



CARACTERIZAÇÃO FUNCIONAL E NUTRICIONAL DE FONTE VEGETAL ALTERNATIVA E APLICAÇÃO EM CHOCOLATE À BASE DE PLANTAS

Palavras-Chave: PROTEÍNA VEGETAL, GIRASSOL, ALIMENTOS PLANT-BASED

Autoras:

LETICIA CANNAVAN SCANAVACA, FEA – UNICAMP

GISELE MARCONDES LUZ, FEA – UNICAMP

Prof(a). Dr(a). JULIANA AZEVEDO LIMA PALLONE, FEA - UNICAMP

INTRODUÇÃO:

O cacaueiro (*Theobroma cacao L.*) é uma planta perene originária das Américas Central e do Sul, onde foi domesticado e consumido pelos Maias e Astecas e, posteriormente, cultivado em outras partes do mundo (Colombo et al., 2012; Nair, 2020). Na Idade Média, as sementes de cacau eram moídas e dissolvidas em água com canela e pimenta, e a bebida feita com a mistura desses ingredientes era chamada de *xocolatl*, muito apreciada por seus efeitos estimulantes e revigorantes, mas com sabor amargo e forte (Verna, 2013). Com o desenvolvimento industrial do processamento do nibs de cacau por volta de 1820, foi possível produzir chocolate líquido derretido com características tecnológicas ideais para a formulação de um produto macio e cremoso (Hartel et al., 2018).

O chocolate que está disponível para consumo atualmente é obtido pelo processamento de uma mistura homogênea de manteiga de cacau, líquor de cacau e açúcar e também pode ser produzido com leite e aditivos alimentares. De acordo com o Codex Alimentarius Comission (2016), há três categorias principais de chocolate: amargo, branco e ao leite. O chocolate ao leite é o preferido pela maioria dos consumidores em comparação com outros tipos (Afoakwa, 2016; Praseptiangga et al., 2021). Normalmente, é composto por 8% de proteína, 60% de carboidrato e 30% de gordura, com elementos essenciais como K, P, Ca, Na, Mg, Fe, Cu e Zn, além das vitaminas A, B₁, B₂, B₃ e E (Carvalho, 2016).

Neste contexto, ressalta-se que parte do mercado consumidor tem demonstrado interesse por alimentos alternativos, livres de componentes de origem animal, elaborados com produtos à base de plantas, incluindo adeptos do veganismo. A fim de atender a essas demandas, o mercado de confeitaria, com ênfase no chocolate, tem oferecido algumas formulações à base de plantas com o intuito de serem produtos alternativos do chocolate ao leite convencional. Os chocolates à base de plantas podem ser definidos como produtos sem nenhum componente lácteo, como soro de leite, leite

em pó, gorduras e proteínas do leite, além de mel de abelha, ovos e outros ingredientes em sua formulação (Rothkopf & Danzl, 2016).

Nesse contexto, é interessante buscar novas fontes vegetais que possam ser aplicadas no desenvolvimento desses novos produtos, com o desafio de que esses ingredientes possam apresentar um significativo conteúdo de micronutrientes e compostos bioativos, similares ou superiores aos produtos tradicionais. A proteína de girassol, produzida através da torta de girassol (após extração do óleo das sementes), pode ser um ingrediente de fonte vegetal interessante a ser utilizado no desenvolvimento de chocolates à base de plantas. As sementes contêm uma relevante quantidade de ácidos graxos poli-insaturados, e podem apresentar cerca de 20% de carboidratos, 4,8% de água, 24% de proteína e 4,0% de minerais como o Ca, P, Fe, Na e K, além das vitaminas A, tiamina, riboflavina e niacina e compostos com potenciais antioxidantes (Adeleke & Babalola, 2020).

Diante do exposto, o presente estudo teve como objetivo avaliar as propriedades de hidratação, o conteúdo mineral e potencial bioativo de uma proteína concentrada de girassol, além de desenvolver um chocolate utilizando essa proteína para compará-lo a um chocolate ao leite.

METODOLOGIA:

MATERIAIS:

O extrato vegetal de girassol (proteína concentrada) em pó foi disponibilizado pela empresa Sunprotein. Para o desenvolvimento dos chocolates foram utilizados: liquor/massa de cacau (Barry Callebaut), manteiga de cacau (Barry Callebaut), açúcar de confeiteiro Glaçúcar (União), leite em pó integral (La Serenissima), aroma de baunilha em pó (Rhovanil), lecitina de soja (Kerry) e a proteína concentrada de girassol (Sunprotein).

MÉTODOS:

Propriedades de hidratação: Os parâmetros de capacidade de retenção de água em repouso (WHC), volume de hidratação (SV), capacidade de retenção de água após centrifugação (WBC), índice de absorção de água após aquecimento (WAI) e estabilidade de congelamento e descongelamento (FTS), foram realizados com 100% da proteína concentrada de girassol, em triplicata, de acordo com Belorio, Marcondes e Gómez (2020).

Determinação de minerais essenciais: Para a para quantificação dos minerais Ca, Mg, Fe, Zn, Cu, Mn, Na e K em espectrômetro de absorção atômica com chama (FAAS), a proteína concentrada de girassol foi preparada de acordo com o método descrito por Boen e Pallone (2009). Para determinação de Se, a amostra de proteína foi preparada em triplicata conforme o método descrito por Mindak e Dolan (1999) e Moretto e Cadore (2004), sendo a quantificação do elemento realizada em espectrômetro de absorção atômica com geração de hidretos (HG-AAS).

Compostos bioativos: A etapa de extração dos compostos bioativos foi realizada seguindo o método proposto por Cipollone et al. (2024), em triplicata, utilizando proteína concentrada de girassol suspensa em solução extratora (etanol:água). O teor de compostos fenólicos totais foi determinado seguindo o método descrito por Singleton e Rossi Jr. (1965), com extrato da amostra, padrão de ácido gálico e

branco da amostra (etanol:água) misturados com reagente Folin-Ciocalteu e solução de carbonato de sódio e leitura da absorbância a 725 nm em leitor de microplacas com espectrômetro no UV/VIS. A capacidade antioxidante foi determinada por ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity), seguindo o método descrito por Mudenuti *et al.* (2021) e Ou, Hampsch-Woodill e Prior (2001), com extrato da amostra, padrão de trolox e branco (tampão fosfato) misturados com solução de fluoresceína e solução de AAPH e medição da fluorescência em comprimentos de onda de excitação e emissão de 485 e 528 nm, respectivamente, em espectrômetro UV/VIS.

Desenvolvimento dos chocolates: As barras de chocolates com proteína concentrada de girassol e com leite, para comparação, foram desenvolvidas de acordo com a metodologia descrita por Soto *et al.* (2020). Os ingredientes utilizados foram: liquor, manteiga de cacau, açúcar de confeiteiro, aroma de baunilha em pó e proteína concentrada de girassol ou leite em pó.

Composição centesimal: Para avaliação da composição centesimal dos chocolates desenvolvidos, foram adotados os métodos para análise de alimentos conforme as normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008) para cinzas (018/IV), proteínas (037/IV) e lipídios (032/IV). A umidade foi determinada de acordo com o método 931.04 da AOAC (AOAC, 2000) para produtos de cacau e chocolate.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Os dados obtidos foram tratados estatisticamente por meio do Teste t de *student*, análise de variância (one-way ANOVA) e Teste *posthoc* Tukey HSD, ao nível de 95% de confiança, no software Statistica 12.0 (Statsoft, Inc., Tulsa, USA).

Caracterização da proteína concentrada de girassol

Os parâmetros WHC, SV, WBC, WAI e FTS determinaram a quantidade de água que pode ser absorvida (em grama ou mL) por grama de proteína concentrada de girassol em diferentes condições

Tabela 1 - Propriedades de hidratação, conteúdo total de minerais essenciais e compostos bioativos da proteína concentrada de girassol.

	Valores*	
Propriedades de hidratação	WHC (g água/g proteína)	6,26 ± 0,41
	SV (mL/g proteína)	$6,99 \pm 0,17$
	WBC (g água/g proteína)	$3,54 \pm 0,19$
	WAI (g água/g proteína)	$5,14 \pm 0,14$
	FTS (g água/g proteína)	$3,30 \pm 0,13$
Minerais essenciais	Ca (mg/100 g)	198,50 ± 4,87
	Mg (mg/100 g)	$78,54 \pm 2,04$
	Fe (mg/100 g)	$11,14 \pm 0,04$
	Zn (mg/100 g)	$3,52 \pm 0,01$
	Cu (mg/100 g)	$3,51 \pm 0,05$
	Mn (mg/100 g)	0.90 ± 0.00
	Na (mg/100 g)	1846,29 ± 45,34
	K (mg/100 g)	210,39 ± 4,75
	Se (µg/100 g)	26,23 ± 1,20
Compostos bioativos	Compostos fenólicos totais (mg ácido gálico equivalente/100 g amostra)	263,36 ± 3,17
	Capacidade redutora ORAC (µmol trolox equivalente /100g amostra)	3249,94 ± 80,54

^{*}Valores expressos em média ± desvio padrão obtidos através do Teste t de student

de processamento (em repouso, sob agitação, a temperatura ambiente, com aquecimento e congelamento). Como mostra a Tabela 1, os valores obtidos para a proteína concentrada de girassol variaram de 3,30 (FTS) a 6,26 (WHC) g água/g proteína, além do parâmetro SV que apresentou um valor de 6,99 mL/g proteína, mostrando que pode ocorrer mudanças na interação água-proteína quando esta ocorre em diferentes condições de processamento.

O conteúdo de minerais essenciais quantificados na proteína concentrada de girassol por FAAS, variou de 0,90 mg/100 g para o Mn a 1846,29 mg/100 g para o Na. Além disso, o conteúdo de Se quantificado por HG AAS foi de 23,26 μg/100 g. Isso mostra que a proteína avaliada no presente estudo, com relação ao conteúdo de minerais essenciais, pode ser considerada um bom ingrediente a fim de agregar valor nutricional aos alimentos desenvolvidos com ela. Até o momento, não foram encontrados estudos na literatura onde se avaliou o conteúdo de minerais essenciais nesse tipo de proteína para comparação.

Considerando a avaliação do potencial bioativo da proteína concentrada de girassol, esta apresentou um conteúdo para os compostos fenólicos totais de 263,36 mg de ácido gálico equivalente/100 g de amostra e uma capacidade redutora por ORAC de 3249,94 µmol de trolox equivalente/100 g de amostra. Tais valores indicam um alto potencial antioxidante. Valores para a capacidade redutora por ORAC em proteína concentrada de girassol não foram encontrados na literatura científica para comparação.

Chocolates com proteína concentrada de girassol e ao leite

Quanto ao processo de desenvolvimento dos chocolates (Figura 1), os ingredientes foram refinados e conchados na melanger até alcançar uma granulometria de aproximadamente 25 µm (tamanho onde as partículas são imperceptíveis ao paladar humano). Após a finalização, as massas de chocolate homogênea foram colocadas em formas de silicone e resfriadas para serem acondicionadas em embalagens de PET metalizado/PE a fim de protegê-las da umidade e da oxidação. As embalagens foram armazenadas em câmara climatizada tipo BOD a 25°C até a temperagem. A temperagem foi realizada em temperadeira laboratorial e o controle da pré-cristalização foi realizado com temperímetro até a massa atingir um índice de temperagem de 5,9 e 4,5 para o chocolate com proteína concentrada de girassol e ao leite, respectivamente.



Figura 1 - Algumas etapas do processamento da massa de chocolate.

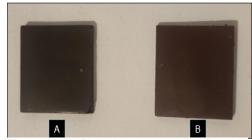


Figura 2 - Chocolates com proteína de girassol (A) e ao leite (B).

Tabela 2 - Composição centesimal do chocolate com proteína Em relação à umidade, parâmetro importante concentrada de girassol e chocolate ao leite.

Amostras	Umidade (%)	Cinzas (%)	Proteínas (%)	Lipídios (%)
Chocolate com proteína de girassol		1,72 ± 0,01b	77,99 ± 0,47a	32,78 ± 0,59a

Após a temperagem, as massas de chocolate foram dosadas manualmente em moldes de polipropileno no formato de barras retangulares. Estes moldes garantiram que o chocolate tivesse o formato desejado, como mostra a Figura 2. As barras de chocolate foram novamente acondicionadas em embalagens metalizadas de PET metalizado/PE e armazenadas na câmara climatizada tipo BOD a 25°C até o momento das análises.

> para o controle da estabilidade do produto e que pode também alterar a textura e cor, os dois chocolates desenvolvidos apresentaram valores

Chocolate ao

 $1,24 \pm 0,05a$ $2,12 \pm 0,02a$ $44,53 \pm 0,35b$ $31,93 \pm 0,09a$ **MP - 2024**

baixos, sem diferenças estatísticas significativas. Para as cinzas, parâmetro que indica a presença de inorgânicos nos produtos, os dois chocolates desenvolvidos apresentaram valores que se diferenciam estatisticamente entre si e o chocolate ao leite obteve o valor mais alto entre os produtos analisados. Quanto ao conteúdo de proteínas totais presentes nos chocolates, o produto desenvolvido com a proteína concentrada de girassol apresentou um valor significativamente mais alto do que o chocolate ao leite, o que já era esperado visto que foi utilizada uma proteína concentrada. A presença de lipídios é essencial para conferir textura e sabor dos chocolates, onde os dois produtos analisados no presente estudo apresentaram valores semelhantes para esse nutriente, sem diferenças estatísticas entre si. Não há estudos na literatura científica com o desenvolvimento de chocolate contendo proteína concentrada de girassol como substituta do leite, tornando o presente estudo inédito.

CONCLUSÕES:

A proteína concentrada de girassol se mostrou um ingrediente vegetal nutritivo para o desenvolvimento do chocolate, sendo este produto uma alternativa inédita e coerente com as demandas crescentes sobre produtos à base de plantas. No entanto, estudos futuros são necessários para avaliar outros nutrientes e o potencial bioativo desse chocolate, além da avaliação sensorial para melhor caracterizá-lo.

BIBLIOGRAFIA:

Adeleke, B. S., & Babalola, O. O. (2020). Oilseed crop sunflower (Helianthus annuus) as a source of food: Nutritional and health benefits. *Food Science and Nutrition*, 8(9), 4666–4684. https://doi.org/10.1002/fsn3.1783

Afoakwa, E. O. (2016). Chocolate science and technology (2nd ed.). John Wiley & Sons, Ltd. https://doi.org/10.1002/9781118913758

AOAC. (2000). Method 931.04 - Moisture in Cacao Products Gravimetric Method First Action 1931. In Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists.

Belorio, M., Marcondes, G., & Gómez, M. (2020). Influence of psyllium versus xanthan gum in starch properties. *Food Hydrocolloids*, 105, 105843. https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2020.105843

Boen, T. R., & Pallone, J. A. L. (2009). Folic acid, iron, and zinc contents in chosen food products prepared with fortified flours. *Cereal Chemistry*, 86(6), 695–700. https://doi.org/10.1094/CCHEM-86-6-0695

Carvalho, J. C. S. (2016). Desenvolvimento de chocolates ao leite com propriedades funcionais acrescidos de folhas de Brassica oleracea (couve) e frutos de Vitis vinifera(uva) [Universidade de São Paulo]. https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/9/9133/tde-04082016-094556/publico/Juli ana_Cajado_Souza_Carvalho_ME_Corrigida.pdf

Cipollone, M. A., Fontana, A., Fillería, S. G., & Tironi, V. A. (2024). Characterization, Bioaccesibility and Antioxidant Activities of Phenolic Compounds Recovered from Yellow pea (Pisum sativum) Flour and Protein Isolate. *Plant Foods for Human Nutrition*, 79(2), 401–409. https://doi.org/10.1007/s11130-024-01172-z

Codex Alimentarius Commission. (2016). Standard for chocolate and chocolate products. CODEX STAN 87 - 1981. International Food Standards. https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?lnk=1&url=https%253A %252F%252Fworkspace fao.org/%252FStrsites%252Fcodex%252FStandards%252FC XS%2B87-1981%252FCXS_087e.pdf

Colombo, M. L., Pinorini-Godly, M. T., & Conti, A. (2012). Botany and pharmacognosy of the cacao tree. In R. Paoletti, A. Poli, A. Conti, & F. Visioli (Eds.), *Chocolate and Health* (pp. 41–62). Springer Milan. https://doi.org/10.1007/978-88-470-2038-2_4

Hartel, R. W., Von Elbe, J. H., & Hofberger, R. (2018). Chocolate. In *Confectionery Science and Technology* (pp. 423–484). Springer Nature. https://doi.org/10.1007/978-3-319-61742-8_15

IAL. (2008). Métodos físicos-quimicos para análise de Alimentos. In *Instituto Adolfo Lutz* (4ª edição.).Mindak, W. R., & Dolan, S. P. (1999). Determination of Arsenic and

Selenium in Food using a Microwave Digestion-Dry Ash Preparation and Flow Injection Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry. *Journal of Food Composition and Analysis*, 12(2), 111–122. https://doi.org/10.1006/jfca.1999.0814

Moretto, A. L., & Cadore, S. (2004). Determination of arsenic in food samples by hydride generation - Atomic absorption spectrometry. *Microchimica Acta*, 146(3–4), 239–244. https://doi.org/10.1007/s00604-004-0232-4

Mudenuti, N. V. de R., de Camargo, A. C., de Alencar, S. M., Danielski, R., Shahidi, F., Madeira, T. B., Hirooka, E. Y., Spinosa, W. A., & Grossmann, M. V. E. (2021). Phenolics and alkaloids of raw cocoa nibs and husk: The role of soluble and insoluble-bound antioxidants. *Food Bioscience*, 42(March), 101085. https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.101085

Nair, K. P. (2020). Tree crops: Harvesting cash from the world's important cash crops. In *Springer* (1st ed.). Springer Nature. https://doi.org/10.1007/978-3-030-62140-7

Ou, B., Hampsch-Woodill, M., & Prior, R. L. (2001). Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(10), 4619–4626. https://doi.org/10.1021/jf0105860

Praseptiangga, D., Qomaruzzaman, A. R., & Manuhara, G. J. (2021). The effect of clove leaves essential oil addition on physicochemical and sensory characteristics of milk chocolate bar. *International Journal on Advanced Science, Engineering and Information Technology*, 11(1), 165–171. https://doi.org/10.18517/ijaseit.11.1.12664

Rothkopf, I., & Danzl, W. (2016). *Vegan milk chocolates alternatives*. Fraunhofer. https://www.researchgate.net/publication/308506195_Vegan_Milk_Chocolates_Alternatives

Singleton, V. L., & Rossi Jr., J. A. (1965). Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144–158. http://www.ajevonline.org/cgi/content/abstract/16/3/144

Soto, A. S. G., Rabelo, R. S., Vélez-Erazo, E. M., de Souza Silveira, P. T., Efraim, P., & Hubinger, M. D. (2020). Application of Complex Chitosan Hydrogels Added With Canola Oil in Partial Substitution of Cocoa Butter in Dark Chocolate. Frontiers in Sustainable Food Systems, 4(November), 17. https://doi.org/10.3389/fsufs.2020.559510

Verna, R. (2013). The history and science of chocolate. Malaysian Journal of Pathology. http://www.mjpath.org.my/2013.2/history-and-science-of-chocolate.pdf