde das famílias”, apresentados a seguir.

**5.1 MANUSCRITO 1: DESENVOLVIMENTO DE CHOCOLATE COM ALTA CONCENTRAÇÃO DE CACAU, INCORPORADOS COM ÁCIDOS TRITERPÊNICOS PARA SER UTILIZADO NO CONSUMO ALIMENTAR COMO FORMA DE PROMOÇÃO DA SAÚDE**

O manuscrito será submetido ao periódico Revista Appetite, elaborado de acordo com as instruções para autores, disponíveis em: <https://www.elsevier.com/journals/appetite/0195-6663/guide-for-authors>.

## **Desenvolvimento de chocolate com alta concentração de cacau, incorporados com ácidos triterpênicos para ser utilizado no consumo alimentar como forma de promoção da saúde**

### **RESUMO**

O objetivo do trabalho foi desenvolver um chocolate 70% de cacau incorporado de ácidos ursólico e oleanólico e avaliar os efeitos do seu consumo na saúde de indivíduos. O chocolate foi desenvolvido a partir de uma formulação contendo líquido de cacau, manteiga de cacau, açúcar refinado, lecitina de soja líquida, e adicionado os ácidos ursólico e oleanólico, correspondente à 150 mg de ácidos/barra de 25g de chocolate 70% de cacau. Depois, foram feitas análises físico-químicas, microbiológicas e sensoriais nos chocolates. Para avaliação da saúde de indivíduos, foi realizada uma intervenção com o chocolate desenvolvido, na qual 15 voluntários, durante 04 semanas, consumiram 25g do produto diariamente. Os indivíduos foram submetidos a testes laboratoriais e antropométricos em duas ocasiões, antes e após as semanas de intervenção. As análises revelaram que o chocolate desenvolvido apresentou características físico-químicas e microbiológicas dentro dos padrões aceitos para chocolate amargo e apresentou boa aceitação sensorial. O resultado da intervenção permitiu verificar que, os voluntários apresentaram redução nas medidas antropométricas, porém, não tiveram modificações significativas nos exames laboratoriais. Foi possível desenvolver e caracterizar o chocolate 70% com adição de ácido ursólico e ácido oleanólico para ser utilizado como suporte de intervenções nutricionais que promovam saúde.

Palavras-chave: Inovação. Alimentação saudável. Escolhas alimentares.

### **ABSTRACT**

The objective of the study was to develop a 70% cocoa chocolate containing ursolic and oleanolic acids and to evaluate the effects of its consumption on the health of individuals. The chocolate was developed from a formulation containing cocoa liquor, cocoa butter, refined sugar, liquid soy lecithin, and added ursolic and oleanolic acids, corresponding to 150 mg of acids/25g of chocolate 70% of cocoa . After that, physical-chemical, microbiological and sensorial analyzes were made in chocolates. To evaluate the health of individuals, an intervention was performed with the chocolate developed, in which 15 volunteers, during 04 weeks, consumed 25g of the product daily. The subjects were submitted to laboratory and anthropometric tests on two occasions, before and after the intervention weeks. The analyzes revealed that the developed chocolate presented physical-chemical and microbiological characteristics within the accepted standards for bitter chocolate and presented good sensorial acceptance. The result of the intervention allowed to verify that, the volunteers presented reduction in the anthropometric measures, however, did not have significant modifications in the laboratory exams. It was possible to develop and characterize 70% chocolate with addition of ursolic acid and oleanolic acid to be used as support for nutritional interventions that promote health.

Keywords: Innovation. Healthy eating. Food choices.

## INTRODUÇÃO

Os países mais desenvolvidos possuem suas economias impulsionadas pela revolução tecnológica e procuram dispor de sistemas de inovação articulados e consolidados para apoiarem a construção de sociedades globalizadas. Porém, o desenvolvimento tecnológico e a inovação de um país dependem de investimentos constantes, estáveis e de alto valor. No Brasil, os investimentos sempre foram realizados de maneira irregular e de pequeno porte pelo governo, o que é preocupante para o país (FELIPE, 2007), assim como em outros países em desenvolvimento, a diferença de investimentos em inovações em comparação a países ricos é bem discrepante (SIDONIO, 2013).

Partindo do pressuposto que, é preciso estimular a inovação para o desenvolvimento do país, foi aprovada no Brasil a Lei de Inovação (2004), dispondo sobre estímulos ao desenvolvimento científico, à pesquisa, à capacitação científica e tecnológica e à inovação, essa lei introduz inovações em diversos setores e vem contribuindo para reposicionar indústrias e empresas. Essa realidade é reforçada também em países desenvolvidos, como Coréia do Sul, França, Estados Unidos e Japão, os quais possuem leis que impulsionam a capacidade inovativa tecnológica e à criação das infra-estruturas de pesquisa e desenvolvimento (PEREIRA e KRUGLIANSKAS, 2005).

Um desses setores que vem despontando como promissor é o da indústria de alimentos, que foi responsável por 42% do PIB do agronegócio brasileiro (SIDÔNIO, 2013), faturando cerca de R\$ 452 bilhões em 2015 (ABIA, 2016). Além de ser um dos ramos mais importantes da economia na Itália e na União Européia em geral, desempenhando um papel central na transformação das matérias-primas agrícolas e da oferta alimentar (BIGLIARDI E GALATI, 2013).

A preocupação crescente pela saúde, mudanças na regulamentação dos alimentos e a constatação científica das ligações existentes entre dieta e saúde, fizeram emergir produtos inovadores alimentares, que prometem colaborar na busca por uma vida mais saudável. Assim, aumentou a procura por alimentos orgânicos, nutracêuticos e funcionais (IKEDA et al., 2010).

Os alimentos funcionais são a mais nova tendência da indústria alimentícia, possuindo propriedades de saúde além de funções nutricionais básicas (GOLDBERG, 2012). Vários alimentos prometem ajudar na prevenção ou tratamento de doenças, como em problemas intestinais por meio de consumo de sobremesa de chocolate com adição de prebióticos (MORAIS et al., 2014); e doenças do sono, como é o caso do leite de vaca com concentração

aumentada de melatonina (MILAGRES et al., 2012) e prevenção de câncer de cólon com balas mastigáveis adicionadas de inulina (GONÇALVES E ROHR, 2009).

Igualmente, o chocolate, produto bastante consumido no Brasil e no mundo, tendo seu consumo per capita brasileiro de 2,8 kg em 2013 (ABICAB, 2014), e o consumo na Europa de 2.534.360 toneladas no ano de 2014 (CAOBISCO, 2015), também possui substâncias com diversas propriedades funcionais, sendo utilizado na prevenção ou tratamento de algumas patologias, com atividade antioxidante cardioprotetora como diminuição de LDL (lipoproteínas de baixa densidade) e triglicerídios, diminuição do risco cardíaco e diminuição de formação de placas aterogênicas, ação antiinflamatória e vasodilatadora (TEIXEIRA, 2013; RODRIGUES, 2007).

Cabe destacar que, o chocolate com maiores propriedades de promoção de saúde é o chocolate amargo, com alto teor de sólidos de cacau, menos açúcar, menor teor de gorduras (manteiga de cacau e leite) e com elevado teor de polifenóis, no entanto o mercado de chocolates com esse perfil ainda é pequeno, as prateleiras ainda estão cheias de produtos com alto teor de gorduras, açúcares e baixa concentração de cacau e polifenóis (TITTON et al., 2016). Então, chama-se atenção aqui para a necessidade de pesquisas para desenvolver chocolates inovadores e com características de serem promotores de saúde.

A fim de aproveitar-se dos benefícios do chocolate para a saúde, alguns produtos funcionais foram desenvolvidos como o chocolate com inulina (OLIVEIRA et al., 2015); chocolate com guaraná (FRITSCH et al., 2013), chocolate com fibra solúvel (DEGÁSPARI et al., 2015), chocolate com Okara (CANDIA E DIAS, 2014), chocolates com teores aumentados de flavonóides (ESTHECHOC®), entre outros.

Embora existam estudos sobre a utilização do chocolate em benefícios para a saúde (SANDRI, 2012; SCHUMACHER, 2008), nenhum deles aborda a adição de ácido ursólico e oleanólico ao chocolate visando promover uma alimentação saudável. Esses ácidos foram recentemente purificados de uma planta tipicamente brasileira, a *Mansoa hirsuta* D.C., uma trepadeira lenhosa, conhecida popularmente como cipó d'alho (SILVA, 2006) e podem ser utilizados como potenciais aditivos em alimentos, por possuírem amplo espectro de atividades biológicas, as quais se destacam a atividade hepatoprotetora, anti hiperlipidêmica, antiinflamatória e não apresentarem toxicidade (ZOGHBI et al, 2009; FRIGHETTO, 2005; LIU, 1995).

Dessa forma, desenvolver um produto inovador que agregue todas essas funções, do chocolate e dos dois ácidos (ursólico e oleanólico), oportuniza expandir as possibilidades de



recursos alimentícios com maior desempenho nutricional e que possam contribuir com a promoção de saúde, qualidade de vida e bem-estar.

Dentro desse contexto, o objetivo do presente trabalho foi desenvolver um produto inovador, saboroso, prático e saudável para ser utilizado no consumo alimentar como forma de promoção da saúde.

## **MÉTODOS**

A pesquisa apresenta caráter experimental e quantitativo. Os experimentos foram realizados nos laboratórios do Instituto Federal Baiano Campus de Uruçuca e na cidade de Itajuípe, Bahia.

A população do estudo foi composta por uma amostra de conveniência, sendo não-probabilística, homens e mulheres, de faixa etária maior/igual a 18 anos, totalizando 115 (cento e quinze) voluntários.

Desses, 100 (cem) voluntários da cidade de Uruçuca participaram da análise sensorial (teste de aceitação) e 15 (quinze) voluntários da cidade de Itajuípe participaram da intervenção com o chocolate.

Os critérios de inclusão foram pessoas maiores de 18 anos que quiseram participar de todo processo do estudo, possuíram disponibilidade de tempo, que gostavam de comer chocolate e assinaram corretamente o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE.

Foram excluídos do estudo os voluntários que apresentaram intolerância/alergia a qualquer componente do produto, tiver em uso de medicamentos que interfiram na percepção dos odores e sabores ou possuir qualquer patologia que possa ser agravada com a pesquisa e/ou que atrapalhe na percepção sensorial.

Esta pesquisa foi realizada de acordo com as diretrizes e normas da Resolução 466 de 12 de Dezembro de 2012 (BRASIL, 2012), enviada para o Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia e foi aprovada com o nº46718615.0.0000.0055.

### **Obtenção dos ácidos ursólico e oleanólico**

O ácido ursólico e seu isômero o ácido oleanólico, isolados e extraídos das folhas da planta *Mansoa hirsuta* DC, em um processo de extração e isolamento realizados sob depósito de patente nº BR 1020150081804, foram fornecidos pelo Laboratório de Farmacognosia do curso de Farmácia da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, com autorização do autor da patente.

### **Processamento do chocolate**

O chocolate 70% adicionado dos ácidos ursólico e oleanólico foi desenvolvido a partir de uma formulação contendo líquido de cacau (64%), manteiga de cacau (6%), açúcar refinado (29,54%), lecitina de soja líquida (0,4%), e adicionado os ácidos ursólico e oleanólico (0,06%), correspondente à 150 mg de ácidos/barra de 25g de chocolate 70%.

Após a pesagem dos ingredientes, estes foram transferidos para um moinho de rolos do tipo melanger, onde ocorreram as etapas de refino, mistura dos ingredientes e a conchagem. Os ingredientes na melanger foram homogeneizados e mantidos sob agitação a uma temperatura em torno de 54°C por um período de 24 horas, até a massa se transformar em chocolate.

Em seguida, o chocolate foi transferido para uma mesa de mármore para a etapa de temperagem para o resfriamento até 29°C. Após a etapa de temperagem, o chocolate foi moldado manualmente em formas específicas de 25g (barras) e as mesmas transferidas resfriamento a aproximadamente 5°C durante duas horas. Depois, o chocolate foi desmoldado, embalado e armazenado a 25°C.

### **Caracterização físico-química**

As análises para caracterização físico-químicas do chocolate foram feitas em triplicata para cada repetição, conforme metodologia descrita no Manual de Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (2004). Foram realizadas análises de teor de água (umidade); resíduo por incineração (cinzas); pH; acidez titulável total e lipídios por Soxhlet com modificações.

Já a quantificação de proteína (teor de nitrogênio) foi realizada através de metodologia Micro-Kjeldahl AOAC (1990) modificada, e a determinação dos carboidratos totais realizadas através da diferença dos valores de somatória de umidade, cinzas, proteínas e lipídios.

Foi realizada análise qualitativa para verificar a presença dos ácidos nas amostras de chocolate, por meio da metodologia de cromatografia em camada delgada, utilizando para fins comparativos os padrões dos ácidos ursólico e oleanólico, nas seguintes condições: placas cromatográficas de sílica gel, fase móvel solução clorofórmio:metanol (5% v/v), vapores de iodo e vanilina sulfúrica como reveladores.

### **Análises Microbiológicas**

As análises microbiológicas foram efetuadas a fim de garantir a segurança alimentar para os testes sensoriais, seguindo o anexo III da Instrução Normativa nº 62 (2003) e em placas Petrifilm 3M™, segundo recomendações do fabricante (3M, 1997).

Para o preparo da amostra foram utilizados 25g de chocolate em 225 mL de Solução Salina Peptonada estéril 0,1% para obtenção de uma diluição de  $10^{-1}$ , esta solução foi

utilizada para a realização de todas as análises, realizadas sob uma superfície plana dentro da câmara de fluxo previamente preparada e em triplicatas.

A análise de aeróbios mesófilos foi realizada em meio PCA (Plate Count Agar). Foi inoculado 1 ml da diluição  $10^{-1}$ , em placa Petri estéril. Verteu-se 20 mL do meio fundido, aquecido (banho-maria) na placa, sobre a amostra diluída ( $10^{-1}$ ). As placas foram incubadas invertidas em incubadoras do tipo B.O.D. por 48 h sob temperatura de 25 °C.

Para a determinação de bolores e leveduras das amostras de chocolate, foi realizado em Petrifilm YM 3M™ (Ref.6407). Em seguida, foi transferida 1mL da amostra diluída para o Petrifilm. Após homogeneização, a amostra foi incubada em B.O.D a 25°C por 5 dias.

Para a determinação de Coliformes com diferenciação para *E. coli* nas amostras de chocolate, foi realizado em Petrifilm EC 3M™ (Ref.6404). Foi transferida 1mL da amostra diluída para o Petrifilm. Após homogeneização, a amostra foi incubada em B.O.D a 35°C por 48 horas.

Em todas as análises as colônias foram contadas em contador de colônias e os resultados foram expressos pelo número de Unidades Formadoras de Colônia por grama de amostra (UFC/g).

### **Análise Sensorial**

Para verificar a opinião das pessoas em relação às características sensoriais do chocolate desenvolvido, foi realizada uma avaliação, usando uma análise sensorial de aceitação do produto. Com essa finalidade foi utilizada uma escala hedônica de 09 (nove) pontos de acordo com Minim (2013), cujos extremos correspondem a desgostei extremamente e gostei extremamente.

As amostras de chocolate foram avaliadas quanto à impressão global por 100 avaliadores não-treinados. De forma que, recipientes codificados com 03 dígitos aleatórios contendo 10 g de chocolate a temperatura ambiente, foram servidos aos avaliadores em cabines individuais, usando luz branca, e de forma monódica.

Juntamente com o chocolate, o avaliador recebeu uma ficha de aceitação sensorial de escala hedônica, onde foi solicitado a marcar sua impressão global sobre o chocolate de acordo com a escala proposta (MINIM, 2013).

Para a análise dos resultados, os dados foram transformados de nominais para numéricos, onde 01 (um) correspondia a desgostei extremamente e 09 (nove) a gostei extremamente.

Os resultados do teste de aceitação foram submetidos à análise estatística descritiva. Para tal foi utilizado o software Statistical Packpage for the Social Sciences® (SPSS, versão 21.0).

### **Intervenção para avaliação do consumo de chocolate na saúde das famílias**

A fim de avaliar o efeito do consumo do chocolate 70% acrescido dos ácidos ursólico e oleanólico na saúde das pessoas foi realizada uma intervenção com voluntários que estavam cadastrados em uma unidade básica de saúde da cidade de Itajuípe-Bahia, no período de julho a agosto de 2016.

Destes, foram incluídos na intervenção apenas os voluntários que foram encontrados no seu endereço nos dias da pesquisa, que se encaixaram nos critérios de inclusão, perfazendo um total de 15 (quinze) pessoas.

Todos os voluntários receberam a visita do pesquisador em seus domicílios para explicação de todas as fases da pesquisa. Durante a visita, os participantes foram instruídos a manterem suas atividades diárias e seguir com a alimentação habitual, não inserirem novos medicamentos ou novas atividades físicas a sua rotina.

Para verificar se não houve alteração na rotina alimentar dos pacientes, foi usado como ferramenta de controle o recordatório de 24 horas (Buzzard, 1998).

Também, foram informados para escolherem um horário fixo para consumir 25g de chocolate todos os dias durante um período 04 (quatro) semanas. Os 25g de chocolate foram servidos todos os dias à temperatura ambiente, no local do seu endereço, como barras pequenas embaladas separadamente.

Após todas as instruções, foi realizada a avaliação antropométrica, mediante aferição das medidas de peso (kg), altura (m) e circunferência da cintura (cm) e com base nessas medidas, foi calculado o Índice de Massa Corporal ( $IMC=kg/m^2$ ). As medidas de peso foram realizadas em balança, com capacidade máxima de 150 kg e mínima de 2 kg, e fita métrica para altura e circunferência da cintura até 200 cm.

Além da avaliação nutricional e antropométrica, também foram realizados testes clínicos de avaliação do perfil lipídico – colesterol total e suas frações (lipoproteínas de alta densidade ou HDL e as lipoproteínas de baixa densidade ou LDL) e triglicerídeos e glicemia de jejum. Para tanto, foi coletado o sangue venoso dos participantes após jejum de 12 horas, em laboratório terceirizado de análises clínicas (LL Laboratório – Itajuípe, Bahia). Para a análise dos testes laboratoriais foram utilizados os métodos segundo Lima (2001).

Os testes laboratoriais e antropométricos foram realizados em duas ocasiões nos participantes: antes da primeira semana do experimento e imediatamente após a quarta semana da suplementação com o chocolate, a fim de avaliar se houve alterações nos indicadores citados acima.

Para comparar se houve diferença nas variáveis (peso, IMC, circunferência da cintura, glicemia, HDL, LDL, triglicerídeos, colesterol total) antes e após o consumo de chocolate,

inicialmente foi realizado teste de Kolmogorov-Smirnov para atestar a normalidade dos dados, e após essa definição, foi utilizado teste de médias para comparação, sendo usado teste de Wilcoxon nas variáveis que não possuíam distribuição normal, e o Teste t para amostras pareadas nas variáveis que seguiam a distribuição normal. Todos os testes de médias foram realizados a 5% de probabilidade, utilizando o software licenciado Statistical Packpage for the Social Sciences® (SPSS, versão 21.0).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Caracterização físico-química dos chocolates

Na Tabela 1 são apresentados os valores da análise físico-química do chocolate 70% de cacau com adição da mistura dos ácidos ursólico e o ácido oleanólico.

Tabela 1: Teor de água, cinzas, pH, acidez, lipídios, proteínas, tamanho médio das partículas do chocolate.

	Valor $\pm$ Desvio Padrão
Teor de água (%)	1,72 $\pm$ 0,16
Cinzas (%)	2,30 $\pm$ 0,05
Ph	5,58 $\pm$ 0,04
Acidez titulável (%)	8,2 $\pm$ 0,40
Lipídios (%)	29,43 $\pm$ 0,65
Proteínas (%)	8,79 $\pm$ 0,48
Carboidratos Totais (%)	57,76 $\pm$ 0,00
Tamanho médio das partículas ( $\mu$ m)	19 $\pm$ 0,01

Fonte: Pesquisa direta.

Os ácidos ursólico e o ácido oleanólico foram inseridos no chocolate combinados, isso é devido à dificuldade de separação deles por serem isômeros, a similaridade de propriedades físicas e químicas entre esses pares torna a sua diferenciação e separação muito laboriosas, no entanto eles compartilham muitas propriedades farmacológicas comuns (LIU, 2005), que agregam valor ao chocolate desenvolvido.

O chocolate possui baixo teor de água (1,72%), esses valores encontram-se dentro do padrão permitido pela legislação brasileira (RESOLUÇÃO- CNNPA N°12, 1978) que é de no máximo 3% para teor de umidade nos chocolates (BRASIL, 1978) e devido a essa característica não é necessário o uso de aditivos ou conservantes, além de apresentar maior durabilidade (NACHTIGALL, 1999).

A amostra de chocolate apresentou pH de 5,58 valor que se aproxima ao pH encontrado em outros chocolates amargos (VISOTTO, 1999; LEITE, 2013), já que a presença de quantidade maior de liquor de cacau diminui o pH em relação aos chocolates ao leite. Um pH mais baixo também já era esperado, porque houve adição de dois ácidos à formulação.

A tendência de chocolates escuros é possuir uma menor quantidade de proteína quando comparado com chocolate ao leite e chocolates branco, em média 5% de proteína (AFOAKWA et al., 2007). O chocolate desenvolvido possui teor maior, de 8,8%. A legislação no Brasil (RESOLUÇÃO- CNNPA N°12, 1978) não estabelece valor mínimo nem máximo para proteína, porém o aumento na concentração de proteína aumenta também a digestibilidade do alimento, o que traz benefícios para o chocolate com teores maiores (HENARES et. al, 2007). Alimentos ricos em proteínas de boa qualidade são importantes porque fornecem aminoácidos essenciais visando promover o crescimento, em especial para a manutenção e o desenvolvimento da massa magra do corpo (SCHUMACHER, 2008).

A concentração de lipídios também não difere da encontrada na literatura (29,43%), outros estudos encontraram valores semelhantes (REIS; SAMPAIO, 2011). Inclusive, a legislação brasileira (RESOLUÇÃO- CNNPA N°12, 1978) indica que o chocolate tenha no mínimo de 20% de lipídios. O aumento do teor lipídico pode estar relacionado com uma adição de leite ou outras gorduras (como amendoins, castanhas, manteiga de cacau), assim, se o chocolate fosse ao leite ou recheado com algum outro item, poderia ter esse valor maior.

Com relação aos carboidratos totais, o chocolate possui 57,76%, a literatura não se refere à quantidade mínima nem máxima permitida (RESOLUÇÃO- CNNPA N°12, 1978). Devido sua concentração de carboidratos, o chocolate pode ser utilizado como fonte de energia, quantidades inadequadas desse nutriente na dieta podem acarretar em cansaço e fadiga (ENES e SILVA, 2009).

O teor de cinzas geralmente é proveniente da torta de cacau, porém, a cada adição de açúcar esse valor tende a diminuir. As amostras dos chocolates analisadas apresentaram-se com o valor próximo ( $2,30 \pm 0,05$ ) ao máximo permitido pela legislação para chocolate, que é de 2,5% p/p de resíduo mineral fixo (RESOLUÇÃO- CNNPA N°12, 1978). Uma quantidade de cinzas maior do que a permitida pela legislação pode sugerir adulteração ou contaminação por algum resíduo mineral no chocolate (REIS, 2011).

O tamanho das partículas do chocolate pode interferir na sua palatabilidade, influenciando diretamente sabor e textura (NACANO, 2013). O ideal é que esse tamanho ficasse entre 20-25 $\mu$ m, o chocolate analisado obteve tamanho de partícula igual a 19 $\mu$ m, mas essa questão não interferiu para ter uma boa palatabilidade, o que pode ser observado no resultado da análise sensorial positiva.

A presença dos ácidos ursólico e oleanólico no chocolate após processamento foi confirmada pelo método de cromatografia de camada delgada usando vapores de iodo e vanilina como reveladores e os padrões dos ácidos para comparação.

Houve presença dos ácidos em todas as frações, que pode ser observado pelas manchas das substâncias na placa apresentando fatores de retenções (razão entre a distância percorrida pelos ácidos ursólico e oleanólico e a distância percorrida pela fase móvel) com valores iguais ou bem próximos aos fatores de retenção do padrão dos ácidos. Essa técnica foi escolhida por ser de fácil aplicação, simplicidade, baixo custo e eficiente.

Pode-se notar que as etapas de produção do chocolate, como aquecimento, resfriamento, homogeneização e conchagem não degradaram os ácidos, permanecendo ativos até finalização dos chocolates. Assim, essa metodologia é compatível para o desenvolvimento de chocolates acrescidos de ácido ursólico e ácido oleanólico, sem causar problemas para a conservação dos mesmos no produto final.

### Análises microbiológicas

As análises microbiológicas foram realizadas com a finalidade de oferecer segurança para análise sensorial. A Tabela 2 expõe os resultados encontrados nas análises microbiológicas referentes aos chocolates analisados.

Tabela 2: Resultados das Análises Microbiológicas para os chocolates.

Bactérias Mesófilas UFC/g	Coliformes Totais UFC/g	Coliformes Termotolerantes UFC/g	Bolores e leveduras UFC/g
$7 \times 10^1$	Ausentes	Ausentes	$2,5 \times 10^1$

Fonte: Pesquisa direta.

A diluição utilizada foi a  $10^1$ , as outras diluições menores não foram capazes de apontar a presença de nenhum microorganismo pesquisado. Os valores de unidades formadoras de colônias por grama de chocolate de bactérias mesófilas ( $7 \times 10^1$ ) e bolores e leveduras ( $2,5 \times 10^1$ ) estão dentro do permitido pela legislação, que são de  $10^4$  e  $10^3$  UFC/g respectivamente (Resolução CNNPA nº12, 1978).

A análise para coliformes totais e coliformes termotolerantes tiveram como resultado ausência de microorganismos em uma diluição  $10^1$ , estando dentro do padrão de qualidade exigido pela legislação (Resolução CNNPA nº12, 1978). Dessa maneira, o resultado destas análises revela que os chocolates consumidos estavam seguros para o consumo humano, seja para as análises sensoriais, ou para intervenção.

### Análise sensorial

De acordo com as respostas dos avaliadores, a amostra de chocolate obteve escore médio de  $7,29 \pm 1,43$  situando-se entre os termos hedônicos “gostei moderadamente” e “gostei muito” correspondente a região de aceitação da escala hedônica, como apresentado na Tabela 3.

Tabela 3: Impressão global do chocolate, média e mediana.

Impressão Global	Média $\pm$ Desvio Padrão
	7,29 $\pm$ 1,43

O chocolate teve boa aceitação, apresentando 83% de respostas entre as escalas 07 e 09, e de acordo com Borges (2009) para que um produto seja considerável aceitável, deve possuir no mínimo 70% de índice de aceitabilidade. Esse resultado é muito importante, uma vez que a determinação da aceitação sensorial por parte dos potenciais consumidores é elemento fundamental no desenvolvimento de novos produtos ou melhoramento de produtos já existentes (MILAGRES et al., 2010).

Da mesma forma, no estudo de Candia (2014), sobre o desenvolvimento de um chocolate com adição de *okara*, obteve-se boa aceitação com escore médio de 7,61 $\pm$ 1,89 para uma das formulações propostas. O que se assemelha também ao estudo de Oliveira et al. (2015), no qual encontraram a aceitação global do chocolate com adição de inulina de escore igual a 7,74 $\pm$ 0,09.

No entanto, nem todos os chocolates funcionais possuem boa aceitação sensorial, Degáspari et al. (2015), desenvolveram um chocolate com fibra solúvel e atingiu escores com médias variando entre 5,08 (equivalente a “indiferente” pela escala hedônica apresentada) e 6,49 (equivalente a “gostei ligeiramente” pela escala hedônica apresentada), o que corresponde a um nível de aceitação ruim. Em contrapartida, o chocolate desenvolvido com os ácidos possui a aceitação sensorial como ponto favorável à sua utilização.

Além de ser um direito humano fundamental, uma alimentação/nutrição adequada constitui condição primordial para a existência de qualidade de vida, bem como está ligada à prevenção de doenças carenciais, a obesidade e comorbidades associadas (SILVA et al., 2012).

A dificuldade da manutenção de uma dieta balanceada está ligada muitas vezes à privação de alimentos saborosos (WERLE et al., 2013). Por isso se faz imprescindível a inovação na indústria de alimentos para atender essa demanda, alimentos saborosos, práticos e saudáveis. O chocolate 70% adicionado dos ácidos ursólico e oleanólico pode devolver o prazer em se alimentar e aumentar as taxas de adesão a dietas saudáveis por apresentar praticidade e boa aceitação sensorial.



### Intervenção na avaliação do consumo de chocolate na saúde de voluntários.

A população desse estudo foi composta por 15 voluntários, 08 do sexo masculino (53,3%) e 07 do sexo feminino (46,7%). A média de idade da população foi de  $52 \pm 15,01$  anos.

A intervenção com o chocolate 70% de cacau acrescido de ácido ursólico e ácido oleanólico ocorreu durante 04 semanas, no período de julho a agosto de 2016. Durante esse tempo, os voluntários mantiveram suas atividades habituais em todo o processo da pesquisa, incluindo alimentação e prática/não prática de atividade física.

A dose diária recomendada desses ácidos varia de 150-300mg, optamos por analisar o efeito da menor dose recomendada (150mg/dia), apesar dos ácidos serem não-tóxicos (Centro Nacional de Informações sobre Biotecnologia, 2016; J. Liu, 2005).

Após as 04 semanas de utilização do chocolate 70% de cacau adicionado de ácido ursólico e ácido oleanólico, foi possível observar boas alterações na saúde dos voluntários conforme Tabela 4:

Tabela 4: Parâmetros dos voluntários antes e depois do consumo do chocolate.

<b>Parâmetros</b>	<b>Antes (média ± desvio)</b>	<b>Depois (média ± desvio)</b>
<b>Peso (kg)</b>	67,00 ± 15,98*	66,00 ± 15,04*
<b>IMC (kg/m<sup>2</sup>)</b>	25,42 ± 4,47*	24,99 ± 4,13*
<b>Circunferência da cintura (cm)</b>	92,13 ± 13,94*	88,73 ± 12,82*
<b>Glicose em Jejum (mg/dL)</b>	85,00 ± 5,90	89,07 ± 30,75
<b>Colesterol Total (mg/dL)</b>	193,27 ± 24,31	199,20 ± 32,49
<b>HDL (mg/dL)</b>	55,53 ± 7,58	51,47 ± 6,83
<b>LDL (mg/dL)</b>	98,80 ± 14,06	114,87 ± 32,79
<b>Triglicerídeos (mg/dL)</b>	195,00 ± 23,80	163,00 ± 60,97

\*Alteração significativa  $p < 0,05$ .

Ao analisar a variável peso, antes e após o consumo do produto, observou-se diferença significativa entre o peso antes do consumo do chocolate 70% de cacau incorporado de ácido ursólico e oleanólico e após o consumo ( $p=0,014$ ), pelo teste t para amostras pareadas a 5% de probabilidade. Após o consumo de chocolate 70% de cacau incorporado de ácido ursólico e oleanólico, 53,3% (n=8) dos indivíduos do grupo teste diminuíram essa medida. Sendo que destes, 50% (n=4) perderam aproximadamente 2 kg (Figura 1).

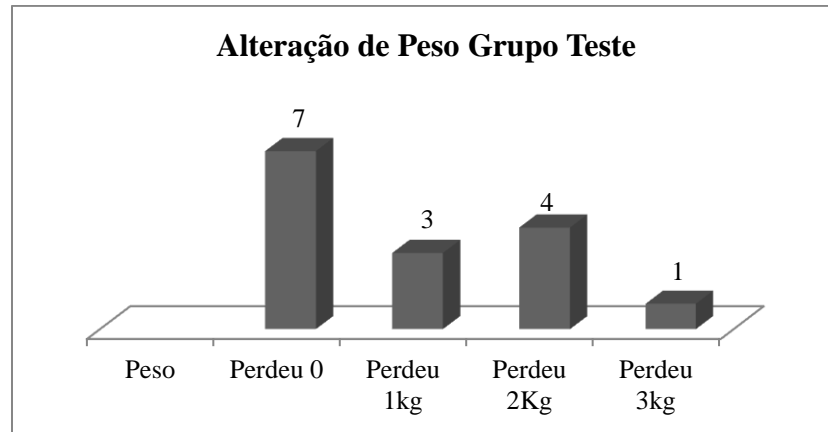


Figura 1: Alteração da variável peso no grupo teste.

O excesso de peso corporal pode proporcionar risco maior para o desenvolvimento de diversas doenças, principalmente as doenças crônicas não transmissíveis. De forma que, a perda de peso assegura proteção contra doenças decorrentes de suas complicações como doença cerebrovascular, doença arterial coronariana, insuficiência cardíaca, insuficiência renal crônica e doença vascular de extremidades (MAIA et al., 2010).

Conseqüentemente à redução de peso, a diminuição do Índice de Massa Corporal (IMC) foi observada nos mesmos indivíduos que reduziram o peso. Observou-se diferença significativa ( $p=0,014$ ) entre o IMC antes e após o consumo do chocolate desenvolvido através do teste t para amostras pareadas, a 5% de probabilidade. Dessa forma, 53,3% ( $n=8$ ) dos indivíduos apresentaram perda de IMC, dos quais 04 tiveram redução do IMC entre 0,5 e  $1,0\text{kg}/\text{m}^2$  (Figura 2).

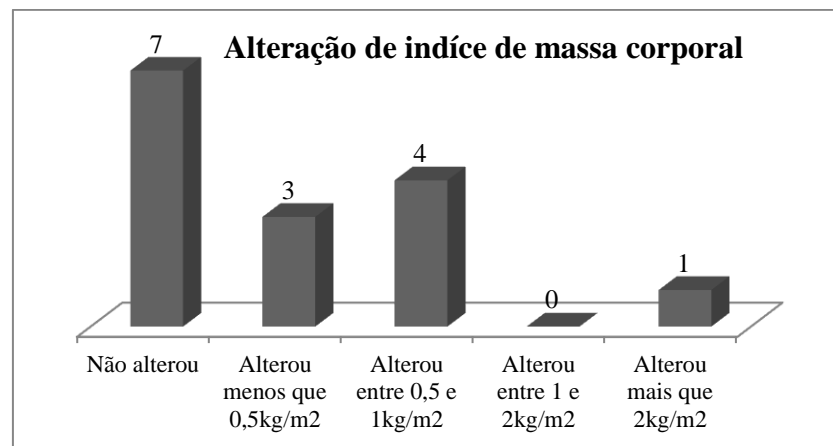


Figura 2: Alteração da variável IMC no grupo teste.

Os valores de IMC são bastante utilizados para caracterizar indivíduos com peso normal, sobrepeso e obesidade em uma faixa estipulada pela Organização Mundial de Saúde (GLANER, 2005), de forma que qualquer pequena redução, assim como a observada nesse

estudo com a intervenção do chocolate 70% cacau incorporado de ácido ursólico e oleanólico, pode reclassificar um indivíduo nessa escala, tirando-o da margem de obesidade.

A análise da circunferência da cintura dos indivíduos permitiu verificar que, utilizando o teste t para amostras pareadas, o resultado foi uma mudança significativa ( $p=0,002$ ) na circunferência da cintura dos indivíduos, sendo que 73,3% ( $n=11$ ) dos indivíduos perderam medidas. Desses, 27,7% ( $n=3$ ) diminuíram mais de 08 cm de circunferência da cintura (Figura 3).

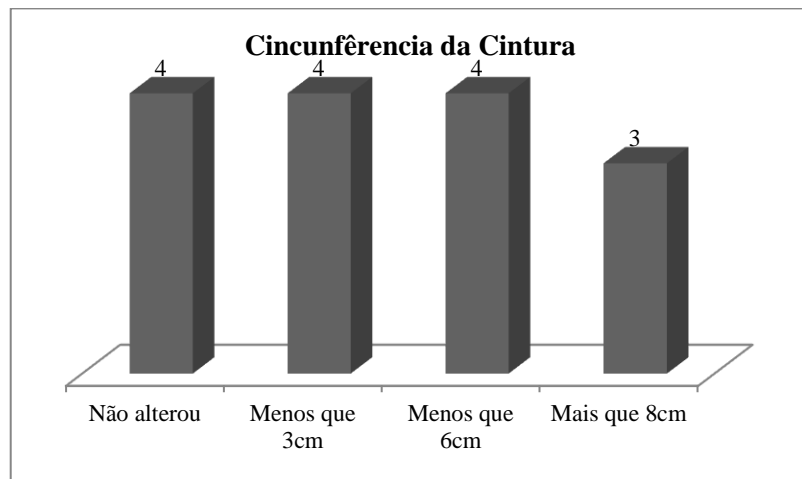


Figura 3: Alteração da variável circunferência da cintura no grupo teste.

A incidência crescente de doenças crônicas não transmissíveis associadas à má alimentação é crescente e preocupante, sobretudo o aumento do sobrepeso, da obesidade e de suas complicações associadas (DUNCAN et al., 2012). Dessa forma, a alimentação balanceada e que agregue alimentos que possam auxiliar na perda de peso, IMC e circunferência da cintura, é imprescindível para manutenção de uma massa corporal dentro dos parâmetros de normalidade. E, foi constatado nesse estudo que o chocolate desenvolvido auxiliou na diminuição dessas variáveis antropométricas.

A avaliação dos exames laboratoriais permitiu verificar que pelo teste de Kolmogorov-Smirnov apenas as variáveis Glicose e LDL tiveram distribuição anormal, assim para essas variáveis foi utilizado o teste de Wilcoxon para comparação dos dados antes e depois da intervenção e nas demais variáveis – colesterol total (CT), triglicerídeos (TGL) e HDL, foi utilizado o teste t para amostras pareadas.

O teste de Wilcoxon revelou que, com  $p>0,05$ , não houve diferença estatística entre os tratamentos antes e após o consumo do chocolate desenvolvido nas variáveis glicose ( $p=0,414$ ) e LDL ( $p=0,147$ ). Assim como o teste t para amostras pareadas, para as variáveis CT ( $p=0,580$ ), HDL ( $p=0,124$ ) e TGL ( $p=0,113$ ) não houve diferença significativa entre os

tratamentos, a 5% de probabilidade, ou seja, o consumo de chocolate não alterou essas variáveis.

Esse resultado que corrobora com os achados de Nogueira (2009), onde não foram observadas reduções significativas no colesterol total, no LDL-colesterol, no HDL-colesterol, no VLDL-colesterol, nos triglicérides, na glicose e na insulina com a ingestão de chocolate 70% pelo mesmo período de tempo de intervenção desse estudo (04 semanas). Também no trabalho de Wan et al. (2015), com o consumo de chocolate amargo por quatro semanas, descobriu-se que as proporções de colesterol total e de HDL e LDL não foram significativamente diferentes antes e após consumo.

Diferentemente, um estudo recente realizado por Bohannon et al. (2015) obteve como resultado melhora significativa nos níveis de colesterol, bem como as concentrações de triglicérides e colesterol LDL nos participantes do grupo que ingeriram chocolate amargo por 03 semanas, em comparação com outro grupo.

Vale ressaltar que, na tabela 4 os resultados dos exames laboratoriais após a intervenção parecem bastante promissores, apesar da análise estatística apontar que não há diferença significativa ( $p>0,05$ ) entre as variáveis antes e após ao consumo do chocolate desenvolvido. Esse achado pode estar relacionado à pequena amostragem, ou ainda pelo pequeno tempo de experimento, já que para alteração destes parâmetros clínicos são necessários maior tempo de experimento.

Alterações no metabolismo dos carboidratos e dos lipídios são frequentemente acompanhadas de DCNT, o que acentua o risco cardiovascular, de maneira que a elaboração de produtos inovadores que auxiliem na saúde da sociedade é de grande relevância, aumentando a possibilidade de escolhas alimentares saudáveis, o que inclui desenvolvimento desse chocolate 70% cacau com adição dos ácidos ursólico e oleanólico.

Dessa forma, é importante obter resultados conclusivos dos efeitos do chocolate amargo na saúde das pessoas, já que a curto prazo não foram estatisticamente significativas ( $p>0,05$ ) algumas modificações nos indivíduos estudados, o que sugere a necessidade de realização de um estudo maior, por um período maior, controlado e com grupo controle que consuma apenas o chocolate 70% de cacau sem os ácidos.

## **Conclusão**

Os resultados deste estudo mostram que, foi possível desenvolver e caracterizar o chocolate 70% com adição de ácido ursólico e ácido oleanólico, de forma que a formulação apresentou boa aceitação sensorial o que aponta uma possível inclusão no mercado de alimentos saudáveis.

A intervenção com indivíduos saudáveis mostrou que o chocolate desenvolvido pode ser utilizado como suporte de intervenções nutricionais que promovam saúde. Porém, algumas questões foram limitantes no estudo como o tempo de intervenção e não ter realizado a comparação com um grupo controle, ou seja, comparar um grupo que consumiu somente chocolate 70% cacau, pelo mesmo período, a fim de verificar se os efeitos seriam do chocolate 70% ou dos ácidos inseridos no chocolate desenvolvido. Algumas outras limitações foram percebidas, como, por exemplo, o tamanho da amostra e o tempo da intervenção utilizados.

## REFERÊNCIAS

ABIA – Associação Brasileira das Indústrias de Alimentação. Números do setor – faturamento. Disponível em: <http://www.abia.org.br/vsn/anexos/faturamento2015.pdf>. Acesso em 17 de janeiro de 2017.

ABICAB - Associação Brasileira da Indústria de Chocolates, cacau, amendoim, balas e derivados. Disponível em: <http://www.abicab.org.br>.

Afoakwa E.O., Paterson A., Fowler M. (2007) Factors influencing rheological and textural qualities in chocolate – a review. *Tr Food Sci Technol* 18, 290–298.

AOAC. (2000). Association of Official Agricultural Chemists - Method 990.12: Official methods of analysis of AOAC International. 17 ed. Gaithersburg: AOAC International. 22-23.

Bigliardi, B., & Galati, F. (2013). Innovation trends in the food industry: the case of functional foods. *Trends in Food Science & Technology*, 31(2), 118-129.

Borges, K. C., Medeiros, A.C.L. & Correia R.T.P. (2009). Iogurte de leite de búfala sabor cajá (*Spondias lútea* L.): caracterização físico-química e aceitação sensorial entre indivíduos de 11 a 16 anos. *Alim. Nutr. Araraquara*. 20, 295-300.

BRASIL. Lei de Inovação Tecnológica (Lei n.º 10.973/2004). Brasília, DF: Congresso Nacional. Atos do Poder Legislativo, DOU, n.º 232 de 03.12.2004.

Buzzard, M. (1998). 24-hours dietary recall and food record methods. In: Willett WC. *Nutritional epidemiology*. 2 ed. Oxford: Oxford University Press. 1, 50-73.

Felipe, M. S. S. (2007). Desenvolvimento tecnológico e inovação no Brasil: Desafios na área de biotecnologia. *Novos Estudos*. 78.

Frighetto, N. et AL. (2005). Aplicação de cromatografia a centrífuga de contra-corrente na purificação de ácido ursólico das folhas de *Eugenia brasiliensis* Lam. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 15, 338-43.

Fritsch, F. C.; Silva, M. S.; Degáspari, C. H. (2013). Desenvolvimento e análise sensorial de formulações de chocolate em barra adicionadas de guaraná em pó. *Cad. da Esc. de Saúde, Curitiba*, 1;13: 52-78.

Goldberg, I. (2012). Alimentos funcionais: alimentos de designer, pharmafoods, nutracêuticos.. Springer Science & Business Media. 1-2.

Ikeda, A. A., Moraes, A., Mesquista, G. (2010). Considerações Sobre Tendências E Oportunidades Dos Alimentos Funcionais. In: Universidade de São Paulo. Revista P&D em Engenharia de Produção. 08 (02), 40-56.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. (2004). Métodos físico-químicos para análise de alimentos, 4.ed.

Maia, V.B.D.S. Veras, A.B. Souza Filho M.D. (2010) Pressão arterial, excesso de peso e nível de atividade física em estudantes de universidade pública. Arq Bras Cardiol 95, 192-199.

Milagres, M.P et al. (2010). Análise físico-química e sensorial de doce de leite produzido sem adição de sacarose. Rev. Ceres, Viçosa, 57 (4), 439-445.

Pereira, J. M., & Kruglianskas, I. (2005). Gestão de inovação: a lei de inovação tecnológica como ferramenta de apoio às políticas industrial e tecnológica do Brasil. 4, 1-21.

Silva, J.G., Teixeira, M.L.O., Ferreira, M.A. (2012). Alimentação e saúde: sentidos atribuídos por adolescentes. Revista Escola Anna Nery (impr.) 16, 88- 95.

Titton, N. F., Schumacher, A. B., Dani C. (2016). "Estudo Comparativo da Quantidade de Polifenóis Totais e da Atividade Antioxidante em diferentes chocolates: ao leite, meio amargo, amargo e de soja." Ciência em Movimento-Biociências e Saúde 16, 77-84.

Candia, A. S.; Dias, I. P. (2014). Formulação, caracterização e análise sensorial de chocolate com adição de *okara*. Monografia (Curso Superior de Tecnologia em Alimentos). Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Londrina.

ASSOCIATION OF CHOCOLATE, BISCUIT, AND CONFECTIONERY (CAOBISCO) Disponível < <http://www.caobisco.com> > Acesso em 27 Ago.2016.

Bohannon, D. K.; Peter, H.; Johannes A.D. (2015). Chocolate with high cocoacontent as a weight-lossaccelerator. Global Journal of Medical Research. 15.2-7.

Centro Nacional de Informações sobre Biotecnologia. PubChem Composto Banco de Dados; CID=64945, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/summary/summary.cgi?cid=64945>(acessado em 25 de novembro de 2016).

Enes, C.C, Silva, M. V. (2009). Disponibilidade de energia e nutrientes nos domicílios: o contraste entre as regiões Norte e Sul do Brasil. Ciênc. saúde coletiva. 14(4), 1267-1276.

Degáspari, C. H., Lima, C. L. N., & de Souza Rolim, M. S. R. (2015). Desenvolvimento de alimento funcional-chocolate com fibra solúvel. Saúde, 2(14), 87-100.

Duncan, B. B., et al. (2012). Doenças não transmissíveis no Brasil: prioridade para enfrentamento e investigação. Rev. Saúde Pública. 46, 126-34.

Liu J; (2005). Oleanolic acid and ursolic acid: Research perspectives. Journal Ethnopharmacol.100:92-4.

- Liu, J. (1995). Pharmacology of oleanolic acid and ursolic acid. *Journal Ethnopharmacol.* 49, 57-68.
- Leite, P. B. et al. (2013). Estudo reológico de chocolates elaborados com diferentes cultivares de cacau (*Theobromacacao* L. 16 (3), 192-197.
- Lima, A. O.; Soares, J. B.; Greco, J.B.; Galizzi, J.; Cançado, J. R.. Métodos de Laboratório Aplicados à Clínica – Técnica e Interpretação, 8ªEd., Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2001.
- Rufián-Henares, J. A., Delgado-Andrade, C., Jiménez-Pérez, S., & Morales, F. J. (2007). Assessing nutritional quality of milk-based sport supplements as determined by furosine. *Food Chemistry*, 101(2), 573-578.
- Moraes, E.C., et al.: (2014). Development of chocolate dairy dessert with addition of prebiotics and replacement of sucrose with different high-intensity sweeteners. *Journal of Dairy Science* 97(5):1-10.
- Minim, Valeria. Paula. Rodrigues. Análise Sensorial – Estudo com Consumidores. 3 ed. Viçosa, M.G. Editora da Universidade Federal de Viçosa, 308p, 2013.
- Nacano, E. T. Avaliação do comportamento reológico e colorimétrico de chocolates. (2013). 51 f. Trabalho de Conclusão de Curso. (Engenharia de Alimentos), Universidade Tecnológica Federal do Paraná.
- Nogueira, L.P. (2009). Avaliação do efeito da ingestão do chocolate-cacau 70% sobre a pressão arterial, biomarcadores circulantes da função endotelial, metabolismo glicídico e lipídico em hipertensos primários estágio 1. Dissertação (Mestrado). Rio de Janeiro (RJ), Brasil.
- Goncalves, A. A., & Rohr, M. (2009). Desenvolvimento de balas mastigáveis adicionadas de inulina. *Alimentos e Nutrição*, 20(3), 471-478.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 62, de 26 de agosto de 2003.
- Brasil. Resolução nº 12 de 24 de julho de 1978. Brasília: CNNPA - Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos, 1978. Disponível em <[http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/e57b7380474588a39266d63fbc4c6735/RESOLUCAO\\_12\\_1978.pdf?MOD=AJPERES](http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/e57b7380474588a39266d63fbc4c6735/RESOLUCAO_12_1978.pdf?MOD=AJPERES)>. Acesso em: 10 agosto 2013.
- REIS, E. C. Análise físico-química e microbiológica de bombons artesanais. APUCARANA, (2011). 36f. Trabalho (de Conclusão de Curso) - Curso Superior de Tecnologia em Processos Químicos, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Apucarana.
- Rodrigues, U. T. F. M. (2007). Revisão sistemática sobre a ação do chocolate, chá, vinho tinto e café na saúde cardiovascular. *Revista Brasileira de Obesidade, Nutrição e Emagrecimento* 1, 1981-9919.
- Sampaio, S. C. S. (2011). Chocolate meio amargo produzido de amêndoas de cacau fermentadas com polpas de cajá, cupuaçu ou graviola: características físico-químicas, reológicas e sensoriais. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal de Viçosa.

- Sandri, I. G.; Bastiani, Piemolini-Barreto, L. T. (2012). Chocolate branco adicionado de cogumelo. *Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais*. 14, 203-209.
- Schumacher, A. B. Desenvolvimento de chocolate meio amargo com maior potencial de proteína. (2008). Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Porto Alegre (RS), Brasil, 2008.
- Sidonio, L., et al. (2013). "Inovação na indústria de alimentos: importância e dinâmica no complexo agroindustrial brasileiro." *BNDES Setorial* 37, 333-370.
- Silva, J.G., Teixeira, M.L.O, Ferreira, M.A. (2012). Alimentação e saúde: sentidos atribuídos por adolescentes. *Revista Escola Anna Nery* 2012; 16(10):88- 95.
- SILVA, D. M. (2006). Estudo químico e de atividades biológicas da *Mansoa hirsuta* D.C. (Bignoneaceae). Dissertação de Mestrado, Instituto de Química e Biotecnologia, Universidade Federal de Alagoas.
- Teixeira, A.M.N.D.C. (2013). Efeito da ingestão de chocolate e erva mate na elasticidade arterial de indivíduos com HIV/aids em terapia antirretroviral (Doctoral dissertation, Universidade de São Paulo. Faculdade de Saúde Pública).
- Vissotto, F. Z., Luccas, V., Bragagnolo, N., Turatti, J. M., Grimaldi, R., & Figueiredo, M. S. (1999). Caracterização físico-química e reológica de chocolates comerciais tipo cobertura elaborados com gorduras alternativas. *Brazilian Journal of Food Technology*, 2(1-2), 139-148.
- Oliveira, M. C., dos Santos, E. F., Candido, C. J., Rodrigues, B. M., Hokama, L. M., & Novello, D. (2015). ELABORAÇÃO DE CHOCOLATES COM ADIÇÃO DE INULINA: ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA E SENSORIAL. *Revista Uniabeu*, 8(19), 337-353.
- Wan, Y., Vinson, J.A., Etherton, T.D., Proch, J., Lazarus, S.A., Kris-Etherton, P.M. (2001) Effects of cocoa powder and dark chocolate on LDL oxidative susceptibility and prostaglandin concentrations in humans. *Am J Clin Nutr* 74:596–602.
- WERLE, C.O.C. et al. (2013). Um healthy food is not tastier for everybody: The ‘‘healthy = tasty’’ French intuition. *Food Quality and Preference*. 28,116–121.
- ZOGHBI, M. G. B; OLIVEIRA, J.; GUILHON, G. M. S. P. (2009). The genus *Mansoa* (Bignoniaceae): a source of organosulfur compounds. *Rev. Bras. Farmacogn.Braz. J. Pharmacogn.* 19, 1-14.



## **5.2 MANUSCRITO 2: AVALIAÇÃO DE CONSUMO DE CHOCOLATE DE ALTA CONCENTRAÇÃO DE CACAU INCORPORADO COM ÁCIDOS TRITERPÊNICOS NA SAÚDE DAS FAMÍLIAS**

O manuscrito será submetido ao periódico *Jornal of Medicinal Food*, elaborado de acordo com as instruções para autores, disponíveis em: <http://www.liebertpub.com/manuscript/jmf>.

## **Avaliação de consumo de chocolate de alta concentração de cacau incorporado com ácidos triterpênicos na saúde das famílias**

### **RESUMO**

Os benefícios do consumo do chocolate com alta concentração de cacau são muito conhecidos, aliar esse produto a novas substâncias, como os ácidos ursólico e oleanólico, poderia potencializar seus efeitos e traria grandes vantagens à saúde das famílias. O objetivo desse trabalho foi avaliar os efeitos do consumo do chocolate acrescido com os ácidos ursólico e oleanólico na saúde de famílias. Para tanto, 30 voluntários de 10 famílias foram separados em dois grupos (n=15) de forma aleatória: um grupo teste (consumindo 25g/dia de chocolate 70% de cacau incorporado de 150mg de ácido ursólico e oleanólico) e um grupo controle (consumindo 25g/dia de chocolate 70% de cacau), durante 04 semanas. Foram realizadas as avaliações antropométricas (peso, altura, índice de massa corporal e circunferência da cintura) e coleta de sangue para análises laboratoriais (colesterol total, triglicerídeos, lipoproteínas de baixa e alta densidades, glicemia em jejum) em duas ocasiões, antes e após as semanas de intervenção com os chocolates. Os resultados revelaram que o chocolate adicionado dos ácidos diminuiu as medidas antropométricas das famílias, enquanto o chocolate amargo sem os ácidos não trouxe benefícios nessas variáveis. Assim como, nos resultados dos exames laboratoriais não foi encontrada mudança significativa ( $p > 0,05$ ) nessas variáveis.

Palavras-chave: Intervenção. Alimentação Saudável. Saúde.

### **ABSTRACT**

The benefits of using chocolate with a high concentration of cocoa are well known, allying this product to new substances, such as ursolic and oleanolic acids, could enhance its effects and bring great benefits to the health of families. The objective of this study was to evaluate the effects of chocolate consumption incorporated with ursolic and oleanolic acids on family health. To that end, 30 volunteers from 10 families were randomly divided into two groups (n =15): one test group (consuming 25g/day of chocolate 70% of cocoa incorporated of 150mg of ursolic and oleanolic acid) and one control group (consuming 25g/day of chocolate 70% of cocoa) for 4 weeks. Anthropometric assessments (weight, height, body mass index and waist circumference) and blood collection were performed for laboratory analysis (total cholesterol, triglycerides, low and high density lipoproteins, fasting glycemia) on two occasions, before and after the weeks of intervention with the chocolates. The results revealed that the added chocolate of the acids decreased the anthropometric measures of the families, whereas the bitter chocolate without the acids did not bring benefits in these variables. As in the results of laboratory tests, no significant change ( $p > 0.05$ ) was found in these variables.

### **Introdução**

O envelhecimento populacional vem promovendo grandes mudanças na incidência e prevalência das doenças, assim como elevado os índices de óbitos prematuros causados pelas Doenças Crônicas Não Transmissíveis (DCNT), entre as quais fazem parte o acidente vascular cerebral, infarto, hipertensão arterial, câncer, diabetes e doenças respiratórias crônicas.<sup>1</sup> Por consequência, no ano de 2011, o Ministério da Saúde divulgou o Plano de Ações Estratégicas para o Enfrentamento das Doenças Crônicas Não Transmissíveis no Brasil

apoiando o fortalecimento da vigilância integrada dessas doenças e seus fatores de risco modificáveis como o tabagismo, a alimentação não saudável, inatividade física e o consumo nocivo de álcool.<sup>2</sup>

Posto isto, é importante a prevenção desses fatores de risco, o que inclui uma mudança nos hábitos alimentares. As implicações de uma alimentação inadequada têm significativa representação no aparecimento das DCNT, já que escolhas em torno de uma alimentação pobre nutricionalmente têm efeito cumulativo no organismo de um indivíduo influenciando de maneira negativa sobre a saúde e qualidade de vida.<sup>3</sup>

As escolhas alimentares constituem um processo complexo e estão ligadas a diversos fatores como os socioculturais e os psicológicos e ultrapassam as decisões conscientes, o que inclui escolhas automáticas e habituais praticadas ao longo da vida. Essas escolhas habituais estão intimamente ligadas ao meio ambiente em que cada indivíduo está inserido e a família aparece como influenciadora nesse processo. De forma que, quando mais saudável o membro principal da família for, maior a probabilidade dos outros membros serem também.<sup>4</sup>

Apesar dessa influencia familiar, outros fatores também interferem nessas escolhas para que sejam ou não preferências saudáveis. As propriedades sensoriais dos alimentos, o que engloba o sabor, textura, aparência e odor, estão entre os mais importantes elementos preditores da escolha humana alimentar.<sup>5</sup> Sob o mesmo ponto de vista, alimentos saudáveis serão consumidos com mais facilidade se apresentarem características sensoriais agradáveis.

Um exemplo de alimento que alia boas características sensoriais e é capaz de promover saúde é o chocolate. Os benefícios da utilização do chocolate para a saúde são largamente conhecidos, são boas fontes de flavonóides e seu consumo está associado com a diminuição do risco de morte por doenças cardiovasculares, diminuição da pressão arterial e inibição da agregação plaquetária.<sup>6,7</sup> Além dos flavonóides, possui alguns fitoquímicos com efeitos estimulantes de bem estar no cérebro, as metilxantinas,<sup>8</sup> e há evidências que o consumo chocolate amargo produz efeitos anti-inflamatórios.<sup>9</sup>

Cabe destacar que, o chocolate com maiores propriedades de promoção de saúde é o chocolate amargo, com alto teor de sólidos de cacau, menos açúcar, menor teor de gorduras (manteiga de cacau e leite) e com elevado teor de polifenóis. Evidências epidemiológicas associam o consumo elevado de dessas substâncias com a redução de risco de doenças relacionadas com o stress oxidativo, hipertensão e doenças cardiovasculares,<sup>10-12</sup> no entanto o mercado de chocolates com esse perfil ainda é pequeno, as prateleiras ainda estão cheias de produtos com alto teor de gorduras, açúcares e baixa concentração de cacau e polifenóis.<sup>13</sup>

Do mesmo modo, a utilização de alimentos naturais que contenham ácido oleanólico ou ácido ursólico, triterpenos amplamente distribuídos no reino vegetal, na medicina popular é diversa e muito antiga, eles são conhecidos por possuírem atividade anticolesterolêmica, anti-hepatotóxica, antioxidante, antiinflamatória, antifúngica, antibiótica, inibe o crescimento de tumores e de patógenos orais.<sup>14,15</sup>

Um chocolate com adição de novas substâncias, como os ácidos ursólico e oleanólico, poderia potencializar seus efeitos e traria grandes vantagens à população, visto que é um alimento popular, que apresenta inúmeros benefícios à saúde e consumido mundialmente.<sup>16</sup> Algumas pesquisas foram realizadas com o intuito de verificar os efeitos do consumo de chocolate na saúde dos indivíduos,<sup>11,17,7,18</sup> não obstante, nenhum deles avaliou os efeitos do consumo do chocolate amargo incorporado de ácido ursólico e ácido oleanólico.

Posto isso, o objetivo desse trabalho foi avaliar os efeitos do consumo do chocolate acrescido com os ácidos ursólico e oleanólico na saúde de famílias.

### **Materiais e Métodos**

A pesquisa apresenta caráter experimental e quantitativo. Os experimentos foram realizados nos laboratórios do Instituto Federal Baiano Campus de Uruçuca e a intervenção foi realizada na cidade de Itajuípe-Bahia.

Esta pesquisa foi realizada de acordo com as diretrizes e normas da Resolução 466 de 12 de Dezembro de 2012 (BRASIL, 2012), enviada para o Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia e foi aprovada com o nº 46718615.0.0000.0055.

Para analisar o efeito do consumo do chocolate 70% de cacau incorporado de ácido ursólico e ácido oleanólico na saúde das famílias foram entrevistadas todas as famílias (31) cadastradas em uma unidade básica de saúde de Itajuípe, a UBS do Bairro de Santo Antônio, no período de julho a agosto de 2016.

Destas, foram incluídas na intervenção apenas as famílias encontradas no seu endereço nos dias da pesquisa, que aceitaram participar de todo o processo, assinaram corretamente o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice B) e possuíram disponibilidade de tempo, totalizando 30 voluntários de 10 famílias, sendo que todas as famílias receberam a visita do pesquisador em seus domicílios para explicação de todas as fases da pesquisa.

Foram selecionados 03 integrantes de cada família para participar da intervenção, compostas por pai, mãe e filho (a). Os participantes eram saudáveis e tinham condições médicas para participar de uma intervenção nutricional.

Os voluntários foram divididos em dois grupos, de forma aleatória: um grupo teste de 05 (cinco) famílias que consumiram o chocolate 70% de cacau adicionado dos ácidos e um

grupo controle com as outras 05 (cinco) famílias que consumiram o chocolate 70% de cacau sem os ácidos.

Para esse estudo foram utilizados chocolates formulados com 70% de sólidos de cacau: o teste incorporado de ácidos ursólico e ácido oleanólico (150mg dos ácidos/25g de chocolate), e o chocolate controle sem os ácidos, desenvolvidos no laboratório de alimentos do Instituto Federal Baiano (Campus Uruçuca). Os ácidos acrescidos ao chocolate foram extraídos de uma planta brasileira, a *Mansoa hirsuta* D.C., em um processo realizado sob depósito de patente nº BR 1020150081804, cedidos pelo autor da patente.

Os chocolates passaram por análises físico-químicas: análises de teor de água (umidade); resíduo por incineração (cinzas); pH; acidez titulável total, lipídios por Soxhlet com modificações (Adolfo Lutz, 2004); quantificação de proteína (teor de nitrogênio) por Micro-Kjeldahl modificada (AOAC, 2000), e a determinação dos carboidratos totais realizadas através da diferença dos valores de somatória de umidade, cinzas, proteínas e lipídios. Todas as análises foram feitas em triplicata para cada repetição.

Foram realizadas análises microbiológicas a fim de proporcionar segurança à intervenção, seguindo o anexo III da Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003 (BRASIL, 2003) e em placas Petrifilm3M™, segundo recomendações do fabricante (3M, 1997).

Após a divisão dos grupos, os participantes foram instruídos a seguir com a alimentação habitual, e manterem suas atividades diárias, o que inclui não inserirem novos medicamentos ou novas atividades físicas a sua rotina.

Para verificar se não houve alteração na rotina alimentar dos pacientes, foi usado como ferramenta de controle o recordatório de 24 horas (Buzzard, 1998).

Também foram informados para escolherem um horário fixo para consumir 25g de chocolate diariamente durante um período 04 (quatro) semanas, chocolate adicionado dos ácidos para o grupo teste e o chocolate sem os ácidos para o grupo controle. Os 25g de chocolate foram servidos todos os dias à temperatura ambiente, no local do seu endereço, como barras pequenas e embaladas separadamente.

Depois de todas as instruções, foi realizada a avaliação antropométrica, mediante aferição das medidas de peso (kg) e altura (m), e com base nessas medidas, foi calculado o Índice de Massa Corporal ( $IMC=kg/m^2$ ), além da medida de Circunferência da Cintura – CC (cm). Para isso, as medidas de peso foram realizadas em balança, com capacidade máxima de 150 kg e mínima de 2 kg, e a altura e circunferência da cintura em fita métrica até 200 cm.

Além da avaliação nutricional e antropométrica, também foram realizados testes clínicos de avaliação do perfil lipídico: colesterol total e suas frações (lipoproteínas de alta densidade - HDL, lipoproteínas de baixa densidade - LDL) e triglicerídeos e glicemia de jejum. Para tanto, foi coletado o sangue venoso dos participantes após jejum de 12 horas, em laboratório de análises clínicas terceirizado (LL Laboratório – Itajuípe, Bahia). Para a análise dos exames laboratoriais foram utilizados os métodos segundo Lima (2001).

As análises clínicas e antropométricas foram realizadas em duas ocasiões nos participantes: antes da primeira semana do experimento e imediatamente após a quarta semana da suplementação com o chocolate (grupos controle e teste), a fim de avaliar se houve alterações nos indicadores citados acima.

Para comparar se houve diferença nas variáveis (peso, IMC, circunferência da cintura, glicemia, HDL, LDL, triglicerídeos, colesterol total) entre os grupos controle e teste; e também para comparar estas variáveis antes e após o consumo de chocolate no grupo teste, inicialmente foi realizado teste de Kolmogorov-Smirnov para atestar a normalidade dos dados. Após essa definição, foi utilizado teste de médias para comparação, o teste de Wilcoxon nas variáveis que não possuíam distribuição normal e eram pareadas, e o Teste t para variáveis que seguiam a distribuição normal e eram pareadas. Nas amostras não pareadas e de distribuição normal, foi usado o teste de Mann-Whitney.

Para comparação das variáveis (peso, IMC, circunferência da cintura, glicemia, HDL, LDL, triglicerídeos, colesterol total) entre os grupos “pai”, “mãe” e “filho”, foi realizado teste de Kolmogorov-Smirnov para atestar a normalidade dos dados, após essa definição foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis para variáveis que não seguem distribuição normal, e ANOVA One-Way para variáveis com distribuição normal e não pareadas.

## **Resultados e Discussão**

A população desse estudo foi composta por 30 voluntários, destes, 10 eram pais com média de idade 58,25 anos, 10 mães com média de idade 59,25 anos e os (as) filhos (as) (n=10) com idade média de 27,4 anos. A intervenção com os chocolates ocorreu no período de julho a agosto de 2016, totalizando 04 (quatro) semanas.

Os ácidos ursólico e oleanólico foram inseridos em forma de mistura, pois eles são isômeros de difícil separação e por serem substâncias muito parecidas possuem inúmeras propriedades farmacológicas em comum traz benefícios ao chocolate. Para a utilização deles, a dose diária recomendada varia de 150-300mg, optamos por avaliar o efeito da menor dose 150mg em uma barra de 25g de chocolate, mesmo os ácidos sendo não-tóxicos.<sup>19,14</sup>

Após as 04 (quatro) semanas de intervenção, onde um grupo teste consumia doses diárias dos chocolates 70% de cacau incorporado de ácidos ursólico e oleanólico e o grupo controle consumia doses diárias dos chocolates 70% de cacau, ambos sem mudar sua rotina de atividade física, alimentação e medicação, foram observadas alterações nas variáveis peso, IMC, e circunferência da cintura, em ambos os grupos, como pode ser observado na Tabela 1.

Tabela 1: Medidas de Peso, Índice de Massa Corporal (IMC) e Circunferência da Cintura (CC) dos voluntários do grupo teste antes (I) e depois da intervenção (F).

Variáveis	Grupo teste (média ± desvio)		Grupo controle (média ± desvio)	
	Antes	Depois	Antes	Depois
<b>Peso (kg)</b>	70,07±15,99*	69,87±15,04*	73,73±17,70*	75,40±18,23*
<b>IMC (kg/m<sup>2</sup>)</b>	25,42 ± 4,62*	24,99±4,28*	26,12±4,87*	26,68±4,89*
<b>Circunferência da cintura (cm)</b>	92,13±14,43*	88,73±13,26*	93,80±13,45*	97,13±13,30*

Fonte: Pesquisa Direta. \* Diferença significativa,  $p < 0,05$ .

No grupo controle foi notado que este alimento inserido diariamente na dieta causou alterações significativas nas variáveis peso ( $p < 0,05$ ), IMC ( $p < 0,05$ ) e circunferência da cintura ( $p < 0,05$ ), pelo teste t para amostras pareadas, a 5% de probabilidade. Modificações estas que ocorreram de forma negativa para a saúde das famílias, ou seja, o consumo de chocolate 70% de cacau, na quantidade utilizada e no período de intervenção, aumentou o peso, IMC, e circunferência da cintura das famílias.

O resultado encontrado neste trabalho diverge de diversos autores que afirmam em suas pesquisas alterações benéficas nas medidas antropométricas de pessoas que consumiram chocolates 70% de cacau pelo mesmo período de tempo. Entre estes podemos citar Wan Y et al. <sup>6</sup>, em um trabalho sobre o efeito do chocolate escuro sobre a susceptibilidade oxidativa das Lipoproteínas de Baixa Densidade e as concentrações de prostaglandinas em humanos saudáveis, não obteve nenhuma modificação nas medidas antropométricas avaliadas.

Ao analisar as mesmas variáveis no grupo teste (peso, IMC e CC), antes e após o consumo de chocolate 70% de cacau incorporado de ácidos ursólico e oleanólico, através do teste t para amostras pareadas, a 5% de probabilidade, foram notadas mudanças significativas ( $p < 0,05$ ). No entanto, estas aconteceram de forma benéfica para o grupo, o consumo do chocolate utilizado reduziu as medidas antropométricas.

Assim, foi notada uma redução de peso em 08 (oito) indivíduos do grupo teste, o que corresponde a 53,3% dos participantes desse grupo. E, desse mesmo grupo, metade dos indivíduos ( $n=4$ ), perdeu aproximadamente 2 kg, enquanto 02 (dois) indivíduos perderam

mais de 2 kg. Diferentemente, no grupo controle 86,6% (n=13) dos indivíduos ganhou peso durante a intervenção, dos quais 23,7% (n=3) adquiriu 3 Kg.

Ao comparar a variável porcentagem de variação de peso, entre o grupo controle e teste, usado teste de Mann Whitney para amostras não pareadas e distribuição anormal, a 5% de probabilidade, foi observado que houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os dois grupos, no qual o grupo controle ganhou em média  $1,66 \pm 0,97$  kg, enquanto o grupo teste perdeu em média  $1,20 \pm 1,65$  kg.

A perda de peso observada no grupo teste foi um resultado muito relevante, dado que as medidas antropométricas mais utilizadas para avaliação de saúde têm sido o peso isolado ou peso ajustado para a altura, uma vez que a distribuição de gordura é bastante preditiva de saúde,<sup>20</sup> logo, indivíduos com menor peso possuem melhores prognósticos. A associação entre o ganho de peso, aumento abdominal, inatividade física e o aparecimento de doenças crônicas não transmissíveis é evidente, e as práticas alimentares são consideradas elementos passíveis de modificação relacionadas à prevenção de comorbidades ligadas ao sobrepeso e obesidade.<sup>21</sup>

Como era esperado, o Índice de Massa Corporal também diminuiu nos mesmos indivíduos que perderam peso no grupo teste, uma vez que essas medidas dependem diretamente da outra. Houve redução do IMC em 08 indivíduos do grupo teste, e desses, 04 tiveram reduções entre 0,5 e  $1,0 \text{ kg/m}^2$ . Já os indivíduos do grupo controle ganharam peso (n=13) e foi notado um aumento entre 0,5 e  $1,0 \text{ kg/m}^2$  em 61,54% (n=8) dos indivíduos.

Comparando a variável porcentagem de variação de IMC entre os grupos controle e teste, foi percebida diferença significativa ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Mann Whitney, sendo que o grupo controle ganhou  $0,56 \pm 0,33 \text{ kg/m}^2$ , enquanto o grupo teste perdeu em média  $0,43 \pm 0,59 \text{ kg/m}^2$  de Índice de Massa Corporal.

Essa redução no IMC vista nesse estudo é tida como fundamental para manutenção da saúde, visto que este é um bom indicador de obesidade e sobrepeso, evidências sugerem que valores elevados ( $> 30 \text{ kg/m}^2$ ) dessa variável estão associados ao risco de Doenças Crônicas Não Transmissíveis (DCNT).<sup>22</sup> Esse resultado pode estar relacionado à incorporação dos ácidos ursólico e oleanólico ao chocolate, visto que a utilização destes está relacionada com a diminuição da obesidade e aumento do músculo esquelético.<sup>23</sup>

Do mesmo modo, foi observada redução nas medidas da circunferência da cintura dos indivíduos do grupo teste, 73,3% (n=11) dos indivíduos perderam medidas, dos quais 27,7% (n=3) diminuíram mais de 08 cm de circunferência da cintura. No grupo controle o resultado



foi diferente, 46,6% (n=7) dos indivíduos tiveram uma adição de 01 a 03 cm de circunferência de cintura, enquanto apenas 01(um) indivíduo não alterou suas medidas.

Ao analisar a porcentagem de variação entre os grupos controle e teste da variável circunferência da cintura, foi observada diferença significativa ( $p < 0,05$ ) pelo teste T para amostras independentes e que seguem distribuição normal, antes e após o consumo de chocolate entre grupo teste e o controle. Foi percebido que, o grupo controle ganhou  $3,33 \pm 1,67$  cm de circunferência de cintura, ao mesmo tempo em que o grupo teste perdeu em média  $3,40 \pm 3,42$  cm de circunferência cintura.

Levando em consideração que, as medidas da circunferência de cintura refletem o conteúdo de gordura visceral e também se associa muito à gordura corporal total e esse fato se correlacione com o risco de DCNT,<sup>20</sup> essa redução foi de grande importância para a saúde dos indivíduos do grupo teste.

Além dos exames antropométricos foram realizados testes laboratoriais de colesterol total, frações LDL e HDL, e na glicemia em jejum, e triglicerídeos. Os resultados demonstraram que não houve alterações significativas nas variáveis glicemia em jejum ( $p=0,414$ ) e LDL ( $p=0,147$ ) pelo teste de Wilcoxon, a 5% de probabilidade, assim como não foram observadas alterações significativas para as variáveis colesterol total ( $p= 0,580$ ), HDL ( $p=0,124$ ) e triglicerídeos ( $p=0,113$ ) pelo teste t para amostras pareadas a 5% de probabilidade, com o consumo de chocolate 70% de cacau incorporado de ácidos ursólico e oleanólico.

Também não foram observadas modificações significativas ( $p > 0,05$ ) nas variáveis colesterol total, frações LDL e HDL pelo testes t para amostras pareadas, a 5% de probabilidade. Bem como, as variáveis glicemia em jejum e triglicerídeos, também não foram alteradas pelo consumo de chocolate 70% de cacau pelo teste de Wilcoxon, a 5% de probabilidade.

Dessa forma, foi observado que tanto o consumo de chocolate 70% de cacau, como o consumo de chocolate 70% de cacau incorporado dos ácidos triterpênicos não alterou os resultados laboratoriais pesquisados nas famílias dos grupos controle e teste. Esses resultados estão de acordo com o achado de Nogueira,<sup>18</sup> no qual a utilização do chocolate 70% de cacau, durante 04 semanas, assim como esse estudo, não obteve alterações significativas nessas mesmas variáveis.

Para avaliar se dentro de família, poderíamos ter resultados diferentes quanto ao consumo dos chocolates, ou seja, se o pai, mãe ou filho apresentariam variações de resultados em relação as variáveis (porcentagem de alteração de peso, porcentagem de alteração de IMC,

porcentagem de alteração de circunferência da cintura), após consumo de ambos o chocolate 70% de cacau (com ou sem os ácidos), foram realizados testes estatísticos de comparação de médias dessas variáveis.

Para o grupo que consumiu o chocolate 70% de cacau, não foi observado diferença estatísticas na porcentagem de alteração de peso ( $p= 0,833$ ), na porcentagem de alteração de IMC ( $p=0,647$ ) e na porcentagem de alteração da circunferência da cintura ( $p=0,677$ ) entre pai, mãe e filho, pela análise de variância ANOVA One-Way, a 5% de probabilidade. Isso quer dizer que o aumento de peso, de IMC e de circunferência da cintura percebido nesse grupo, ocorreu de maneira semelhante nos membros da família, assim o consumo chocolate 70% de cacau não trouxe benefícios para nenhum membro da família.

Igualmente, o grupo que consumiu o chocolate 70% de cacau incorporado de ácidos triterpênicos, não obteve diferença estatísticas nas variáveis porcentagem de alteração de peso ( $p=0,469$ ), entre pai, mãe e filho, pelo teste de Kruskal-Wallis, a 5% de probabilidade. Assim como, não houve diferença significativa nas variáveis porcentagem de alteração de IMC ( $p=0,511$ ), porcentagem de alteração de circunferência da cintura ( $p=0,213$ ) entre os membros das famílias pelo teste de análise de variância ANOVA One-Way a 5% de probabilidade. Sendo assim, as reduções nas variáveis antropométricas ocorreram de forma semelhante no pai, mãe e filho, trazendo o chocolate 70% de cacau incorporado de ácidos triterpênicos benefícios para a saúde da família.

De modo geral, a utilização de chocolate acrescido dos ácidos ursólico e oleanólico traz os mesmos resultados para pai, mãe e filho podendo ser consumido por todos os membros das famílias. Esse resultado é extremamente importante, uma vez que a alimentação pode exercer influência nos processos aparecimento de doenças crônicas no contexto familiar, a utilização de um alimento saudável e saboroso que poderá beneficiar todos os membros da família, auxilia na adoção de práticas alimentares que possam promover saúde.

Dessa forma, o chocolate acrescido de ácidos ursólico e oleanólico pode ser incluído na família em uma dieta saudável a fim de contribuir para redução de fatores de risco para algumas doenças crônicas não transmissíveis.

### **Conclusão**

Os resultados deste estudo revelam que o consumo regular de uma barra de 25g de chocolate 70% contendo 150mg de ácido ursólico e ácido oleanólico pode ser útil para reduzir significativamente as variáveis antropométricas. E que apesar de ser visto como alimento saudável, o chocolate amargo 70% fez com que os indivíduos e as famílias que participaram da intervenção aumentassem suas medidas antropométricas.

Devido a pequena duração de tempo do presente trabalho, torna-se necessários estudos adicionais para avaliar a dose ideal de consumo de chocolate e os efeitos a longo prazo no colesterol total, frações (triglicerídeos, LDL, HDL) e na glicose para avaliação do real benefício do consumo de chocolate amargo na saúde das pessoas.

## REFERÊNCIAS

1. Moreira RM, Santos CES, Couto ES, Teixeira JRB, Souza RMMM: Qualidade de vida, Saúde e Política Pública de Idosos no Brasil: uma reflexão teórica. *Revista Kairós Gerontologia* 2013; 16(1): 27-38.
2. Duncan BB, et al.: Doenças não transmissíveis no Brasil: prioridade para enfrentamento e investigação. *Rev. Saúde Pública.* 2012; 46 (Supl):126-34.
3. Silva JG, Teixeira MLO, Ferreira MA. Alimentação e saúde: sentidos atribuídos por adolescentes. *Revista Escola Anna Nery* 2012; 16(10):88- 95.
4. Moraes EC, et al.: Development of chocolate dairy dessert with addition of prebiotics and replacement of sucrose with different high-intensity sweeteners. *Journal of Dairy Science* 2014;97(5):1-10.
5. Estima CDCP, Philippi ST, Alvarenga MDS: Fatores determinantes de consumo alimentar: por que os indivíduos comem o que comem? *Revista Brasileira de Nutrição Clínica* 2009; 24(4):263-268.
6. Wan Y, Vinson JA, Etherton TD, Proch J, Lazarus SA, Kris-Etherton PM: Effects of cocoa powder and dark chocolate on LDL oxidative susceptibility and prostaglandin concentrations in humans. *Am J Clin Nutr* 2001;74:596–602.
7. L Djoussé, Hopkins PN, North KE, Pankow JS: Chocolate consumption is inversely associated with prevalent coronary heart disease: The National Heart, Lung, and Blood Institute Family Heart Study. *Clinical Nutrition* 2011; 30(2):182-87.
8. Schumacher AB, Brandelli A, Macedo FC, Pieta L, Klug TV, Jong EV: Chemical and sensory evaluation of dark chocolate with addition of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). *Journal of food science and technology* 2010;47(2), 202-206.
9. Colombo AMJ, Valente Filho JM, Moreira DM: Efeitos do Chocolate na Função Endotelial de Pacientes com Síndrome Coronariana Aguda. *Int J Cardiovasc Sci.* 2015;28(2):89-94.

10. Allen RR, et al: "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* 2008; 138(4):725-731.
11. Bohannon DK, Peter H, Johannes AD: "Chocolate with high cocoacontent as a weight-loss accelerator." *Global Journal of Medical Research* 2015;15(2):1-8.
12. Almoosawi S, Fyfe L, HoC, Al-Dujaili E: The effect of polyphenol-rich dark chocolate on fasting capillary whole blood glucose, total cholesterol, blood pressure and glucocorticoids in healthy overweight and obese subjects. *Br J Nutr* 2010;103:842-850.
13. Titton NF, Schumacher AB, Dani C: "Estudo Comparativo da Quantidade de Polifenóis Totais e da Atividade Antioxidante em diferentes chocolates: ao leite, meio amargo, amargo e de soja." *Ciência em Movimento-Biociências e Saúde* 2016; 16(33):77-84.
14. LIU J: Oleanolic acid and ursolic acid: Research perspectives. *Journal Ethnopharmacol* 2005; 100:92-4.
15. Shanmugam MK, Dai X, Kumar AP, Tan Bkh, Sethi G, Bishayee, A: Ursolic acid in câncer prevention and treatment: molecular targets, pharmacokinetics and clinical studies. *Biochemical Pharmacology* 2013; 85:1579-1587.
16. Owen L, Scholey A: Effects of chocolate on cognitive function and mood: a systematic review. *Nutrition reviews* 2013; 71(10):665-681.
17. Teixeira AMNDC: Efeito da ingestão de chocolate e erva mate na elasticidade arterial de indivíduos com HIV/aids em terapia antirretroviral (Doctoral dissertation, Universidade de São Paulo. Faculdade de Saúde Pública) 2013.
18. Nogueira LP: Avaliação do efeito da ingestão do chocolate-cacau 70% sobre a pressão arterial, biomarcadores circulantes da função endotelial, metabolismo glicídico e lipídico em hipertensos primários estágio 1. Dissertação (Mestrado) 2009. Rio de Janeiro (RJ), Brasil, 2009.
19. Centro Nacional de Informações sobre Biotecnologia. PubChem Composto Banco de Dados; CID =64945, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/summary/summary.cgi?cid=64945>(acessado em 25 de novembro de 2016).
20. ABESO, Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica. Diretrizes Brasileiras de Obesidade 2009/2010. 2009; 3.
21. Sartorelli DS, Franco LJ, Cardoso MA: Intervenção nutricional e prevenção primária do diabetes mellitus tipo 2: uma revisão sistemática. *Cad. Saúde Pública* 2006; 22(1):7-18.

22. Paulo TRS, Gomes IC, Santos VR, Christofaro DGD, Castellano SM, Júnior F, Fortes I: Atividade física e estado nutricional: fator de proteção para Doenças Crônicas Não Transmissíveis (DCNT) em idosos?. *Revista Brasileira em Promoção da Saúde* 2015;27(4):527-532.
23. Kunkel SD, Elmore CJ, Bongers KS, Ebert SM, Fox DK, Dyle MC, Bullard SA, Adams CM: Ursolic Acid Increases Skeletal Muscle and Brown Fat and Decreases Diet-Induced Obesity, Glucose Intolerance and Fatty Liver Disease. *PLoS ONE* 2012; 7(6):e39332.

## **6 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

De acordo com os resultados deste estudo, foi possível desenvolver e caracterizar um alimento inovador, saboroso, prático e saudável e que pode ser utilizado no consumo das famílias como forma de promoção da saúde, utilizando cacau e ácidos triterpênicos.

Os ácidos triterpênicos são utilizados no mercado internacional, porém no Brasil não é um aditivo alimentar. Será solicitado a Agência de Vigilância Sanitária a inclusão do ácido ursólico e do ácido oleanólico em sua lista de aditivos alimentares conforme legislação vigente.

Algumas limitações foram observadas desse estudo, como o tamanho da amostra e o tempo de realização da intervenção o que sugere novos estudos para resultados a longo prazo.

## REFERÊNCIAS

- ACADEMY OF NUTRITION AND DIETETICS. Position of the Academy of Nutrition and Dietetics: Food and Nutrition for Older Adults: Promoting Health and Wellness. **Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics**. 2012.
- ALMEIDA, A. T. M. S. O treino do paladar marcadores precoces de uma alimentação saudável para a vida. Monografia. Faculdade de Ciências da Nutrição e Alimentação. Porto, 2010.
- AOAC. Association of Official Agricultural Chemists - Method 990.12: **Official methods of analysis of AOAC International**. 17 ed. Gaithersburg: AOAC International. p. 22-23, 2000.
- BRAGA, F.C.; WAGNER, H.; LOMBARDI, J.A.; OLIVEIRA, A.B. Screening the Brazilian flora for anti-hypertensive plant species for in vitro angiotensin-converting enzyme inhibiting activity. **Phytomedicine**, v. 7, p. 245-250, 2000.
- BRASIL. Lei de Inovação Tecnológica (Lei n.º 10.973/2004). Brasília, DF: Congresso Nacional. Atos do Poder Legislativo, DOU, n.º 232 de 03.12.2004.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Instrução Normativa Nº 62, de 26 de agosto de 2003.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Legislação. Resolução de diretoria colegiada. n. 264, de 22 de setembro de 2005.
- BUZZARD, M. 24-hours dietary recall and food record methods. In: **Willett WC. Nutritional epidemiology**. Oxford: Oxford University Press. n. 2, p.50-73, 1998.
- CANDIA, A. S.; DIAS, I. P. Formulação, caracterização e análise sensorial de chocolate com adição de *okara*. Monografia (Curso Superior de Tecnologia em Alimentos). Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Londrina. 2014.
- CHAVES, S. A. M; REINHARD, K. J. Paleopharmacology and pollen: theory, method and application. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 98, n. 1, pp. 207-211, 2003.
- COLOMBO, A. M. J.; VALENTE FILHO, J. M., Moreira<sup>1</sup>, D. M. Efeitos do Chocolate na Função Endotelial de Pacientes com Síndrome Coronariana Aguda. **Int J Cardiovasc Sci**. v. 2, n. 28, p. 89-94, 2015.
- DUNCAN, B. B., et al. Doenças não transmissíveis no Brasil: prioridade para enfrentamento e investigação. **Rev. Saúde Pública**. v.46, p.126-34, 2012.
- ELOY, J. O. et al. Desenvolvimento e validação de um método analítico por CLAE para quantificação de ácido ursólico em dispersões sólidas. **Rev. Quim. Nova**, v.35, n. 5, 2012.
- ENKEL, E. Atributos necessários para lucrar com a inovação aberta nas redes. **Internacional Journal of Technology Management (IJTM)** , v. 52, n 3/4, 2010.

ESTIMA, C. D. C. P.; PHILIPPI, S. T.; ALVARENGA, M. D. S. Fatores determinantes de consumo alimentar: por que os indivíduos comem o que comem? **Revista Brasileira de Nutrição Clínica** v.24, n. 4, p.263-268, 2009.

FAZZIO, D. M. G. Envelhecimento e qualidade de vida – uma abordagem nutricional e alimentar. **Revisa**. 2012.

FONTES, M. J. V. Do cacau ao chocolate: trajetória, inovações e perspectivas das micro e pequenas agroindústrias de cacau/chocolate. 2013. **Tese (Doutorado)** - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Programa de Pós-Graduação de Ciências Sociais em Desenvolvimento, Agricultura e Sociedade, Rio de Janeiro (RJ). Brasil, 2013.

FRIGHETTO, N. et al Aplicação de cromatografia centrífuga de contra-corrente na purificação de ácido ursólico das folhas de *Eugenia brasiliensis* Lam. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. 2005.

FRITSCH, F. C.; SILVA, M. S.; DEGÁSPARI, C. H. Desenvolvimento e análise sensorial de formulações de chocolate em barra adicionadas de guaraná em pó. **Cad. da Esc. de Saúde**, Curitiba, v.1 n.13, p.52-78, 2013.

GALEMBECK, F. Inovação para a Sustentabilidade, **Química Nova**. v. 36, n. 10, p. 1600-1604, 2013.

GOUGH, B., CONNER, M.T. Barriers to healthy eating among men: A qualitative analysis. **Social Science & Medicine**. v.62, p.387–395, 2006.

GOUVEIA, F. Indústria de alimentos: no caminho da inovação e de novos produtos. **Inovação Uniemp**, Campinas, v. 2, n. 5, 2006.

HEITOR, S. F. D. et al. Tradução e adaptação cultural do questionário sobre motivo das escolhas alimentares (FoodChoiceQuestionnaire – FCQ) para a língua portuguesa. **Ciência & Saúde Coletiva**, v.20, n. 8, p.2339-2346, 2015.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**, 4.ed.São Paulo, 2004.

KOMATSU, T. R.; BURITI, F. C. A.; SAAD, S. M. I. Inovação, persistência e criatividade superando barreiras no desenvolvimento de alimentos probióticos. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**. v.44, n. 3, 2008.

LIMA, A. O.; SOARES, J. B.; GRECO, J.B.; GALIZZI, J.; CANÇADO, J. R.. Métodos de Laboratório Aplicados à Clínica – Técnica e Interpretação, 8ªEd., Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2001.

LIU, J. Oleanolic acid and ursolic acid: Research perspectives. **Journal Ethnopharmacol**. 2005.

MALTA, D. C.; SILVA JR, J. B. da. O Plano de Ações Estratégicas para o Enfrentamento das Doenças Crônicas Não Transmissíveis no Brasil e a definição das metas globais para o enfrentamento dessas doenças até 2025: uma revisão. **Epidemiol. Serv. Saúde**, Brasília , v. 22, n. 1, p. 151-164, 2013



MINIM, V. P. R. *Análise Sensorial – Estudo com Consumidores*. 3 ed. Viçosa, M.G. Editora da Universidade Federal de Viçosa, 308p, 2013.

Morais, E. C.; MORAIS, A. R.; CRUZ, A. G.; BOLINI, H. M. A Development of chocolate dairy dessert with addition of prebiotics and replacement of sucrose with different high-intensity sweeteners. **Journal of Dairy Science**. v. 97, n. 5, 2014.

MURSU, J.; VOUTILAINEN, S.; NURMI, T. et al. Dark chocolate consumption increases HDL cholesterol concentration and chocolate fatty acids may inhibit lipid peroxidation in healthy humans. **FreeRadical Biol Med**. v.37, p.1351-1359, 2004.

NOGUEIRA, L. P. Avaliação do efeito da ingestão do chocolate-cacau 70% sobre a pressão arterial, biomarcadores circulantes da função endotelial, metabolismo glicídico e lipídico em hipertensos primários estágio 1. Dissertação (Mestrado) 2009. Rio de Janeiro (RJ), Brasil, 2009.

OMS. **Active Ageing: A Policy Framework**. Geneva: World Health Organization, 2002.

OWEN, L.; SCHOLEY A. Effects of chocolate on cognitive function and mood: a systematic review. **Nutrition reviews**. v.71, n.10, p.665-681, 2013.

PIMENTEL, F. A. Avaliação do poder antioxidante do chocolate amargo – um comparativo com o vinho tinto. Dissertação de Mestrado – Ciência e Tecnologia de Alimentos. ICTA, UFRGS, Porto Alegre (RS), Brasil, 2007.

ROCHA, A.D. Estudo fitoquímico de *Clytostomamentaceum* Bureau & Schum. e *Mansoa hirsuta* D.C. (Bignoniaceae) biomonitorado por ensaios invitro de atividade antifúngica. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2002.

ROCHA-BRISCHILIARI, S. C. et al. Doenças Crônicas não Transmissíveis e Associação com Fatores de Risco. **Rev Bras Cardiol**. v.27, n.1, p.531-38, 2014.

SAMPAIO, S. C. S. Chocolate meio amargo produzido de amêndoas de cacau fermentadas com polpas de cajá, cupuaçu ou graviola: características físico-químicas, reológicas e sensoriais. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal de Viçosa. Viçosa. 2011.

SANDRI, I. G.; BASTIANI, PIEMOLINI-BARRETO, L. T. Chocolate branco adicionado de cogumelo. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**. Campina Grande (SP), Brasil, 2012.

SCHUMACHER, A. B. Desenvolvimento de chocolate meio amargo com maior potencial de proteína. 2008. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Porto Alegre (RS), Brasil, 2008.

SERVIÇO BRASILEIRO DE APOIO ÀS MICRO E PEQUENAS EMPRESAS – SEBRAE. Os Negócios Promissores em 2015. Brasília. 2014. 1:1-28.

SETTI, A. C. R.; VISSOOTTO, F. Z.; LUCCAS, V.; AUGUSTO, P. P. C. Incorporação de frutas em chocolate. **8º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2014**. São Paulo. 2014.

SHAMA, L. L. et al. The Food Industry and Self-Regulation: Standards to Promote Success and to Avoid Public Health Failures. **American Journal of Public Health**. v.100, n. 2, p.240-246, 2010.

SHANMUGAM, M. K.; DAI, X.; KUMAR, A.P.; TAN, B. K. H.; SETHI, G.; BISHAYEE, A. Ursolic acid in câncer prevention and treatment: molecular targets, pharmacokinetics and clinical studies. **Biochemical Pharmacology**, v. 85, p. 1579-1587, 2013.

SIANI, A. C.; NAKAMURA, M. J.; SANTOS, D. S.; MAZZEI, J. L.; NASCIMENTO, A. C.; VALENTE, L. M. Efficiency and selectivity of triterpene acid extraction from decoctions and tinctures prepared from apple peels. **Phcog. Mag.** v.10, p.225-231, 2014.

SIDONIO, L., et al. "Inovação na indústria de alimentos: importância e dinâmica no complexo agroindustrial brasileiro." **BNDES Setorial** 37 (2013): 333-370.

SILVA, D. M. Estudo químico e de atividades biológicas da *Mansoa hirsuta* D.C. (Bignoneaceae). Dissertação de Mestrado, Instituto de Química e Biotecnologia, Universidade Federal de Alagoas. 2006.

TRIPATHI, M. K.; GIRI, S. K. Probiotic functional foods: Survival of probiotics during processing and storage. **Journal of functional foods**. v.9; p.225-241, 2014.

VIANA, VICTOR. Psicologia, saúde e nutrição: Contributopara o estudo do comportamento alimentar. **Análise Psicológica**. v.4, p.611-624, 2002.

WAN, Y.; VINSON, J. A.; ETHEERTON, T. D.; PROCH, J., LAZARUS, S. A.; KRIS-ETHEERTON, P.M. Effects of cocoa powder and dark chocolate on LDL oxidative susceptibility and prostaglandin concentrations in humans. **Am J Clin Nutr.** v. 74, p.596–602, 2001.

WERLE, C.O.C. et al. Unhealthy food is not tastier for everybody: The “healthy = tasty” Frenchintuition. **FoodQualityandPreference**. v.28, p.116–121, 2013.

World Health Organization (WHO). Doenças crônicas não transmissíveis causam 16 milhões de mortes prematuras todos os anos. 2015 – Genebra. Disponível em: [http://www.paho.org/bra/index.php?option=com\\_content&view=article&id=4766:doencas-cronicas-nao-transmissiveis-causam-16-milhoes-de-mortes-prematuras-todos-os-anos&Itemid=839](http://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=4766:doencas-cronicas-nao-transmissiveis-causam-16-milhoes-de-mortes-prematuras-todos-os-anos&Itemid=839).

ZOGHBI, M. G. B; OLIVEIRA, J.; GUILHON, G. M. S. P. The genus *Mansoa* (Bignoniaceae): a sourceoforganosulfurcompounds. **Rev. Bras. Farmacogn.** v. 19. 2009.

## APÊNDICES

**APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO DA  
ANÁLISE SENSORIAL**

Resolução nº 466, de 12 de dezembro de 2012, Conselho Nacional de Saúde.

O presente termo, foi elaborado em atendimento à Resolução 466/12, destina-se a esclarecer ao participante da pesquisa intitulada **“Chocolate 70% cacau incorporado de ácido ursólico e ácido oleanólico: desenvolvimento e avaliação do consumo na saúde da família”**.

Prezado Participante, sou Talita Batista Matos, e estou realizando uma pesquisa científica de Análise de Alimentos, sobre o **“Chocolate 70% cacau incorporado de ácido ursólico e ácido oleanólico: desenvolvimento e avaliação do consumo na saúde da família”** e gostaria de convidá-lo a nos honrar com sua participação.

Essa pesquisa pretende verificar a qualidade sensorial do chocolate amargo com ácido ursólico e ácido oleanólico. Todas as informações obtidas são confidenciais. O questionário e os termos de consentimento preenchidos por você serão guardados em armários trancados, onde somente as pessoas envolvidas no projeto terão acesso. As informações prestadas serão utilizadas apenas para fins acadêmicos e o anonimato será garantido. Sendo que você poderá solicitar esclarecimentos adicionais a respeito da pesquisa em qualquer momento.

A sua participação nessa pesquisa é voluntária e livre de qualquer remuneração. Você pode se negar a responder qualquer pergunta ou pode se retirar desse estudo a qualquer momento sem sofrer qualquer sanção ou constrangimento. Caso você aceite participar desta pesquisa, você deverá provar formulação de sensorial do chocolate amargo com ácido ursólico e ácido oleanólico em diferentes proporções. A ingestão destes poderá causar desconfortos em caso de pessoas intolerantes a chocolate, ou alérgicas a qualquer ingrediente do produto. Caso aconteça intolerância/alergia, o participante será encaminhado para o serviço de saúde para as providências cabíveis.

Fica também garantida a indenização em casos de danos, comprovados, decorrentes da participação na pesquisa, conforme decisão judicial ou extrajudicial.

Caso aceite participar da pesquisa, você precisará assinar duas vias do TCLE, sendo que uma das vias ficará com você e a outra será arquivada pelos pesquisadores por cinco anos.

Eu, \_\_\_\_\_, aceito livremente participar do estudo intitulado **“Desenvolvimento de chocolate funcional visando promover envelhecimento saudável”**, sob a responsabilidade da mestrandia Talita Batista Matos. Fui devidamente esclarecido quanto os objetivos da pesquisa, aos procedimentos aos quais serei submetido e os possíveis riscos envolvidos na minha participação. O pesquisador me garantiu disponibilizar qualquer esclarecimento adicional que eu venha solicitar sobre pesquisa e o direito de desistir da participação em qualquer momento, sem implicar em qualquer prejuízo a minha pessoa ou a minha família, sendo garantido anonimato e o sigilo dos dados referentes a minha identificação, bem como de que a minha participação neste estudo não me trará nenhum benefício econômico.

\_\_\_\_\_  
Assinatura do participante:

Jequié, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 20\_\_

Ou

Digital

Para qualquer esclarecimento, por favor, entre em contato com Talita pelo telefone (73) 9142-0670. Você também poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da UESB para informações sobre o projeto pelo telefone (73) 3528-9727.

\_\_\_\_\_  
**Mestranda Talita Batista Matos**

**APÊNDICE B – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO DA INTERVENÇÃO**

Resolução nº 466, de 12 de dezembro de 2012, Conselho Nacional de Saúde.

O presente termo, foi elaborado em atendimento à Resolução 466/12, destina-se a esclarecer ao participante da pesquisa intitulada **“Chocolate 70% cacau incorporado de ácido ursólico e ácido oleanólico: desenvolvimento e avaliação do consumo na saúde da família”**.

Prezado Participante, sou Talita Batista Matos, e estou realizando uma pesquisa científica de Análise de Alimentos, sobre o **“Chocolate 70% cacau incorporado de ácido ursólico e ácido oleanólico: desenvolvimento e avaliação do consumo na saúde da família”** e gostaria de convidá-lo a nos honrar com sua participação.

Essa pesquisa pretende verificar a influência do consumo do chocolate que fizemos na sua saúde, verificando o resultado de exames de sangue (colesterol total e frações e glicemia em jejum).

Todas as informações obtidas são confidenciais. O questionário e os termos de consentimento preenchidos por você serão guardados em armários trancados, onde somente as pessoas envolvidas no projeto terão acesso. As informações prestadas serão utilizadas apenas para fins acadêmicos e o anonimato será garantido. Sendo que você poderá solicitar esclarecimentos adicionais a respeito da pesquisa em qualquer momento.

A sua participação nessa pesquisa é voluntária e livre de qualquer remuneração. Você pode se negar a responder qualquer pergunta ou pode se retirar desse estudo a qualquer momento sem sofrer qualquer sanção ou constrangimento. Caso você aceite participar desta pesquisa, você deverá se submeter à duas coletas de sangue e consumir o nosso chocolate durante quatro semanas, todos os dias. A ingestão destes poderá causar desconfortos em caso de pessoas intolerantes a chocolate, ou alérgicas a qualquer ingrediente do produto. Caso aconteça intolerância/alergia, o participante será encaminhado para o serviço de saúde para as providências cabíveis.

Fica também garantida a indenização em casos de danos, comprovados, decorrentes da participação na pesquisa, conforme decisão judicial ou extrajudicial.

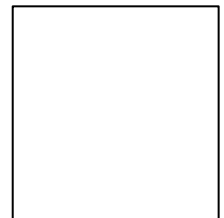
Caso aceite participar da pesquisa, você precisará assinar duas vias do TCLE, sendo que uma das vias ficará com você e a outra será arquivada pelos pesquisadores por cinco anos.

Eu, \_\_\_\_\_, aceito livremente participar do estudo intitulado **“Desenvolvimento de chocolate funcional visando promover envelhecimento saudável”**, sob a responsabilidade da mestrandia Talita Batista Matos. Fui devidamente esclarecido quanto os objetivos da pesquisa, aos procedimentos aos quais serei submetido e os possíveis riscos envolvidos na minha participação. O pesquisador me garantiu disponibilizar qualquer esclarecimento adicional que eu venha solicitar sobre pesquisa e o direito de desistir da participação em qualquer momento, sem implicar em qualquer prejuízo a minha pessoa ou a minha família, sendo garantido anonimato e o sigilo dos dados referentes a minha identificação, bem como de que a minha participação neste estudo não me trará nenhum benefício econômico.

\_\_\_\_\_  
Assinatura do participante:

Jequié, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 20\_\_\_\_

Ou



Digital

Para qualquer esclarecimento, por favor, entre em contato com Talita pelo telefone (73) 9142-0670. Você também poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da UESB para informações sobre o projeto pelo telefone (73) 3528-9727.

\_\_\_\_\_  
**Mestranda Talita Batista Matos**

**APÊNDICE C – QUADRO DE FORMULAÇÃO DOS CHOCOLATES.**

<b>Ingredientes</b>	<b>Formulações pra 100g</b>	
	<b>Controle</b>	<b>Teste</b>
<b>Chocolates (g)</b>		
Cacau (liquor)	64,0	64,0
Manteiga de cacau	6,0	6,0
Lecitina de soja	0,40	0,40
Açúcar refinado	29,60	29,54
Ácido Ursólico + Ácido Oleanólico	-	0,06
Total de sólidos  decacau (%)	70	70

Figura I: Formulação dos chocolates teste e controle.  
Fonte: Autoria própria.

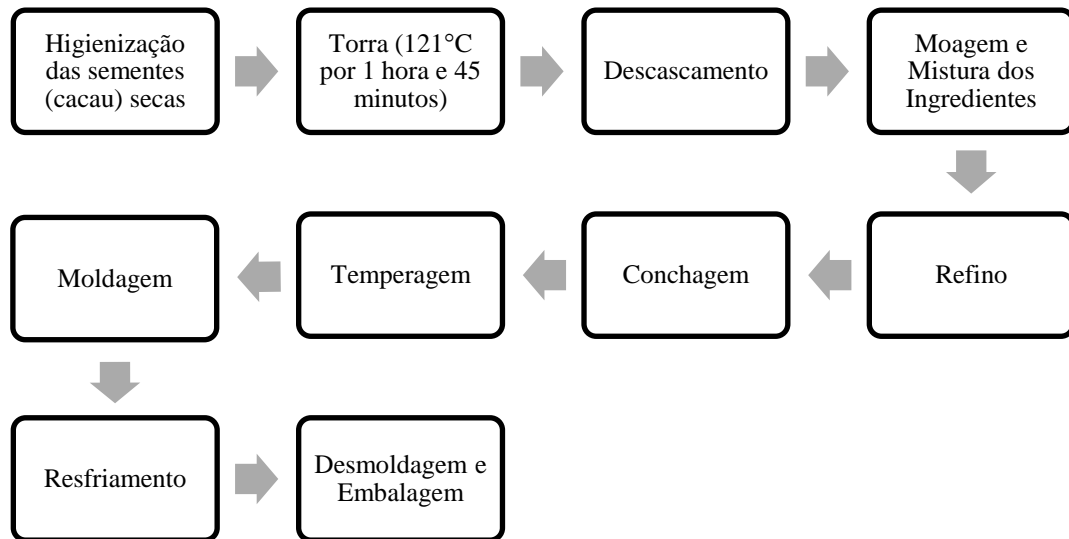
**APÊNDICE D – FLUXOGRAMA DE PRODUÇÃO DOS CHOCOLATES**

Figura II: Fluxograma de produção dos chocolates.  
Fonte: Autoria própria.

**APÊNDICE E – FICHA DE IDENTIFICAÇÃO DA ANÁLISE SENSORIAL****TESTE DE ACEITAÇÃO**

Nome: \_\_\_\_\_

Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

Idade: ( ) 18-20 anos ( ) 21-25anos ( ) 26-30 anos ( ) &gt;30 anos

Sexo: ( ) feminino ( ) masculino

Qual a frequência que você consome chocolate?

( ) diário ( ) semanal ( ) mensal ( ) eventualmente ( ) nunca

Você está recebendo uma amostra de chocolate. Por favor, **PROVE-A** e marque um “X” a resposta que melhor reflita seu julgamento.

AMOSTRA: \_\_\_\_\_

- ( ) Gostei extremamente
- ( ) Gostei muito
- ( ) Gostei moderadamente
- ( ) Gostei ligeiramente
- ( ) Indiferente
- ( ) Desgostei ligeiramente
- ( ) Desgostei moderadamente
- ( ) Desgostei muito
- ( ) Desgostei extremamente

Comentários: \_\_\_\_\_

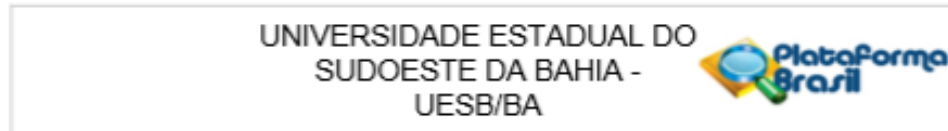




**ANEXOS**

## ANEXO A

### PARECER CONSUBSTANCIADO DO COMITÊ DE ÉTICA E PESQUISA



#### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** Desenvolvimento de chocolate funcional visando promover envelhecimento saudável.

**Pesquisador:** Talita Batista Matos

**Área Temática:**

**Versão:** 1

**CAAE:** 46718815.0.0000.0055

**Instituição Proponente:** Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia - UESB

**Patrocinador Principal:** Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia - UESB

#### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 1.157.248

**Data da Relatoria:** 28/07/2015

#### **Apresentação do Projeto:**

A sociedade contemporânea vem sendo marcada por transformações efetivas nos mais diversos aspectos, uma das mudanças mais marcantes e importantes é o envelhecimento humano. Surge, então, o termo "envelhecimento saudável" e estratégias para melhorar a qualidade de vida à medida que as pessoas ficam mais velhas, que incluem uma alimentação saudável e prática de atividade física, entre outros. Dessa maneira, uma alimentação com deficiência de nutrientes pode ter significativa representação, de forma inadequada, no processo de envelhecer. Nesse contexto, o setor alimentício também necessita de desenvolvimento tecnológico e produção de inovações para o mercado mundial, com produtos que atendam, cada vez mais, ao imaginário e às expectativas dos consumidores, disponibilizando uma gama de sabores, aromas, aplicações, formas e valor nutricional. Por esse motivo, ao se desenvolver um chocolate funcional, visando a promover o envelhecimento saudável, leva-se em consideração outra tendência do setor de alimentos, a regionalidade. Isso reforça a importância do desenvolvimento local, pois as plantas da Bahia, estado rico em diversidade, podem ser utilizadas como suplementação alimentar em diversos formatos, como por exemplo, o cacau (*Theobroma cacao*) matéria-prima do chocolate, rico em antioxidante, e o cipó d'alho (*Mansoa hirsuta*) como fonte de extração dos ácidos ursólicos e oleanólico, que podem ser utilizados com várias

<b>Endereço:</b> Avenida José Moreira Bobrinho, s/n	<b>CEP:</b> 45.206-510
<b>Bairro:</b> Jequezinho	
<b>UF:</b> BA	<b>Município:</b> JEQUIE
<b>Telefone:</b> (73)3528-9727	<b>Fax:</b> (73)3525-6683
<b>E-mail:</b> cepuesb.je@gmail.com	

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO  
SUDOESTE DA BAHIA -  
UESB/BA



Continuação do Parecer: 1.157.245

atividades farmacológicas. É importante destacar que, outra justificativa para este estudo é que produtos funcionais contendo compostos como ácido ursólico e oleanólico estão disponíveis comercialmente apenas no mercado internacional, os quais possuem custos bastante elevados, e ainda, não há disponibilidade no mercado nacional. Trata-se, portanto, de um estudo caráter experimental, exploratório e quantitativo, no qual serão desenvolvidos chocolates amargos com adição de ácido ursólico e ácido oleanólico - extraídos e isolados, a fim de promover uma alimentação saudável. Será realizada análise da estabilidade dos chocolates, a caracterização físico-química e microbiológica, análise sensorial e os voluntários receberão uma porção de chocolate e seus parâmetros clínicos avaliados, antes e após a intervenção.

**Objetivo da Pesquisa:**

**Objetivo Primário:**

Desenvolver um chocolate acrescido de ácido ursólico e ácido oleanólico isolados do cipó d'alho (*M. hirsuta* D.C), a fim de estimular o consumo de alimento com nutrientes relevantes à alimentação saudável.

**Objetivo Secundário:**

Desenvolver chocolate com porcentagem de 70% de cacau; Incorporar ao chocolate diferentes concentrações da mistura de ácido ursólico e ácido oleanólico, 5%, 10% e 15%; Verificar a estabilidade do ácido ursólico e oleanólico no chocolate após processamento; Caracterizar a físico-química dos chocolates; Caracterizar as condições microbiológicas dos chocolates; Determinar o teor de compostos fenólicos totais dos chocolates; Verificar o efeito do consumo do chocolate nos indicadores de saúde de adultos. Verificar a aceitação do chocolate com ácido ursólico e ácido oleanólico.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

**Riscos:**

Os riscos e desconfortos serão mínimos para os participantes que não se enquadraram em nenhum dos critérios de exclusão e se dispuseram voluntariamente a participar do teste, o que inclui alguma reação alérgica a algum componente da formulação ou apresentar intolerância ao chocolate.

**Benefícios:**

O benefício aos participantes que experimentarão o chocolate será consumir um produto rico nutricionalmente e poder contribuir para o desenvolvimento da pesquisa no estado da Bahia.

Endereço: Avenida José Moreira Sobrinho, s/n  
Bairro: Jequezinho CEP: 45.206-510  
UF: BA Município: JEQUIE  
Telefone: (73)3528-9727 Fax: (73)3525-6683 E-mail: cepuesbjo@gmail.com

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO  
SUDOESTE DA BAHIA -  
UESB/BA



Continuação do Parecer: 1.157.248

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

A pesquisa é interessante, viável, motivadora e encontra-se bem delineado para a sua execução.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Os TCLE e declarações estão de acordo à Resolução 466/2012

**Recomendações:**

Nenhuma

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Na questão RISCOS, existe a necessidade de explicitar o que será feito no caso de "alguma reação alérgica a algum componente da formulação ou apresentar intolerância ao chocolate".

**Situação do Parecer:**

Pendente

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

**Considerações Finais a critério do CEP:**

Aprovo ad referendum o parecer do relator em 17/07/2015.

JEQUIE, 23 de Julho de 2015

---

Assinado por:  
Ana Angélica Leal Barbosa  
(Coordenador)

Endereço: Avenida José Moreira Sobrinho, s/n  
Bairro: Jequezinho CEP: 45.208-510  
UF: BA Município: JEQUIE  
Telefone: (73)3528-9727 Fax: (73)3525-6683 E-mail: cepuesb.jq@gmail.com