UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Faculdade de Ciências Farmacêuticas

Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Bioquímica-Farmacêutica

Área de Tecnologia de Alimentos

Mesocarpo do pequi (*Caryocar villosum* Alb. Pers.): incorporação em formulação de chocolate amargo com vista a agregação de valor nutricional.

Natasha Dantas Lorenzo

Dissertação para obtenção do Título de Mestre

Orientador (a): Prof. Dr(a). Suzana Caetano da Silva Lannes

Co-Orientador: Profa. Dra. Orquídea Vasconcelos dos Santos

São Paulo

2017

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Faculdade de Ciências Farmacêuticas

Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Bioquímica-Farmacêutica

Área de Tecnologia de Alimentos

Mesocarpo do pequi (*Caryocar villosum* Alb. Pers.): incorporação em formulação de chocolate amargo com vista a agregação de valor nutricional.

Natasha Dantas Lorenzo

Versão corrigida da Dissertação/Tese conforme resolução CoPGr 6018.
O original encontra-se disponível no Serviço de Pós-Graduação da FCF/USP.

Dissertação para obtenção do Título de Mestre

Orientador: Profa. Dra. Suzana Caetano da Silva Lannes

Co-Orientador: Profa. Dra. Orquídea Vasconcelos dos Santos

São Paulo

2017

Ficha Catalográfica
Elaborada pela Divisão de Biblioteca e
Documentação do Conjunto das Químicas da USP.

Lorenzo, Natasha Dantas
L869m Mesocarpo do pequi (*Caryocar villosum* Alb. Pers.): incorporação em formulação de chocolate amargo com vista a agregação de valor nutricional / Natasha Dantas Lorenzo. -- São Paulo, 2017.
124p.

Dissertação (mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. Departamento de Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica.
Orientador: Lannes, Suzana Caetano da Silva
Co-orientador: Santos, Orquídea Vasconcelos dos

1. Chocolate : Tecnologia de alimentos 2. Alimentos formulados I. T. II. Lannes, Suzana Caetano da Silva, orientador III. Santos, Orquídea Vasconcelos dos, co-orientador.

664.5 CDD

Natasha Dantas Lorenzo

Mesocarpo do pequi (*Caryocar villosum* Alb. Pers.): incorporação em formulação de chocolate amargo com vista a agregação de valor nutricional.

Comissão Julgadora
da
Dissertação para obtenção do Título de Mestre

Profa. Dra. Suzana Caetano da Silva Lannes
orientadora

_____
1º. examinador

_____
2º. examinador

_____
3º. examinador

São Paulo, _____ de_____

Dedico este trabalho a minha família por ter me apoiado e incentivado nesta etapa que se conclui e pelas próximas que virão.

AGRADECIMENTOS

Eu gostaria de agradecer a professora Dra. Suzana Caetano da Silva Lannes, por ter me orientado durante todo o percurso do mestrado e de mostrar novos caminhos e expandir meus conhecimentos e senso crítico.

Também gostaria de agradecer a professora Dra. Orquídea Vasconcelos dos Santos, por ter me guiado até a professora Suzana Lannes, e assim estender meus horizontes na área acadêmica.

Agradeço aos técnicos: Alexandre, Ivani e Nilton, por todo o suporte em laboratório, ao Sr. Alceu, do Instituto de Química, da Universidade de São Paulo, por ter me auxiliado na análise térmica e de infravermelho, mesmo dispondo de pouco tempo demostrou paciência em me ensinar a utilizar os equipamentos e os softwares necessários.

Agradeço as minhas amigas do laboratório Ingryd Campos, Juliana Carvalho, Simone Tessarini, Raquel Rios, por sempre me ajudarem e pela paciência que me dedicaram, amigas que se mostraram presentes tanto dentro como fora do laboratório.

As minhas amigas Amanda Viana, Suzana Costa, Ivy Szot, Mariana Alves, Constanza Vélez Caro e Aysla Tavares, pessoas que em pouco tempo de convivência se mostraram essenciais nestes dois anos e que levarei suas experiências e conselhos para sempre.

A Faculdade de Nutrição, da Universidade Federal do Pará, por me ceder seu espaço e os equipamentos do Laboratório de Alimentos, a Amanda Souza por se disponibilizar do seu tempo e me auxiliar em minhas análises.

Ao departamento de Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica, da Universidade de São Paulo, por ter me acolhido e por ter me proporcionado dois anos de aprendizado inesquecíveis.

A CAPES que por meio da bolsa de iniciação cientifica pude custear este projeto.

E a todos que contribuíram, direta ou indiretamente, para a concretização deste trabalho.

“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas Graças a Deus, não sou o que era antes”.

(Martin Luther King)

LORENZO, N. D. **Mesocarpo do pequi (*Caryocar villosum* alb. pers.): incorporação em formulação de chocolate amargo com vista a agregação de valor nutricional**. 2017. 124f. Dissertação de Mestrado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2017.

RESUMO

As perspectivas são promissoras para a exploração de espécies não tradicionais de frutas tropicais com compostos de interesse nutricional e capacidade antioxidante. Dentre as frutas que apresentam relevantes quantidades de nutrientes, podemos destacar o pequi (*Caryocar villosum* Alb. Pers.). Na sua forma *in natura*, possui concentrações expressivas de compostos fenólicos e carotenoides totais, principalmente na polpa, sendo o óleo extraído rico em ácidos graxos. Diversos estudos sobre o cacau relacionam sua alta capacidade antioxidante com sua grande concentração de compostos fenólicos. O objetivo deste estudo foi a utilização do mesocarpo do pequi liofilizado na incorporação em formulação de chocolate amargo com vista à agregação de valor nutricional. No mesocarpo do pequi liofilizado foi verificada a granulometria, biometria, composição centesimal, carotenoides e microscopia eletrônica de varredura. No óleo extraído do mesocarpo do pequi liofilizado foi avaliada a composição em ácidos graxos e colorimetria, bem como a qualidade e funcionalidade nos perfis lipídicos pelos índices de composição: Índice de Aterogenicidade (I.A), Índice de Trombogenicidade (I.T) e a razão hipocolesterolêmica e hipercolesterolêmica (H.H). Adicionou-se 1,5% de mesocarpo liofilizado na formulação de chocolate amargo determinando-se tamanho de partícula, índice de temperagem, parâmetros físico-químicos, reologia, análise térmica, capacidade antioxidante total pelos métodos de redução do ferro e DPPH, e determinação de fenólicos totais. Como resultado observou-se principalmente a presença dos ácidos graxo palmítico (26,5 %), oleico (52,67 %) e linoleico (15,2 %) no óleo da polpa. Com a adição de 1,5 % de mesocarpo de pequi liofilizado não houve aumento significativo ($p<0,05$) do tamanho de partículas da massa do chocolate formulado, não aumentando sua viscosidade e a tensão inicial. A análise de fenólicos totais mostrou um aumento da concentração destes compostos na formulação de chocolate com adição do mesocarpo do pequi liofilizado (813,49 µg GAE.mL^{-1}) em relação à formulação padrão de chocolate amargo (235,98 µg GAE.mL^{-1}), mostrando o grande potencial que este fruto oferece. Na análise de atividade antioxidante, frente ao radical

DPPH, houve um aumento da concentração de antioxidantes na formulação de chocolate com adição do mesocarpo do pequi liofilizado (151,65 mg/L) em relação à formulação padrão de chocolate amargo (158,87 mg/L). Na curva de resfriamento da manteiga de cacau encontrou-se o valor BCI (*Buhler Crystallization Index*) de 3,7 ± 0,00, sendo considerado adequado para produção de chocolates. Houve um aumento da temperatura inicial da temperagem e uma diminuição do tempo total do processo com a adição do óleo de pequi na massa do chocolate em relação à formulação controle. A análise térmica indicou que o óleo de pequi suporta temperaturas de até 300°C, e os chocolates até 50°C. Os índices de funcionalidade do óleo de pequi demostraram que o mesmo possui baixa capacidade de aterogenicidade (0,38), a relação poliinsaturado/ saturado apresentou-se na faixa indicada como benéfica à saúde (0,61), assim como o índice hipocolesterolêmico/ hipercolesterolêmico que se apresentou adequado (2,58). Concluindo-se que houve o aumento no potencial nutricional do chocolate com a adição da polpa de pequi liofilizada, sem alterar estatisticamente suas propriedades reológicas.

Palavras chaves: Pequi, propriedades antioxidante, chocolate, compostos bioativos.

LORENZO, N. D. **Mesocarp of pequi (Caryocar villosum alb. pers.)**: **incorporation in bitter chocolate formulation with a view to aggregation of nutritional value**. 2017. 124f. Dissertação de Mestrado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2017.

ABSTRACT

The perspectives are promising for the exploration of non-traditional species of tropical fruits with compounds of nutritional interest and antioxidant capacity. Among the fruits that present relevant amounts of nutrients, we can highlight pequi (*Caryocar villosum* Alb. Pers.). In its natural form, it has expressive concentrations of phenolic compounds and total carotenoids, mainly in the pulp, being the extracted oil rich in fatty acids. Several studies about cocoa relate its high antioxidant capacity to its high concentration of phenolic compounds. The objective of this study was the utilization of freeze-dried mesocarp of pequi in the incorporation on bitter chocolate formulation with a view to aggregating nutritional value. In the freeze-dried mesocarp of pequi was verified the granulometry, biometry, centesimal composition, carotenoids and scanning electron microscopy. In the extracted oil of freeze-dried mesocarp of pequi was evaluated the composition of fatty acids and colorimetry, as well the quality and the functionality in the lipids profile by the index of composition: Aterogenicity Index (A.I.), Thrombogenicity Index (T.I.) and hypocholesterolemic and hypercholesterolemic ratio (H.H.). It was added 1.5% of freeze-dried mesocarp in the formulation of bitter chocolate determining particle size, temper index, physico-chemical parameters, rheology, thermal analysis, total antioxidants capacity by reduction of iron and DPPH methods, and determination of total phenolics. As a result, it was observed the main presence of palmitic (26.5%), oleic (52.67%) and linoleic (15.2%) acids in the pulp of the oil. With the addition of 1.5 % of freeze-dried mesocarp of pequi there was no significant increase ($p<0.05$) in the particle size of the formulated chocolate mass, without increasing its viscosity and initial tension. The analysis of total phenolics showed an increase in the concentration of these compounds in the chocolate formulation with the addition of the freeze-dried mesocarp (813.49 $\mu gGAE.mL^{-1}$) in relation to the standard bitter chocolate formulation (235.98 $\mu gGAE.mL^{-1}$), showing the great potential that this fruit offers. In the analysis of antioxidant activity, against the radical DPPH, there was an increase in the concentration of antioxidants in the

chocolate formulation with the addition of the freeze-dried mesocarp (151,65 mg/L) in relation to the standard bitter chocolate formulation (158.87 mg/L). In the cooling curve of cocoa butter it was found the BCI value (Buhler Crystallization Index) of 3.7 ± 0.00 being considered suitable for manufacturing of chocolates. It was occurred an increase of the initial temperature of tempering and a decrease of the total processes time with the addition of pequi oil in the chocolate mass. The thermal analysis indicated that pequi oil supports temperatures of up to 300°C, and the chocolates up to 50°C. The functional indexes of pequi oil showed that it had a low atherogenic capacity (0.38), the polyunsaturated / saturated ratio was in the range indicated as beneficial to health (0.61), as well as the index hypocholesterolemic/ Hypercholesterolemic was adequate (2,58). It was concluded that there was an increase in the nutritional potential of the chocolate with the addition of lyophilized pequi pulp, without statistically altering its rheological properties.

Key words: Pequi, antioxidant properties, chocolate, bioactive compounds.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Pequizeiro *Caryocar villosum* (Aubl) Pers..... 26

Figura 2: Tronco do pequizeiro..... 26

Figura 3: Fruto pequi (*Caryocar villosum* (Aubl) Pers.) inteiro (esquerda) e as flores do pequizeiro (direita)..... 27

Figura 4: Corte da semente mostrando a amêndoa (direita) e o mesocarpo, endocarpo e semente (esquerda) do pequi (*Caryocar villosum* (Aubl) Pers.)..... 28

Figura 5: Fluxograma de produção de chocolate amargo..... 51

Figura 6: Massas de polpa de pequi liofilizada retidas nas peneiras com suas respectivas aberturas..... 60

Figura 7: Estrutura geral da polpa de pequi (A) e estrutura com granulo de amido (B)..... 64

Figura 8: Estrutura fibrosa da polpa de pequi encontrada em espectroscopia a 100 µm..... 65

Figura 9: Infravermelho da polpa de pequi liofilizada por transmitância..... 66

Figura 10: Coordenada de cor determinadas pelo CIElab..... 75

Figura 11: Região do espectro de infravermelho pelo método ATR do óleo da polpa de pequi..... 76

Figura 12: Análise termogravimétrica e derivada do óleo da polpa de pequi..... 78

Figura 13: Curva da análise térmica diferencial exploratória (DSC-*Diferencial Scanning Calorimetry*) do óleo de pequi..... 80

Figura 14: Curvas de resfriamento de manteiga de cacau..... 83

Figura 15: Curvas de temperagem dos chocolates padrão (esquerda) e adicionado de polpa de pequi liofilizada (direita)..... 84

Figura 16: Análise térmica diferencial exploratória (DSC-*Diferencial Scanning Calorimetry*) do chocolate padrão..... 91

Figura 17: Curva da análise térmica diferencial exploratória (DSC-*Diferencial Scanning Calorimetry*) do chocolate adicionado com 1,5% de polpa de pequi liofilizada..... 92

Figura 18: Curva padrão de ácido gálico..... 93

Figura 19: Curvas dos extratos do líquor de cacau, da polpa de pequi, do chocolate padrão e do chocolate adicionado com polpa de pequi liofilizada a partir do radical DPPH..... 95

Figura 20: Curva padrão de sulfato ferroso..... 96

Figura 21: Curvas dos extratos de líquor de cacau, da polpa de pequi, do chocolate padrão e do chocolate adicionado com polpa de pequi liofilizada pelo método FRAP..... 97

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Quantificação centesimal do mesocarpo do pequi (*Caryocar villosum*) por outros autores..... 29

Tabela 2: Valores de minerais obtidos por Machado et al. (2015) na polpa de pequi (*Caryocar villosum*)..... 30

Tabela 3: Diferenças de composição de valor calórico e flavonóis em chocolates amargo, ao leite e branco..... 41

Tabela 4: Tamises utilizadas na análise granulométrica da polpa de pequi liofilizada..... 47

Tabela 5: Produtos utilizados na elaboração de chocolate amargo..... 50

Tabela 6: Formulações de chocolate amargo..... 51

Tabela 7: Resultados da análise microbiológica..... 57

Tabela 8: Resultados biométricos do fruto pequi (*C. villosum* (Aubl) Pers.)..... 57

Tabela 9: Análises físicas e químicas do mesocarpo de pequi *in natura*..... 58

Tabela 10: Resultado da análise granulométrica pelo método algébrico da polpa de pequi liofilizada..... 59

Tabela 11: Valores obtidos na composição centesimal da polpa de pequi comparando aos encontrados em literatura..... 61

Tabela 12: Resultado de carotenoides do mesocarpo de pequi em base seca comparado aos resultados encontrados em literatura..... 63

Tabela 13: Resultados da caracterização físico-químicas do óleo da polpa de pequi..... 68

Tabela 14: Composição de ácidos graxos do óleo da polpa de pequi obtida por cromatografia gasosa..... 71

Tabela 15: Índices de qualidade funcional do óleo da polpa de pequi. 73

Tabela 16: Resultados colorimétricos do óleo da polpa de pequi..... 75

Tabela 17: Resultados das análises físico-químicas do líquor de cacau..... 81

Tabela 18: Composição centesimal do líquor de cacau..... 82

Tabela 19: Resultados das curvas de resfriamento da manteiga de cacau..... 83

Tabela 20: Resultados das curvas de temperagem dos chocolates padrão e adicionado de polpa de pequi liofilizada..... 85

Tabela 21: Resultados das análises físico-químicas dos chocolates... 86

Tabela 22: Resultado da composição centesimal do chocolate padrão e do chocolate adicionado de polpa de pequi liofilizada..... 87

Tabela 23: Parâmetros de Casson para as formulações de chocolate amargo..... 89

Tabela 24: Resultados de fenólicos totais obtidos através da curva padrão de ácido gálico nas amostras de polpa de pequi liofilizada, líquor de cacau, chocolate padrão e chocolate adicionado de polpa de pequi liofilizada..... 93

Tabela 25: Resultados da atividade antioxidante contra o radical DPPH..... 95

Tabela 26: Resultados obtidos através da curva da reta do padrão do sulfato ferroso..... 97

LISTA DE QUADROS

Quadro 1: Intervalos de frequência de grupos para compostos orgânicos..... 67

LISTA DE EQUAÇÕES

Equação 1: Equação para cálculo de porcentagem de material retido nas peneiras..... 47

Equação 2: Índice de aterogenicidade (I. A)..... 49

Equação 3: Índice de trombogenicidade (I. T)..... 49

Equação 4: Razão hipocolesterolêmicos e hipercolesterolêmico (H. H).. 49

Equação 5: Equação do Chroma..... 50

Equação 6: Equação do ângulo HUE..... 50

Equação 7: Modelo de Casson..... 53

LISTA DE SIGLAS

ATR	*Attenuance Total Reflectance*
BCI ™	*Buhler Crystallization Index*™.
CEASAS	Centro de comercialização, centrais de abastecimento.
CLA	C18,2 10 trans, 12 cis.
CONAB	Companhia Nacional de Abastecimento.
DNA	Ácido desoxirribonucleico.
DPPH	2,2 – difenil -1- picrilhidrazila.
DSC	Calorimétrica Diferencial Exploratória.
DTG	Análise Térmica Derivada.
ERNs	Espécies Reativas de Nitrogênio.
EROs	Espécies Reativas de Oxigênio.
Flona	Florestas Nacionais ou Estaduais.
FRAP	*Ferric Reducing Antioxidant Power*.
HDL	Lipoproteína de Alta Densidade.
H.H.	Razão Hipocolesterolêmicos e Hipercolesterolêmico.
I.A.	Índice de Aterogenicidade.
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística.
I.T.	Índice de Trombogenicidade.
LDL	Lipoproteína de Baixa Densidade.
OMS	Organização Mundial da Saúde.
RDS	Reserva de Uso Sustentável.
Resex	Reservas Extrativistas.
TAG	Triacilgliceróis.
TG	Termogravimetria.

T.I.	*Temper Index.*
TPTZ	2,4,6 – Tri (2-pyridyl) – s – Triazine.
UV	Ultravioleta
VET	Valor Energético Total.
VLDL	Lipoproteína de Densidade Muito Baixa.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO..... 23

2. REFERENCIAL TEÓRICO..... 25

2.1. Distribuição geográfica..... 25

2.2. Descrição botânica..... 25

2.2.1. Casca, ramificação e copa do pequizeiro..... 26
2.2.2. Folhas, flores e frutos do pequizeiro..... 27

2.3. Características do fruto do pequizeiro e sua produção..... 28

2.4. Propriedades funcionais do pequi..... 31

2.5. Radicais livres e seus efeitos..... 35

2.6. Antioxidantes..... 35

2.7. Compostos fenólicos..... 37

2.7.1. Compostos fenólicos em vegetais..... 39

2.8. Cacau e chocolate..... 40

2.8.1. Propriedades antioxidantes do chocolate e seus benefícios..... 42

3. OBJETIVOS..... 44

3.1. Geral..... 44

3.2. Específico..... 44

4. MATERIAL E MÉTODOS..... 45

4.1. Colheita dos frutos..... 45

4.2. Preparo das amostras..... 45

4.3. Análise microbiológica..... 45

4.4. Análise biométrica..... 46

4.5. Sólidos solúveis..... 46

4.6. Acidez total titulável..... 46

4.7. pH..... 46

4.8. Análises físico-químicas da polpa de pequi liofilizada..... 46

4.9. Análise granulométrica..... 47

4.10. Análise de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)..... 48

4.11. Óleo..... 48

4.11.1. Índices de qualidade funcional do óleo do mesocarpo do pequi..... 49

4.12. Análise colorimétrica..... 49

4.13. Chocolate..... 50

4.13.1. Material..... 50
4.13.2. Produção de chocolate..... 50
4.13.3. Curva de resfriamento da manteiga de cacau e curva de temperagem das formulações de chocolate..... 52
4.13.4. Determinação do tamanho de partículas dos chocolates..... 52
4.13.5. Reologia..... 52
4.13.6. Determinação de umidade..... 53
4.13.7. Determinação de conteúdo mineral..... 53
4.13.8. Determinação de lipídios..... 53
4.13.9. Determinação de proteínas..... 53
4.13.10. Determinação de atividade de água..... 53
4.13.11. Análise calorimétrica diferencial exploratória (DSC)..... 54

4.14. Determinação da capacidade antioxidante..... 54

4.14.1. Extração de compostos fenólicos..... 54
4.14.2. Método DPPH (2,2 – difenil -1- picrilhidrazila) para a polpa liofilizada do mesocarpo de pequi, líquor de cacau e formulações de chocolate..... 54
4.14.3. Método de determinação de fenólicos totais para a polpa do mesocarpo de pequi liofilizada, líquor de cacau e formulações de chocolate..... 55
4.14.4. Determinação da atividade antioxidante total pelo método de redução do ferro (FRAP) para o mesocarpo de pequi liofilizado, líquor de cacau e formulações de chocolate..... 55

4.15. Análise estatística..... 56

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO..... 56

5.1. Caracterização do fruto pequi..... 56
5.1.1. Análise microbiológica..... 56
5.1.2. Análise biométrica..... 57

5.1.3. Análises físico-químicas..... 58
5.1.4. Análise granulométrica..... 59
5.1.5. Composição centesimal..... 60
5.1.6. Análise de carotenoides..... 62
5.1.7. Análise de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)..... 64
5.1.8. Análise de infravermelho da polpa do mesocarpo do pequi liofilizada..... 65

5.2. Caracterização do óleo do mesocarpo de pequi..... 68

5.1.2. Análises físico-químicas do óleo do mesocarpo de pequi..... 68
5.2.2. Composição do material graxo do óleo da polpa de pequi..... 71
5.2.3. Análise colorimétrica..... 74
5.2.4. Análise de infravermelho do óleo da polpa de pequi..... 76
5.2.5. Análise térmica do óleo da polpa de pequi..... 78
5.2.5.1. Análise termogravimétrica e diferencial (TG/DTA)..... 78
5.2.5.2. Análise calorimétrica diferencial exploratória (DSC)..... 80

5.3. Líquor de cacau..... 81

5.3.1. Análise física do líquor de cacau..... 81
5.3.2. Composição centesimal do líquor de cacau..... 82

5.4. Chocolate..... 82

5.4.1. Curva de resfriamento da manteiga de cacau e curva de temperagem dos chocolates padrão e adicionado de polpa de pequi liofilizada..... 82
5.4.2. Análises físico-químicas do chocolate..... 86
5.4.3. Composição centesimal dos chocolates formulados..... 86
5.4.4. Reologia..... 88
5.4.5. Análise térmica..... 90

5.5. Análise de quantificação de fenólicos totais..... 92

5.6. Análise de antioxidante frente ao radical DPPH..... 94

5.7. Determinação da atividade antioxidante total pelo Método de Redução do Ferro (FRAP)..... 96

6. CONCLUSÃO..... 99

7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS..... 100

8. REFERENCIAS..... 101

ANEXO A – CURVAS DOS EXTRATOS DE DPPH COM O RADICAL DPPH..... 121

ANEXO B – CURVAS DOS EXTRATOS PELO MÉTODO DE REDUÇÃO DO FERRO (FRAP)..... 123

1. INTRODUÇÃO

Diante do crescente reconhecimento do valor nutricional e terapêutico das frutas tropicais, seu consumo vem aumentando nos mercados interno e internacional. As perspectivas são promissoras para a exploração de espécies não tradicionais de frutas tropicais com compostos de interesse nutricional e de capacidade antioxidante. Dentre as frutas que apresentam relevantes quantidades de nutrientes podemos destacar o pequi.

Na sua forma *in natura* possui concentrações expressivas de compostos fenólicos e carotenoides totais, principalmente na polpa (OLIVEIRA, 2010). O óleo do mesocarpo do pequi é similar em sua composição de ácidos graxos ao óleo do mesocarpo do dendê. Em indústrias locais do interior do estado do Pará se produz o óleo de pequi para fins culinários, além de ser usado em atividades antifúngicas e aliviar dores musculares e reumatismo (CLAY et al., 2000; RUFINO et al., 2010; OLIVEIRA, 2010).

Além do seu óleo, a polpa do mesocarpo de pequi é rica em antioxidantes, compostos que retardam a ação dos radicais livres, podendo ser altamente reativos, especialmente os derivados do oxigênio, sendo gerados de forma intrínseca (produzida pelo organismo, com associação metabólica) e extrínseca (radiação ultravioleta, fatores ambientais, poluição, e estilo de vida). Esses radicais podem oxidar biomoléculas (DNA, vitaminas, lipídios, proteínas), resultando na morte da célula e danos aos tecidos, ocasionando reações que estão ligadas a doenças como câncer, aterosclerose, diabetes, artrite, doenças cardiovasculares e doenças do envelhecimento (OLIVEIRA, 2010; ACHKAR et al., 2013; LUSHCHAK, 2014; KAMMEYER, LUITEN, 2015).

Entretanto, o sistema humano possui um sistema de defesa próprio que inclui enzimas antioxidantes. Quando a quantidade de geração de espécies reativas de oxigênio (EROs) excede o limite dos mecanismos de defesa antioxidante ocorre o desequilíbrio levando ao estresse oxidativo, perturbando o metabolismo celular e sua regulação sendo prejudiciais aos constituintes celulares (OLIVEIRA, 2010; KAMMEYER, LUITEN, 2015). Para evitar o aparecimento de doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) e o estresse oxidativo no organismo, estudos apontam como

solução prática o aumento do consumo de alimentos ricos em antioxidante, como frutas e vegetais (MATSUURA et al., 2008).

O Brasil ocupa o terceiro lugar no ranking dos países produtores de chocolate e está em quarto lugar entre os países consumidores de chocolate e derivados no mundo (ABICAB, 2015). O chocolate, por possuir um alto nível energético, ao ser consumido em excesso, pode levar ao aumento de peso, contudo, ao ser consumido moderadamente pode trazer vários benefícios a saúde (FERNÁNDEZ-MURGA et al., 2011; KATZ et al., 2011). Esses benefícios estão relacionados com a presença de polifenóis que possuem efeitos antioxidantes e a presença das metilxantinas, que incluem a cafeína e teobromina, que por sua vez desempenham função de estimulação do sistema nervoso central (SNC) (LAMBERT, 2009).

Para aumentar os benefícios relevantes a concentração de antioxidantes dos chocolates, tem-se adicionado frutas com alta capacidade antioxidante. Komes et al. (2013) adicionaram frutas secas às formulações de chocolate, com o intuito de se conseguir um chocolate com maior capacidade antioxidante. A análise sensorial realizada pelos autores, os chocolates contendo Cranberries foram bem aceitos. Dean et al (2016), minimizou os atributos negativos de chocolate ao leite fortificado com extratos da casca de amendoim encapsulado e avaliou a aceitação do consumidor pelo produto, também se identificou a capacidade antioxidante (método DPPH) dos chocolates controle e adicionado com casca de amendoim, onde, o chocolate ao leite adicionado com casca de amendoim obteve um aumento da capacidade antioxidante, excedendo o do chocolate amargo comercial utilizado como parâmetro. Gültekin-Özgüven et al. (2016), onde fortificaram o chocolate amargo com o extrato de amora preta (Morus nigra) encapsulada com revestimento de quitosana, pelo método de pulverização, o encapsulamento reforçou a bioacessibilidade das antocianinas presentes no chocolate.

Diante de novas formas de expansão desses produtos no mercado, o presente trabalho tem como objetivo a incorporação da polpa liofilizada do mesocarpo do pequi (*Caryocar villosum* alb. pers), com vista a agregação nutricional, em formulação de chocolate amargo, proporcionando um aumento na capacidade antioxidante do chocolate.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. Distribuição geográfica do pequi.

O pequi, também conhecido como piquiá no estado do Pará, é proveniente da América do Sul e Central (Costa Rica e Paraguai), sendo bastante comum nas Guianas e na Amazônia. No Brasil, na região Norte do país se propaga por 7 estados (Pará, Maranhão, Amazonas, Rondônia, Roraima, Acre e Amapá), Amazônia Oriental, a espécie *Caryocar villosum*, no Nordeste, na região do cerrado, *Caryocar cortaceum* e *Caryocar cuneatum* e nas regiões Sudeste e Central há presença das espécies *Caryocar brasiliense* subsp. australe e *Caryocar brasiliense* subsp. brasiliense (BEZERRA et al.,2007; MAIA et al., 2008; PRANCE & SILVA, 2008; XAVIER et al.,2011; PESSOA et al., 2015).

2.2. Descrição botânica

O gênero Caryocar L. possui 25 espécies com dois gêneros, *Caryocar* e *Anthodisco*, pertencentes a família *Caryocaraceae*. Seu fruto é popularmente conhecido no Brasil como, piquiá, pequi, piquí, piquitá – bravo, amêndoa – de – espinho, grão – de – cavalo, pequtá, pequtá – pedra, pequerim e *stuart* (MAIA et al., 2008; PRANCE, SILVA, 1973; XAVIER et al.,2011; PESSOA et al., 2015). Na figura 1 é mostrado o pequizeiro, onde se realizou a coleta dos frutos usados neste trabalho.

Figura 1: Pequizeiro *Caryocar villosum (*Aubl) Pers.

Fonte: autor

2.2.1. Casca, ramificação e copa do pequizeiro.

A Figura 2 mostra a coloração da casca e a caracterização do tronco e copa do pequizeiro, podendo atingir alturas que variam de 40 m a 50 m, com aproximadamente 2,5 m de diâmetro (BEZERRA et al.,2007; CHISTÉ & MERCADANTE, 2012).

Figura 2: Tronco do pequizeiro

Fonte: autor

2.2.2. Folhas, flores e fruto do pequizeiro.

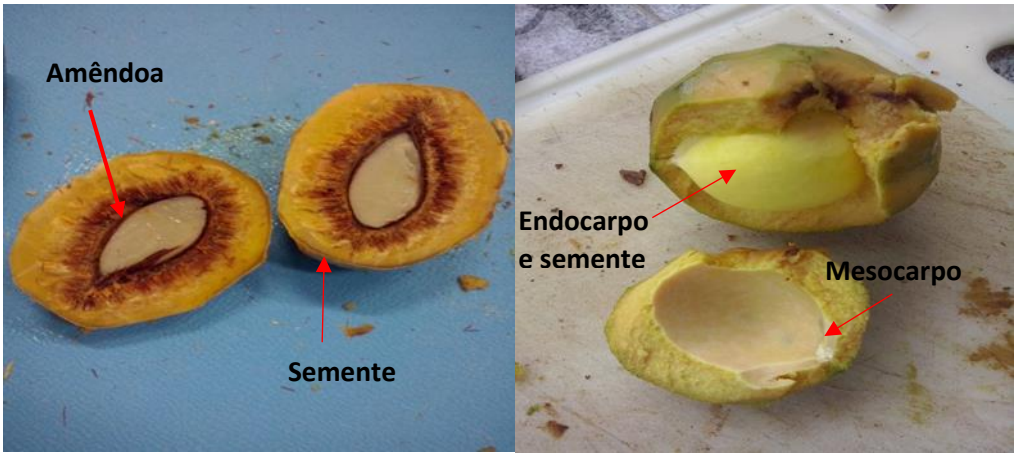
As folhas são grandes, semi – coriáceas[1] possuindo pecíolos[2] longos, constituída de três folíolos, são um dos limbos parciais da folha, com margem denteada, onde encontram-se tricomas conspícuos[3] na fase abaxial[4]. O período de floração acorre de agosto a outubro, suas flores são hermafroditas possuindo corola amarela e branca e estames amarelos (Figura 3). Os frutos são produzidos bianualmente, com grande variabilidade na produção, ocorrendo nos meses de março a maio (PRANCE & SILVA,1973; GALUPPO, 2004; BEZERRA et al.,2007; XAVIER, 2011).

Figura 3: Fruto pequi (*Caryocar villosum* (Aubl) Pers.) inteiro (esquerda) e as flores do pequizeiro (direita).

Fonte: autor.

O fruto (pequi - *Caryocar villosum* (Aubl) Pers.) mostrado na Figura 4 é considerado uma drupa, contém uma ou duas sementes, embora seja possível encontrar frutos com até quatro sementes, sendo duas grandes e volumosas e duas pequenas. A casca é fina, de cor cinza-amarronzada e moderadamente macia. O mesocarpo é grosso e carnudo. Quando maduro, apresenta epicarpo de coloração verde-clara a levemente amarelada. A semente é rígida e espinhosa, sendo uma característica do gênero.

Figura 4: Corte da semente mostrando a amêndoa (direita) e o mesocarpo, endocarpo e semente (esquerda) do pequi (*Caryocar villosum* (Aubl) Pers.).



Fonte: autor.

A massa que recobre as sementes (endocarpo) pode apresentar cor amarela, laranja, rósea ou esbranquiçada, também pastosa, farinácea e oleaginosa. A semente é pequena, branca e oleosa, conforme mostrado na Figura 4 (CORNER, 1976; FERREIRA et al., 1988; SHANLEY, MEDINA, 2005; BEZERRA et al.,2007; XAVIER, 2011; CHISTÉ, MERCADANTE, 2012).

2.3. Características do fruto do pequizeiro e sua produção.

As características físico-químicas do pequi, apresentam uma considerável variabilidade, tendência comumente observada em frutos de plantas oriundas de propagação por semente. Os frutos são colhidos quando caem, pois, quando coletados na árvore têm menor qualidade nutricional. Além disso, embora o pequi seja considerado maduro logo que cai da árvore, o processo de maturação continua após a queda natural (GONÇALVES, 2007; OLIVEIRA, 2010). Na Tabela 1 estão as quantificações centesimais dos macronutrientes do mesocarpo do pequi, encontradas por alguns autores, na mesma espécie (*Caryocar villosum*).

Tabela 1: Quantificação centesimal do mesocarpo do pequi (*Caryocar villosum*) por outros autores.

Valor calórico (kcal)	Lipídios (g)	Proteínas (g)	Carboidratos (g)	Fibras (g)	Cinzas (g)	Autores
296,55	14,63	1,80	39,42	*	0,45	Berto et al (2015)
290,67	25,5	3,7	18,0	*	1,1	Chisté e Mercadante (2012)

358,4	25,6	1,8	30,4	0,6	0,5	Souza et al (1996)

(*) dados não disponíveis

Em Bezerra et al (2007) o teor de proteína bruta observado na polpa ou mesocarpo foi de 4,53%, sendo este valor superior aos relatados por Shanley & Medina (2005) com 3% e por Souza et al. (1996) de 1,8%. Em relação às proteínas, os teores encontrados por Oliveira et al. (2004), variam de 6,71% a 13,5% superiores aos encontrados no abacate que é, em média, 1,8% (FRANCO, 1992).

Em relação ao teor de material graxo, o ensaio realizado por Souza et al. (1996) revelou 25,6%, similar ao encontrado por Chisté e Mercadante (2012), contudo, Berto et al. (2015) obteve 14,63% tal valor pode ser explicado devido aos autores terem usado extração lipídica por Bligh and Dyer, ou por fatores interferentes como região de plantio, cultivo, mostrando a influência das características edafoclimáticas de cada região (SOUTO et al.,2008).

A porcentagem de cinzas, determinada por Berto et al. (2015) foi de 0,45%, enquanto na amêndoa 3,35%, indicando que os minerais se concentram nessa parte do fruto.

Os minerais são substâncias inorgânicas que ajudam a regular as funções do corpo (ROACH, 2009). Podem ser classificados como eletrólitos (potássio, cloro e sódio), macrominerais (cálcio, fósforo, magnésio e enxofre), e microminerais ou elementos traços (ferro, zinco, cobre, iodo, cromo, selênio, manganês, molibdênio e níquel), (MANGANARO, 2008). Os elementos traços são essenciais para o funcionamento adequado do organismo e necessários em pequenas quantidades (ROACH, 2009). Na Tabela 2, estão demostrados os valores de minerais obtidos por Machado et al. (2015) na polpa de pequi da espécie *C. villosum.*

Tabela 2: Valores de minerais obtidos por Machado et al. (2015) na polpa de pequi (*Caryocar villosum*).

Minerais	**Polpa mg/100 g**
Mn	6,84 ± 0,13
Zn	0,93 ± 0,02
Cu	1,40 ± 0,02
Fe	0,98 ± 0,02
Mg	195,89 ± 3,56
Na	21,46 ± 0,39
P	4,52 ± 0,01

Segundo estudo conduzido por Marx (1997), constatou-se que no fruto de pequi contém uma quantidade de selênio considerável, com 70 µg/ 100 g sendo considerado elevado se comparado com as recomendações diárias de 50 – 200 µg/dia para adultos, segundo a OMS. Na Tabela 2 a polpa do fruto apresentou quantidades consideráveis de sódio, magnésio e manganês. Baixas concentrações de selênio e zinco podem ser úteis como minerais “antioxidante” envolvido nos mecanismos celulares de defesa contra os radicais livres (BARBOSA et al, 2010; KAMMEYER, LUITEN, 2015).

A produção de pequi no Brasil, segundo a Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (2010), a exploração do pequi ainda é feita apenas de forma extrativista e há poucas iniciativas de cultivo comercial. No período da safra, muitas pessoas coletam e comercializam os frutos e caroços naturais ou processados, principalmente como polpa e óleo, sendo a coleta dos frutos feita nas próprias terras dos extrativistas, em reservas de uso sustentável - como as Reservas Extrativistas (Resex), Reservas de Uso Sustentável (RDS) e Florestas Nacionais (Flona) ou Estaduais - ou em propriedades de terceiros.

Devido ao seu valor nutricional e aumento da demanda pelo óleo, a amêndoa de pequi foi se destacando pelo constante crescimento na produção nacional até 2011, porém, em 2012, o IBGE passou a inserir os dados de produção do fruto de pequi na estatística, inserindo, também, as informações na classificação de “outros” produtos alimentícios. Em função dos ajustes feitos na base de dados do IBGE, as informações sobre a amêndoa de pequi para os anos de 2012 e 2013 ainda precisam ser revisadas para representar a realidade. Entretanto, o preço médio nominal da amêndoa oscilou ao longo do período analisado e o valor obtido com a atividade chegou a R$ 11.113.000,00 em 2011, sendo observado um decréscimo, em 2013, chegando a R$ 4.205.000,00 (CONAB, 2015).

Em 2013, o estado de Minas Gerais apresentou a maior participação na produção nacional de amêndoa, com 48,2%, chegando a 1.438 toneladas. Já a participação das produções do Ceará e do Pará foi de 14,8% e 15,8%, chegando, respectivamente, a 440 e 471 toneladas. Esses três estados foram responsáveis por 78,77% da produção nacional de amêndoa de pequi. Desde 2003, o estado do Ceará passou a ser o maior produtor de amêndoa de pequi, mantendo-se ao longo dos anos como um dos maiores do ranking nacional. A partir de 2012, em função na mudança

da base de dados do IBGE, o estado do Pará passou ser o maior produtor no Brasil. O estado de Minas Gerais se manteve em segundo lugar no volume de produção durante o período de 2003 a 2011 (CONAB, 2015).

Ainda, segundo o IBGE e a Conab, a produção total do fruto pequi no Brasil, chega a 8.955 toneladas em 2013, para a Embrapa – cerrados a demanda de produtos oriundos de espécies nativas e de sabores exóticos é crescente, tanto no mercado interno quanto no externo. A produção não atende a essa demanda, devido ao pequeno volume comercializado informalmente (CONAB, 2015).

O fruto *in natura* e o óleo da polpa são vendidos à margem das rodovias e também para atravessadores que destinam os frutos e seus produtos para os centros de comercialização, centrais de abastecimento (CEASAS) e mercados municipais (OLIVEIRA, 2010). Em relação ao consumo e comercialização municipal do fruto pequi, existem carências de estatísticas oficiais, apesar disso, observa-se que ele é bastante utilizado em pratos típicos regionais e no comercio em feiras e mercados durante seu período de safra (GONÇALVES, 2007; OLIVEIRA, 2010). Apesar disso ainda se é muito utilizada a madeira do pequizeiro para construções navais, no Brasil há uma lei federal de proteção aos pequizeiros (Lei n° 13.965, de 2001), contudo, se restringe ao Parque Nacional do Pequizeiros, Planaltina, no Distrito Federal (SILVA, JESUS, 2008, OLIVEIRA,2010).

2.4. Propriedades funcionais do Pequi.

Uma dieta rica em frutas tem um papel importante na promoção da saúde e tem sido relacionada com a prevenção da doença por diferentes mecanismos. Os compostos antioxidantes e o óleo presentes nas frutas são indicados como o principal responsável por esses efeitos benéficos. O pequi é um fruto encontrado em regiões que recebem alta exposição solar, o que favorece a geração de radicais livres, e, tanto a polpa quanto a amêndoa do pequi são ricas em lipídios, predominando em ambos ácidos graxos insaturados, que são susceptíveis a oxidação, portanto esse vegetal está exposto a condições adversas que podem levar a formação de EROs. Nestas condições, visando a proteção vegetal, pode ocorrer a biossíntese de compostos secundários com propriedades antioxidantes (OLIVEIRA, 2010).

O pequi (*Caryocar villosum*) possui uma polpa rica em carotenóides, compostos fenólicos e flavonóides. Estudo prévio demonstrou que a polpa da fruta pequi tem

efeito protetor contra danos ao DNA induzidos por radicais livres (ALMEIDA et al 2012).

Roesler et al (2008), o extrato etanólico da casca de pequi (*C. brasiliense*), pode ser responsável pela atividade antioxidante na eliminação de radicais livres e um alto potencial na inibição da peroxidação de lipídeos, esta capacidade pode ser devido a presença de compostos como ácido gálico, ácido quínico, quercitina e quercitina 3-O-arabinose. Devido a isso a casca de pequi pode servir como importante produto na área farmacêutica, cosmética e alimentícia na prevenção de riscos de doenças induzidas pelo estresse oxidativo. São necessários testes *in vivo* para a possibilidade do extrato da casca do pequi como uma fonte natural em uma dieta suplementar devido sua alta atividade antioxidante.

Maia et al. (2008), identificou 60 constituintes voláteis e a concentração do aroma de *C. brasiliense*, com uma notável mistura de ésteres carboxílicos, ácidos graxos saturados, hidrocarboneto saturado de cadeia longa e terpenos. O maior componente encontrado foi hexanoato de etil (52,9%), seguido de menores quantidades de octanoato de etil (4,6%), álcool tetrahidroforfuril (4,3%), butanoato de etil (4,1%), palmitato de butil (3,7%), isobutil estearato (2,6%) e ácido 3-metilvalérico (2,6%).

Em geral, os aromas voláteis são metabolizados de amino ácidos, lipideos e carboidratos (SANZ et al., 1997). Segundo Maia et al. (2008), os aromas volateis de pequi são em sua maioria esteres alquílicos, e os autores acreditam que esta produção é dependente da viabilidade de unidades de ácido e álcool C_2-C_8, por sua vez, gerados pela oxidação de ácidos graxos insaturados por enzimas da planta, similarmente, os ácidos graxos saturados e hidrocarbonetos encontrados no pequi são produzidos por hidrogenação e descarboxilação de ácidos graxos insaturados.

Os ésteres de etila prevalecem no aroma concetrado de pequi seguido por outros esteres analagos. A descrição do odor do hexanoato de etil (frutado, doce, abacaxi), octanoato de etil (frutado, floral) e butanoato de etil (frutado, maçã) os apontam como alta contribuição nas caracteristicas do aroma do pequi. Similarmente, eles também são descritos como importantes odores em vinhos, leites e queijos. Fenil acetaldeído que tem um aroma de mel floral também pode ser um contribuinte significativo para o aroma da fruta, apesar de estar em pequenas quantidades (MOIO et al., 1993; TAKEOKA et al., 1995; REZENDE & FRAGA, 2003; QIAN &

REINECCIUS, 2003; DRAZENKA et al., 2005). Os ácidos graxos e seus derivados variam no aroma concentrado de C-8 (ácido caprilico e octanoato de etil) para C-18 (acetato estearil e estearato isobutil). A existência das séries homólogas de hidocarbonos varia de C-11 (undecano) para C-26 (hexacosano).

Vilela et al (2009), em um estudo realizado com o óleo da polpa da especie *C. brasiliense* foi aceita a hipótese que o óleo do fruto possui efeito anti inflamatório similares aos demostrado pela espécie *C. coriaceum*, podendo reduzir significativamente o colesterol total e LDL, necessitando de maiores estudos, sendo uma boa recomendação como suplemento para atletas, segundo os autores.

A prática de exercícios físicos gera produção exacerbada de radicais livres, danosos às células. Em seu estudo, Vilela et al. (2010) investiga o impacto da suplementação com óleo de pequi em corredores. Os resultados foram positivos e mostraram potencial protetor da suplementação com este óleo contra a anitocitose e também melhora na capacidade de transporte do oxigênio no sangue.

Vilela et al (2011), administrou antioxidantes antes da inoculação do tumor em tecidos, inibindo de forma eficaz seu crescimento, mas a administração depois de seu surgimento acelerou o crescimento do tumor favorecendo a metástase, que ocorre quando as células cancerosas viajam através da corrente sanguínea ou dos vasos linfáticos para outras áreas do corpo. A aplicação contínua do oleo de pequi (*C. brasiliense*) inibiu o crescimento do tumor, enquanto as vitaminas E e C favoreceram a metástase e o aumento do estresse oxidativo.

Vilela et al (2014), observou que o tratamento com doxorrubicina (fármaco) aumentou a área de necrose interna e reduziu as células positivas comparando com tumores não tratados, o tratamento com o óleo de pequi providenciou maior eficácia em conter o crescimento do tumor, além de aumentar a imunidade dos linfócitos dependentes e reduzindo os efeitos adversos associados com a doxorrubicina que induz dano oxidativo nas células normais, o que indica que, pelo menos, o óleo de pequi e vitaminas C e E seriam as melhores opções para reduzir os seus efeitos adversos. Ainda segundo este, isto pode estar associado não somente a concentração de carotenóides presentes no óleo de pequi, mas também a alta concentração de ácido oleico, 54,28%, a ácidos graxos poliinsaturados totais, 44,93%.

Colombo et al (2015), indicaram que o óleo de pequi e extrato de pequi modificaram o câncer de pulmão causado por uretano em ratos, devido às suas

propriedades antioxidantes, modificou a estrutura do DNA. Se postulou que o pequi pode melhorar o sistema de defesa, por aumentar as atividades e expressão de enzimas antioxidantes, reduzindo, assim, o stress oxidativo. Os resultados também sugerem que o fruto pode modificar o processo carcinogênico, quer por bloqueio do desenvolvimento de lesões precoces ou inibindo a progressão para cancro invasivo.

Quirino et al (2009), com óleo proveniente da polpa de pequi (*C. coriaceum*), ratos foram induzidos a lesão gástrica por etanol a 96% e por aspirina, para posteriormente serem medicados com óleo de *C. coriaceum*, 60 minutos antes das lesões. Após as análises decorrentes, foi constatado que o efeito de cicatrização e o papel citoprotetor do óleo de pequi pode ter atribuído aos fitoconstituintes presentes, podendo ser tanto individual ou efeitos aditivos que facilitam o processo de cura. No estágio da pesquisa o autor não soube informar qual componente do óleo é responsável pela atividade de cicatrização de feridas. Em Saraiva et al (2011) o óleo *de C. coriaceum* também foi utilizado para tratamentos de edemas em ratos indicado como uma aplicação em potencial, como uma medicina herbal, no tratamento de doenças inflamatórias na pele.

Aguilar et al (2012), demostrou em ratos, que, exceto para o perfil mais pobre em lipídios, outros fatores de risco para aterosclerose como LDL, estresse oxidativo e liberação de macrófagos de radicais livres, foram melhorados com óleo de pequi. Estes resultados estão de acordo com a constatação de que óleo de pequi reduz lesões ateroscleróticas na aorta, que é mais relevante para os seres humanos do que a válvula aórtica. Além disso os dados sugerem que uma dieta suplementada com óleo de pequi reduz o estresse oxidativo, incluindo anticorpos LDLox.

2.5. Radicais livres e seus efeitos.

Em organismos vivos, os processos metabólicos químicos extrínsecos e intrínsecos podem produzir radicais livres altamente reativos, sendo capazes de oxidar biomoléculas, ocasionado na morte de células e danos aos tecidos. Os radicais livres são altamente instáveis por possuir elétrons não pareados centrado nos átomos de nitrogênio e oxigênio, sendo denominados, respectivamente, “espécies reativas de oxigênio” (EROs) e de “espécies reativas de nitrogênio” (ERNs), ambos podem estar presentes na forma não radicalar (não apresentam número ímpar de elétrons) contudo, ainda são capazes de gerar espécies prejudiciais ao sistema biológico por

serem altamente reativas (SKULACHEV, 2012; ACHKAR et al., 2013;ROBERT, ROBERT, 2014; LUSHCHAK, 2014; KAMMEYER, LUITEN, 2015).

Segundo Lushchak (2014), existem três tipos de estresse oxidativo ocasionados por espécies reativas, sendo: o estresse oxidativo agudo, onde os antioxidantes são capazes de adequadamente competir com a elevada quantidade de EROs, este nível retornaria para a fase estacionária. O estresse oxidativo crônico, ocasionado quando a célula não pode neutralizar a elevação da quantidade de EROs para, assim, voltar a sua fase estacionária, mesmo com o aumento de antioxidantes e enzimas relacionadas, ocasionando o aumento da concentração de EROs ou a curva da reação pode ser prolongada, devido a isso o aumento da concentração de EROs pode ser estabilizado, tendo um aumento de modificações de diferentes componentes celulares, perturbando a homeostase. Diversas patologias, como câncer, diabetes mellitus, doenças cardiovasculares e degenerativas exemplificam o estresse oxidativo crônico. Em decorrência deste último, a concentração de EROs no organismo pode não voltar a sua fase estacionária e se estabilizar, sendo considerado um nível quase estacionário, necessário a uma reorganização substancial de sua homeostase, incluindo a do EROs.

2.6. Antioxidantes.

Os antioxidantes são compostos que interagem com radicais livres, impedindo a sua formação ou a sua propagação, doando hidrogênio, estabilizando a molécula alvo , prevenindo ou retardando sua oxidação (DIAS et al, 2015). Os antioxidantes podem se utilizar de mecanismos como: eliminação dos radicais que iniciam a peroxidação; quelantes de íons metálicos para que não haja a ativação de espécies reativas ou a decomposição de peróxidos; a diminuição da formação de O^{2-} prevenindo a formação de peróxidos; quebrar a reação de cadeia de auto oxidação (ASIMI, SAHU, PAL, 2013).

Os antioxidantes (flavonóides e ácidos fenólicos, taninos, vitamina C, vitamina E) têm diversas propriedades biológicas, tais como efeitos anti-inflamatórios, anticancerígenos e anti-ateroscleróticos, reduz a incidência de doenças coronárias e contribui para a manutenção da saúde do intestino pela modulação do equilíbrio microbiano intestinal (BOFFETTA et al., 2010; FU et al., 2011; LI & BETA, 2011; STRATI & OREOPOULOU, 2011; BARTOSZEK & POLAK, 2012; DÍAZ et al., 2012).

Na seleção de antioxidantes, com intuito de inibir a deterioração oxidativa de substâncias oxidáveis, para aplicação tecnológica são desejáveis as seguintes propriedades: eficácia em baixas concentrações (0,001 a 0,01%); ausência de efeitos indesejáveis na cor, no odor, no sabor e em outras características do alimento; compatibilidade com o alimento e fácil aplicação; estabilidade nas condições de processo e armazenamento e o composto e seus produtos de oxidação não podem ser tóxicos, mesmo em doses muitos maiores das que normalmente seriam ingeridas no alimento. Além disso, na escolha de um antioxidante deve-se considerar também outros fatores incluindo legislação, custo e preferência do consumidor por antioxidantes naturais (TORO-FUNES et al., 2012; CARDONA et al., 2013; HAMROUNI-SELLAMI et al., 2013).

Segundo Ramalho e Jorge (2007), os antioxidantes podem ser classificados em primários, sinergistas, removedores de oxigênio, biológicos, agentes quelantes e antioxidantes mistos. Os antioxidantes primários são compostos fenólicos que promovem a remoção ou inativação dos radicais livres formados durante a iniciação ou propagação da reação, através da doação de átomos de hidrogênio a estas moléculas, interrompendo a reação em cadeia.

Sinergistas são substâncias com pouca ou nenhuma atividade antioxidante, que podem aumentar a atividade dos antioxidantes primários quando usados em combinação adequada com eles. (RAMALHO, JORGE, 2007).

Os removedores de oxigênio são compostos que atuam capturando o oxigênio presente no meio, através de reações químicas estáveis tornando-os, consequentemente, indisponíveis para atuarem como propagadores da autoxidação. Ácido ascórbico, seus isômeros e seus derivados são os melhores exemplos deste grupo. (RAMALHO, JORGE, 2007).

Agentes quelantes/sequestrantes complexam íons metálicos, principalmente cobre e ferro, que catalisam a oxidação lipídica. Um par de elétrons não compartilhado na sua estrutura molecular promove a ação de complexação. (RAMALHO, JORGE, 2007).

Os antioxidantes mistos incluem compostos de plantas e animais que têm sido amplamente estudados como antioxidantes em alimentos. Entre eles estão várias proteínas hidrolisadas, flavonoides e derivados de ácido cinâmico (ácido caféico) (RAMALHO, JORGE, 2007).

Antioxidantes alimentares, principalmente os encontrados nos vegetais, como os tocoferóis, flavonoides, vitaminas C e E, têm ganhado um grande interesse entre os consumidores e a comunidade científica, uma vez que estudos têm associado o consumo de antioxidantes com o menor risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares, câncer, envelhecimento e o desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis, inflamatórias e degenerativas (CERQUEIRA et al, 2007, OLIVEIRA, 2010).

2.7. Compostos fenólicos.

Segundo Angelo e Jorge (2006), os ácidos fenólicos caracterizam-se pela presença de um anel benzênico, um grupamento carboxílico e um ou mais grupamentos de hidroxila e/ou metoxila na molécula, que conferem propriedades antioxidantes. São divididos em três grupos: o primeiro é composto pelos ácidos benzóicos, que possuem sete átomos de carbono. O segundo grupo é formado pelos ácidos cinâmicos, que possuem nove átomos de carbono, sendo sete os mais comumente encontrados no reino vegetal. As cumarinas são derivadas do ácido cinâmico por ciclização da cadeia lateral do ácido o-cumárico. Os antioxidantes fenólicos funcionam como sequestradores de radicais e, algumas vezes, como quelantes de metais, agindo tanto na etapa de iniciação como na propagação do processo oxidativo.

Efeitos benéficos à saúde têm sido atribuídos aos compostos fenólicos presentes nas frutas, vegetais, chás e vinhos (ABE et al, 2007). Quimicamente, os fenólicos são compostos que possuem anel aromático com um ou mais substituintes hidroxílicos, incluindo seus grupos funcionais, e devido a sua estrutura variável possuem mais de uma função, sendo considerados multifuncionais (ANGELO e JORGE, 2006). Dentre o grupo dos fenólicos destacam-se os flavonóides, ácidos fenólicos, fenóis simples, cumarinas, taninos, ligninas e tocoferóis. Os fenólicos englobam desde moléculas simples até moléculas com alto grau de polimerização. Estão presentes nos vegetais na forma livre ou ligados a açúcares (ligação glicosídicas) e proteínas (LEE et al, 2005; AGELO e JORGE, 2006).

Dependendo do seu modo de ação os antioxidantes podem ser classificados em primários e secundários. Os primários atuam interrompendo a cadeia da reação através da doação de elétrons ou hidrogênio aos radicais livres, convertendo-os em produtos termodinamicamente estáveis e/ ou reagindo com os radicais livres,

formando o complexo lipídio-antioxidante que pode reagir com outro radical livre. Os antioxidantes secundários atuam retardando a etapa de iniciação da auto-oxidação, por diferentes mecanismos que incluem complexação de metais, sequestro de oxigênio, decomposição de hidroperóxidos para formar espécie não radical, absorção da radiação ultravioleta ou desativação de oxigênio singlete (ANGELO e JORGE, 2006; RAMALHO e JORGE, 2007).

Os compostos fenólicos podem ser classificados entre flavonóides e não flavonóides. Os incluídos no grupo dos flavonóides são as catequinas, epicatequinas, epigalocatequinas, caempferol, quercertina, miricetina, antocianinas, rutina e naringenina. Os incluídos no grupo dos não flavonóides são os ácidos fenólicos, ácido hidroxibenzóico, ácido hidrocinâmino e o resveratrol (ABE et. al., 2007; BIANCHI et. al., 1999).

Os compostos fenólicos estão incluídos na categoria de interruptores de radicais livres, sendo muito eficientes na prevenção da auto-oxidação. A utilização de compostos fenólicos, mais especificamente de ácidos fenólicos, como antioxidantes na conservação de alimentos pode aumentar a vida útil do produto entre 15 a 20% (SOARES, 2002).

2.7.1. Compostos fenólicos em vegetais.

Os vegetais são conhecidos como a maior fonte de substâncias bioativa. Devido ao seu excelente potencial de atividade antioxidante, muitas espécies de plantas estão sendo pesquisadas e analisadas em prol da melhora da qualidade da vida humana. Antioxidantes naturais isolados de vegetais têm sido investigados extensivamente, como exemplo uvas, brócolis, batata, abobora, chá, orégano, que também fazem parte da nossa dieta alimentar (ACHKAR et al., 2013; KAMMEYER, LUITEN, 2015).

Os vegetais são uma grande fonte de fitoquímicos, dentre eles os compostos fenólicos, que são originados do metabolismo secundário das plantas, como flavonóides e taninos, sendo essenciais para o seu crescimento e reprodução, os antioxidantes geralmente se forma como um mecanismo de defesa da planta em condições de estresse como, infecções, ferimentos, radiações UV, dentre outros (BROINIZI et. al., 2007; OROIAN ESCRICHE, 2015). Em alimentos, são responsáveis pela cor, adstringência, aroma e estabilidade oxidativa. As principais fontes de compostos fenólicos são frutas cítricas, como limão, laranja e tangerina, além de

outras frutas à exemplo da cereja, uva, ameixa, pêra, maçã e mamão, sendo encontrados em maiores quantidades na polpa que no suco da fruta (IMEH et al., 2002; FARAH, DONANGELO, 2006; NACZKA, SHAHIDI, 2004).

Os compostos fenólicos, resveratrol, quercetina, ácido caféico e flavonóis, presentes em extratos de plantas, possuem um papel importante na redução da oxidação lipídica em tecidos, vegetal e animal, quando incorporados na alimentação humana não conservam apenas a qualidade do alimento, mas também reduzem o risco de desenvolvimento de patologias, como a atividade anticarcinogênica com inibição dos cânceres de cólon, esôfago, pulmão, fígado, mama e pele. (IMEH et al., 2002; NACZKA, SHAHIDI, 2004).

Os alimentos também estão sujeitos a sofrerem reações de oxidação. Essas reações podem resultar na alteração do seu valor nutricional e nos seus padrões de qualidade, como o odor, a cor, o sabor e a textura. A oxidação dos alimentos se deve a oxidação sofrida pelos lipídios que ocorre durante o processamento, a distribuição, o armazenamento e o preparo dos alimentos. Essas reações geram odores e sabores indesejáveis, o que torna os alimentos impróprios para o consumo. As reações também provocam as alterações nutricionais que afetam a integridade e a segurança dos alimentos, porque ocorre a produção de compostos potencialmente tóxicos (SOARES, 2002). A oxidação dos lipídios ocorre especificamente em ácidos graxos, encontrados na constituição dos triacilglicerídeos. Essas alterações ocorridas nos alimentos são levadas em conta na determinação do tempo de validade dos produtos industrializados. Em alimentos com baixa atividade de água a ação catalítica de metais é favorecida, o que propicia reações de oxidação de lipídios (DEGÁSPARI et. al., 2004).

2.8. Cacau e chocolate.

O Brasil é o terceiro em produção de chocolates do mundo, com cerca de 781 mil toneladas em 2014, ficando atrás apenas dos Estados Unidos e Alemanha (ABICAB, 2015).

Segundo a RDC n°. 264, de 22 de setembro de 2005, emitido pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2016) chocolate é todo o produto obtido a partir da mistura de derivados de cacau (*Theobroma cacao* L.), massa (ou pasta ou líquor) de cacau, cacau em pó e ou manteiga de cacau, com outros ingredientes,

contendo, no mínimo, 25 % (g/100 g) de sólidos totais de cacau. O produto pode apresentar recheio, cobertura, formato e consistência variados.

Estudo realizado por Afoakwa (2010), observou diferentes valores energéticos e quantidades de flavonóis presentes em três tipos de chocolate: amargo, ao leite e branco, como demostrado na Tabela 3.

Tabela 3: Diferenças de composição de valor calórico e flavonóis em chocolates amargo, ao leite e branco.

Chocolate	Valor calórico	Quantidade de flavonóis
Amargo	132 kcal/30g	951 mg de flavonoides/40g
Ao leite	160 kcal/30g	394 mg de flavonoides/40g
Branco	163 kcal/40g	Não possui massa de cacau

Chocolate é uma dispersão sólida de massa de cacau, partículas de açúcar, aditivos, manteiga de cacau, lecitina ou PGPR e aromatizantes. Quando mal temperada, esta emulsão poderá refletir negativamente sensorialmente, por isso, duas grandes características distintas são levadas em consideração no produto final: o sabor e a textura. Um aspecto principal da textura do chocolate se deve ao fato de que o mesmo deve ser sólido à temperatura ambiente (20 a 25°C) e derreter rapidamente na boca (37°C) originado um liquido que proporciona uma sensação suave na língua (BECKETT, 1994; LANNES, GIOIELLI, 1998; BECKETT, 2009).

Sendo mais comumente consumido na forma de chocolate, após suas sementes serem fermentadas e submetidas a outros processos o cacau (*Theobroma cacao* L.) é um dos produtos mais consumidos no mundo. Produtos derivado do cacau são reconhecidos por serem uma fonte rica em polifenóis, alguns estudos obtiveram resultados positivos no consumo de chocolate amargo na modulação do riscos cardiovasculares, e a capacidade antioxidante do mesmo em testes *in vitro* (LATTIERI-BARBATO et al, 2011; FERNÁNDEZ-MURGA et al, 2011).

No chocolate podem ser usados dois emulsificantes: a lecitina e o PGPR (poliglicerol poliricinoleato), com o intuito de modificar as propriedades de fluxo do chocolate, isto ocorre, devido a estrutura molecular desses emulsificantes, denominados tensoativos, diminuem a tensão interfacial entre a fase dispersa e contínua e, além da reologia, afetam uma série de propriedades, como a sensibilidade

a umidade e temperatura (SCHANTZ, ROHM, 2001). Devido a essa propriedade, os emulsificantes proporcionam a estabilidade da migração de gordura e sua oxidação, conhecido como *fat bloom* (SCHANTZ, ROHM, 2001; BECKETT, 2009).

Dentre outros ingredientes de suma importância na elaboração do chocolate, a manteiga de cacau é a mais utilizada, podendo ser adicionadas outras gorduras equivalentes ou substitutas a manteiga de cacau, sendo considerada uma fase continua na produção de chocolate (RICHTER, LANNES, 2007). A manteiga de cacau é composta de 40 a 50% de triacilgliceróis (TAG) cis-monoinsaturados, que são os principais responsáveis pela percepção do sabor, sendo sua composição diferente para cada região geográfica(PESCHAR et al, 2004; SCHENK; PESCHAR, 2004).

2.8.1. Propriedades antioxidantes do chocolate e seus benefícios.

No clássico período da civilização Maia, entre 250-900 a.c., os Maias consideravam o cacau um fruto sagrado, onde uma bebida produzida através do cacau com sabor picante, sendo considerada um elixir promotor da boa saúde. Os astecas, consideravam da fertilidade e a vida, além de afrodisíaco e energético. Com sua popularização com o passar dos séculos foi adquirido novos conhecimentos sobre sua utilização, consumo e benefícios (LIPPI, 2009).

Dentre esses benefícios, diversos estudos sobre o cacau relacionam sua alta capacidade antioxidante com sua grande concentração de compostos fenólicos. Dean et al (2016), por exemplo, minimizou os atributos negativos de chocolate ao leite fortificado com extratos da casca de amendoim encapsulado e avaliou a aceitação do consumidor pelo produto, também se identificou a capacidade antioxidante (método DPPH) dos chocolates controle e adicionado com casca de amendoim, onde, o chocolate ao leite adicionado com casca de amendoim obteve um aumento da capacidade antioxidante, excedendo o do chocolate amargo comercial utilizado como parâmetro, proporcionando um chocolate ao leite com benefícios a saúde semelhante ao chocolate amargo. Quanto a análise sensorial, os autores concluíram que houve uma preferência pelo chocolate com adição de extrato de casca de amendoim encapsulada, que segundo os mesmos, se produzida comercialmente, poderia obter sucesso em mercado.

Um trabalho realizado por Gültekin-Özgüven et al. (2016), onde fortificaram o chocolate amargo com o extrato de amora preta (*Morus nigra*) encapsulada com

revestimento de quitosana, pelo método de pulverização. O material encapsulado contendo os bioativos de amora preta foram adicionados aos chocolates alcalinizados (pH 4,5, 6, 7,5) a temperaturas de 40° C, 60° C e 80° C. Os resultados mostraram que a quitosana revestindo o material encapsulado forneceu melhor proteção do teor de antocianinas, mesmo com o aumento da temperatura e do pH. Além disso, o encapsulamento reforçou a bioacessibilidade das antocianinas presentes no chocolate.

3. OBJETIVOS

3.1. Geral

Incorporação da polpa do mesocarpo do pequi (*Caryocar villosum* alb. pers) em formulação de chocolate amargo com vista a agregação de valor nutricional.

3.2. Específico

- Caracterização físico-química da polpa do mesocarpo de pequi liofilizada;
- Caracterização físico-química do óleo proveniente da polpa do mesocarpo de pequi;
- Adição do material liofilizado em formulação de chocolate;
- Análise físico-química dos chocolates acrescidos da polpa de pequi liofilizada;
- Análises de atividade antioxidante nas formulações de chocolate.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Colheita dos frutos.

Os frutos de pequi (*Caryocar villosum* (aubl) pers.) utilizados para o referido estudo foram coletados de árvores adultas, após sua queda natural da árvore, sendo requisito utilizado na coleta de todos os frutos, localizadas na cidade de Bragança - PA, referentes a safra de 2015, onde, no herbário “João Murça Pires” (MG), denominado Herbarium Amazonicum Musei Paraensis, recebeu a codificação MG n°. 205226, latitude 01°22’55,8” S e longitude 46°43’50,3”w. Procedeu-se a seleção dos frutos de acordo com estádio de maturação em que são consumidos (coloração amarelada/alaranjada). A colheita foi efetuada de forma direta, sendo considerada a integridade satisfatória da amostra mediante seu estado de conservação.

4.2. Preparo das amostras.

As amostras (frutos) foram transportadas em sacos plásticos de polietileno de baixa densidade (PEBD) e encaminhadas para o Laboratório de operações e separação da Universidade Federal do Pará, onde foram lavados em água corrente, imersos em solução de água clorada a 150 ppm por 5 minutos, posteriormente drenada, e sequencialmente despolpados manualmente, onde polpa e semente separadas foram armazenadas à temperatura de -24 º C. Posteriormente, as amostras foram transferidas em isopor para a Universidade de São Paulo (USP), Faculdade de Ciências Farmacêuticas, no Laboratório de Tecnologia de Alimentos III.

A polpa foi triturada em um processador de alimentos (ARNO, Brasil) onde foi armazenada novamente em placas e congelada a -86° C em *ultrafreezer* (TectalMaq, Brasil), para posteriormente ser liofilizada no liofilizador da marca Edwards do Brasil (Edwars vacuum, Brasil) por 3 dias sob pressão de 40 mbar, sendo posteriormente acondicionada em sacos de PEBD e lacrada à vácuo para manter a integridade do material.

4.3. Análise microbiológica.

Análises microbiológicas foram realizadas no pequi *in natura* de acordo com metodologia descrita por Vanderzant e Splittstoesser (1992) para coliformes 35° e 45°C pelo número mais provável (NMP), *salmonella sp*, pela detecção *salmonella sp* e bolores e leveduras por contagem de placas.

4.4. Análise biométrica.

Os frutos foram selecionados de forma aleatória, considerando-se como ponto de corte das unidades a presença de injúria mecânica, sanidades ou irregularidades que impedissem as medidas corretas dos diâmetros. Posteriormente foram realizadas as pesagens e medidas quanto aos diâmetros maior e menor com auxílio de um paquímetro (VONDER, Brasil) e a pesagem em balança analítica da marca QUIMIS (Electronic Balance FA-2104n Bioprecisa, Brasil).

4.5. Sólidos solúveis.

Segundo método IAL (1985) por refratômetria, com o uso de refratômetro manual de marca Tecnal, modelo AR200 digital (Tecnal, Brasil).

4.6. Acidez total titulável.

Segundo o método n° 22.058 da AOAC (2000) que mede a acidez titulável das substâncias.

4.7. pH

Segundo o método nº 981.12 da AOAC (2000), através do uso de um potenciômetro (QUIMIS, Brasil), previamente calibrado com soluções tampão pH 4 e 7.

4.8. Análises físico-químicas da polpa de pequi liofilizada.

- Proteína segundo o método de micro Kjeldahl n° 950.48 da AOAC (2000), que se baseia na determinação da quantidade de nitrogênio total existente na amostra. O teor de proteína bruta foi calculado através da multiplicação do nitrogênio total pelo fator 6,25 (%N x 6,25);
- Lipídios totais: de acordo com o método n° 948.22 da AOAC (2000) que consiste de extração em equipamento tipo Soxhlet usando como solvente n-hexano;
- Carboidratos totais: calculados por diferença (100 g - gramas totais de umidade, proteínas, lipídios, fibras e cinzas), segundo a Resolução RDC n° 360, de 23 de dezembro de 2003 (ANVISA, 2003);
- Carotenóides: segundo o método descrito por Moretti et al. (1998).
- Análise de açúcares: segundo método IAL (1985);
- Cálculo do valor energético: foi obtido aplicando-se os fatores 4 - 9 – 4 kcal/g para os valores de proteínas, lipídios e carboidratos totais, respectivamente; segundo Anderson et al. (1988) e Resolução RDC n°360, de 23 de dezembro de 2003 (ANVISA, 2003).
- Análise de infravermelho por transmitância: a amostra foi prensada com KBr para a formação de uma pastilha, onde foi colocada em espectro de infravermelho modelo Alpha (Bruker, Alemanha), sendo feita a leitura pela técnica de transmitância, na faixa de 500 a 4000cm^{-1}.

4.9. Análise granulométrica.

Para o ensaio de distribuição granulométrica da polpa de pequi liofilizada foi utilizado um agitador de tamises Produtest (Brasil). As peneiras utilizadas são demonstradas na Tabela 4

Tabela 4: Tamises utilizadas na análise granulométrica da polpa de pequi liofilizada.

Designação ABNT	Abertura da malha (mm)
20	0,85
25	0,71
60	0,25
100	0,150
140	0,106

As tamises foram colocadas em ordem decrescente de abertura de malha, de cima para baixo, com seu reostato na posição de vibração ou agitação n° 7, por um tempo de 10 minutos, para a separação completa das partículas.
A porcentagem de material retido foi determinada a partir da equação 1:

$$Mi = \frac{mi}{m0} \times 100 \qquad \text{(Equação 1)}$$

Sendo:

Mi= Material retido na peneira i;
mi= massa do material retido na peneira i;
m0= massa da amostra.

4.10. Análise de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).

As análises morfológicas da polpa liofilizada de pequi foram realizadas pela visualização em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), com amostras previamente secas em estufas de circulação de ar a 105 °C por 24 horas, posteriormente uma quantidade do pó foi depositada sobre um porta-amostra com o auxílio de fita adesiva de carbono. As amostras foram metalizadas com ouro para permitir condutividade elétrica necessária no processo de formação das imagens, no equipamento (S 150, Edwards). As imagens ou eletromicrografias foram realizadas em Microscópio eletrônico de varredura (VEGA3, Tescan), com corrente do feixe de elétrons de 85-90 µA.

4.11. Óleo

A extração do óleo foi realizada via Soxhlet, por 8 horas, com temperatura da manta variando entre 50 – 55°C usando como solvente hexano. Ao finalizar a extração, se realizou as seguintes análises:

- Índice de acidez o pelo método Cd 3d-63 da AOCS (1998).
- Índice de peróxido pelo método Cd 8-53 da AOCS (1998).
- Índice de saponificação pelo método Cd 3a-94 da AOCS (1998).
- Índice de iodo pelo método Cd 1c-85 da AOCS (1998).
- Índice de oxidação segundo Waynick (2005);
- Análise calorimétrica diferencial exploratória (DSC): Realizada em equipamento DSC- *Diferencial Scanning Colorimeter* – Instrument Specialists Incorporated, I Series (EUA) em atmosfera de nitrogênio.
- Análises termogravimétricas e diferencial (TG-DTA): Foram realizadas em termobalanças Shimadzu – DTG – 60H (Japão), utilizando atmosfera de ar, a uma vazão de 50 mL/min, rampa de aquecimento: 10°C na faixa de temperatura de 600°C, cadinho de alumina 5mg ± 0,5.
- Análise de infravermelho por ATR: Uma gota do óleo foi colocada em contato com o Cristal de Germânio para a leitura pela técnica de reflexão atenuada – ATR (*Attenuance Total Reflectance*), por espectro de infravermelho modelo Alpha (Bruker, Alemanha), na faixa de 500 a 4000 $cm^{-1.}$
- Índice de refração: O índice de refração foi avaliado por meio do método da AOCS Cc 7- 25 utilizando um refratômetro Abbé (Arealitic Jean).
- Cromatografia gasosa: A preparação do metil ésteres de ácidos graxos seguiram a metodologia da organização internacional de padronização ISO 5509 (1978). A análise de cromatografia a gás (Varian 430 – GC, Países Baixos) foi conduzida conforme Milinsk et al (2008), com temperatura de injeção de 250°C com rampa de 140°C por 5 minutos até 240°C com taxa de 4°C/ min., com detector a 280° C, utilizando coluna (SUPELCO, SP^{TM} – 2560), com capilar de sílica fundida de 100 metros de comprimento, 0,25 milimetros de diâmetro e 0,2 µm de espessura do filamento de sílica fundida. A composição quantitativa por normalização de área, sendo

expressa como porcentagem em massa seguiu o método oficial da AOCS (1998).

4.11.1. Índices de qualidade funcional do óleo do mesocarpo do pequi.

A funcionalidade das frações lipídicas do material analisado nesta pesquisa ocorreu através das proporções de ácidos graxos determinados em seus respectivos perfis lipídicos, avaliados por três índices de composição – índice de Aterogenicidade (I.A), Índice de Trombogenicidade (I.T) definidos segundo Ulbricht, Southgate (1991) e a razão hipocolesterolêmicos e hipercolesterolêmicos (H.H) definidos por Santos e Silva et al., (2002). Empregando os seguintes cálculos:

$$I.A = \frac{[(\mathrm{C12{:}0})+(4\mathrm{XC14})+(C16)]}{(\Sigma\ \mathrm{AGMI}+\ \Sigma\ \omega 6+\Sigma\ \omega 3)} \qquad \text{(Equação 2)}$$

$$I.T = \frac{(C14{:}0+C16{:}0+C18{:}0)}{[\ (0{,}5\mathrm{X}\ \Sigma\ \mathrm{AGMI})+(0{,}5\ \mathrm{X}\ \Sigma\ \omega 6)+\big((3\mathrm{X}\ \Sigma\ \omega 3)\big)+(\Sigma\ \omega 3/(\Sigma\ \omega 6))]} \qquad \text{(Equação 3)}$$

$$H.H = \frac{(\mathrm{C18{:}1}\omega 9+\mathrm{C18{:}2}\omega 6+\mathrm{C20{:}4}\omega 6+\mathrm{C18{:}3}\omega 3+\mathrm{C20{:}5}\omega 3+\mathrm{C22{:}5}\omega 3+\mathrm{C22{:}6}\omega 3)}{(\mathrm{C14{:}0}+\mathrm{C16{:}0})} \qquad \text{(Equação 4)}$$

4.12. Análise colorimétrica.

A análise de cor foi realizada no óleo utilizando-se um colorímetro Minolta CE (CR- 310), obtendo-se os valores de L*, a*, b*, onde L* representa a luminosidade; a* define a transição da cor verde (-a*) para o vermelho (+a*) e b* representa a transição da cor azul (-b*) para a cor amarela (+b*). Na área alimentícia, as normas internacionais para a mensuração de cor são definidas pela *Commission Internationale d'Eclairage* (CIE) em 1931, onde se estabeleceu a nomenclatura do sistema CIE. Nesta pesquisa utilizou-se o sistema CIElab (L*, a*, b*), relatado por Motta (2005). O equipamento foi calibrado nos seguintes parâmetros L* = 97,51; a* = +0,34; b* = +1,73, (dados definidos pelo fabricante). O resultado do Chroma foi obtido pela Equação 5, assim como o seu ângulo HUE na equação 6.

$$C* = \sqrt{(a*)^2 + (b*)^2} \qquad \text{(Equação 5)}$$

$$H = arctang\ (\frac{b*}{a*}) \qquad \text{(Equação 6)}$$

4.13. Chocolate

4.13.1. Material

Na Tabela 5 estão listados os produtos utilizados na elaboração de chocolate amargo.

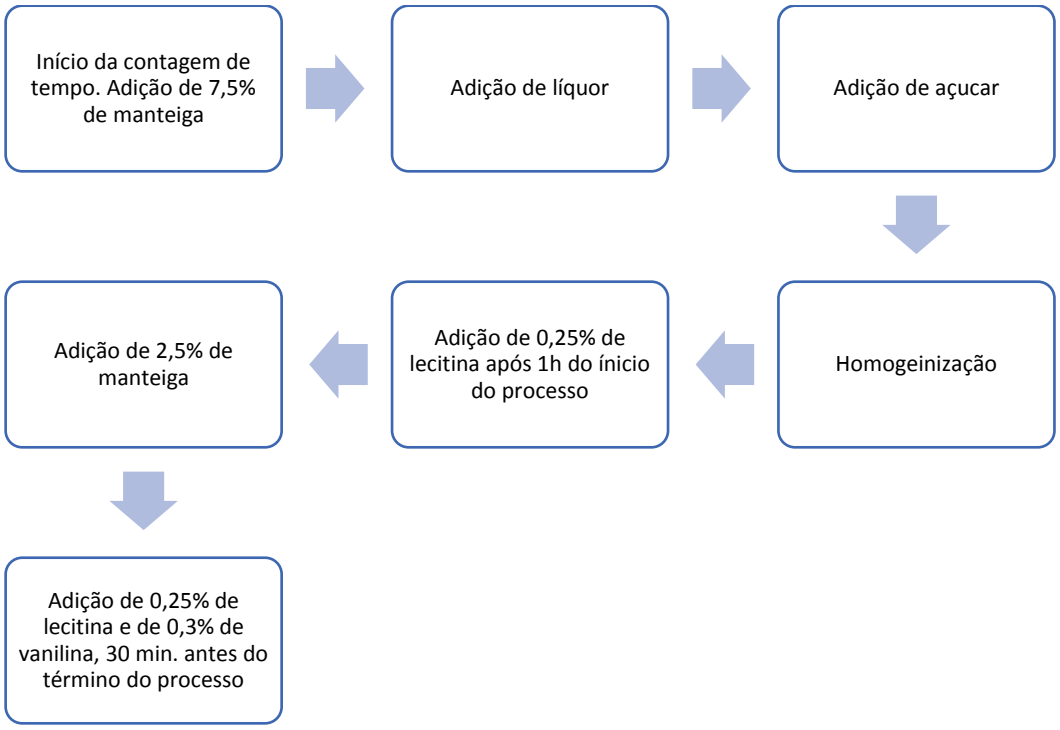
Tabela 5: Produtos utilizados na elaboração de chocolate amargo.

Produto	Fornecedor	País
Açúcar	União	Brasil
Líquor alcalinizado	Cargill	Brasil
Manteiga desodorizada	Cargill	Brasil
Lecitina de soja	Tradal Brasil	Brasil
Vanilina em pó	Mix	Brasil

4.13.2. Produção do chocolate.

Foi utilizado equipamento universal com moinho de bolas WA-FA 20, 220-60, SERIE 2872 – Mazzetti (Itália), com capacidade para processar 5 kg. O tempo de processamento foi de 2 horas, sendo que a quantidade processada em cada batelada foi de 3 kg, com temperatura de trabalho de 45°C, conforme o Fluxograma 1 abaixo.

Figura 5: Fluxograma de produção de chocolate amargo.



Ao final do processo foi adicionado manualmente o mesocarpo de pequi liofilizado. O tempo desta etapa foi de 5 minutos para cada chocolate. Na Tabela 6 são apresentadas as formulações utilizadas.

Tabela 6: Formulações de chocolate amargo.

Ingredientes	Formulação 1 (%)	Formulação 2 (%)
Açúcar	43,30	43,30
Líquor	46,10	46,10
Manteiga	9,80	9,80
Lecitina de soja	0,50	0,50
Vanilina	0,30	0,30
Polpa de pequi liofilizada	---	1,5

A temperagem foi realizada de forma manual. As amostras foram aquecidas até a temperatura de 45°C e resfriadas sob agitação com espátula, em bancada de mármore, até temperatura de 29°C, sendo rapidamente enformadas e levadas à refrigeração a 9°C por 30 min, desenformadas, embaladas em papel alumínio, acondicionadas em bandejas de isopor e recobertas em filme PVC. A porcentagem

de cada matéria prima foi determinada a partir da quantidade de gordura a fim de obter valor aproximado a 35% de gordura no produto final.

Testes de formulação e a degustação interna foram realizados em laboratório com adições de 5%, 2%, 1,5% e 1%, se optou pela formulação de 1,5% pois foi a que mais se enquadrou no objetivo do trabalho em comparação com a formulação de 1% e a que menos se sentiu arenosidade e sabor amargo advindos da polpa liofilizada.

4.13.3. Curva de resfriamento da manteiga de cacau e curva de temperagem das formulações de chocolate.

As determinações da curva de resfriamento da manteiga de cacau e da curva de temperagem das formulações de chocolate foram conduzidas em Temperímetro Multitherm TC (Buhler, Suiça). A manteiga foi aquecida previamente à temperatura de 50°C e colocada em capsulas próprias do equipamento. Sendo o resultado avaliado pelo Buhler Crystallization Index™ (BCI™)

Os chocolates foram aquecidos à temperatura de 45°C e temperados manualmente, conforme item 4.13.2, para avaliação da validade do procedimento de temperagem efetuado, sendo o resultado avaliado pelo Buhler Temper Index™ (TI™)

4.13.4. Determinação do tamanho de partículas dos chocolates

A determinação do tamanho de partículas do chocolate foi realizada em Micrômetro digital Digimatic Mitutoyo (Mitutoyo, EUA), Modelo Série 293.

4.13.5. Reologia

Os parâmetros reológicos foram obtidos em um reômetro oscilatório/rotacional Haake Mars III (Haake, Alemanha), O equipamento é acoplado a um banho termostatizado. Os parâmetros de Casson foram calculados pelo programa de computador do equipamento. Os ensaios foram conduzidos segundo norma da OICC a 40 °C (OICC, 1973). Foi utilizado sensor cone-placa C35/2, sendo os seguintes parâmetros de análise: ensaio rotacional com taxa controlada, em três passos (0,00 1/s – 65,00 1/s t=180 s; 65,00 1/s t= 60 s; 65,00 1/s – 0,00 1/s t=180 s), para a obtenção de uma curva de tixotropia.

O modelo de Casson é, atualmente, considerado o que melhor se adapta ao comportamento dos chocolates e é adotado pela OICC (*Internacional Office of Cocoa*). A equação que expressa esse modelo se encontra na Equação 7.

$$\sqrt{\tau} = \sqrt{\tau ca} + \sqrt{\eta_{CA}} + \sqrt{\gamma} \quad \text{(Equação 7)}$$

Sendo: τ, a tensão de cisalhamento, τCA, a tensão inicial de Casson ou tensão residual de Casson; ηCA, viscosidade de Casson ou viscosidade plástica e γ, a taxa de cisalhamento.

4.13.6. Determinação de umidade

A umidade foi realizada segundo método descrito pelas normas analíticas AOAC (2000) para teste de umidade de perda de massa em estufa regulada a 105°C.

4.13.7. Determinação de conteúdo mineral

O conteúdo mineral foi determinado pelo teste de cinzas de perda de massa em mufla a 550°C (AOAC,2000).

4.13.8. Determinação de lipídeos

Para a hidrólise ácida do chocolate foi utilizado o método descrito por Schetty et al. (1969), adaptado por Lannes (1997). Foram pesados 10 g de amostra previamente moída e adicionado a um béquer com a mistura de 200 mL de água destilada com 75 mL de ácido clorídrico 37%. A mistura foi aquecida com bico de Bunsen por 20 minutos em ebulição. Após esse procedimento, a mistura foi filtrada com papel de filtro de 24 cm e submetida a lavagem quantitativa até retirada de todo o ácido. Ao final, levou-se o cartucho resultante a estufa a 75°C por uma noite. Para a extração da gordura, será utilizado o método com extrator Soxhlet e éter de petróleo como solvente.

4.13.9. Determinação de proteínas

A determinação de proteínas foi realizada por método de micro-Kjeldahl (AOAC,2000).

4.13.10. Determinação de atividade de água

A atividade de água foi determinada em equipamento de atividade de água Novasina modelo LabMaster (Novasina, Suíça).

4.13.11. Análise calorimétrica diferencial exploratória (DSC)

Realizada em equipamento DSC- *Diferencial Scanning Colorimeter* Shimadzu-Instrument Specialists Incorporated, I Series (EUA) em atmosfera de nitrogênio.

4.14. Determinação da capacidade antioxidante

4.14.1. Preparo do extrato

Metodologia descrita por Genovese e Lannes (2010), onde 0,5 g da amostra foi adicionada a 20 mL de metanol/água na proporção 70:30, utilizando um ultraturrax Marconi (BRASIL) por 1 minuto em velocidade 4 e banho de gelo. Filtrou-se o extrato utilizando-se papel de filtro e o extrato resultante foi armazenado em vidro âmbar. Sendo utilizada para a farinha de pequi, o líquor de cacau e as formulações de chocolate.

4.14.2. Método DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila) para polpa liofilizada do mesocarpo de pequi, líquor e formulações de chocolate.

O método da capacidade sequestradora frente ao DPPH foi realizado com base no trabalho descrito por Sanchez-Moreno (2002), com modificações.

A partir de uma solução estoque de 60 mols/L de DPPH em álcool metílico, a curva padrão foi construída com diluições de 10, 20, 30, 40 50 e 60 mols/L em ambiente protegido pela luz. Os resultados obtidos foram tratados no Microsoft Excel.

Para a determinação da capacidade antioxidante frente ao DPPH utilizou-se sete diferentes diluições das amostras (5,10,20,30,40,50 e 60 %). Em uma cubeta com caminho ótico de 10 mm, adicionaram 0,075 mL da amostra e 2,925 mL de DPPH, agitando a solução resultante. Para a solução controle foi utilizada a mistura de 0,1 mL de solução controle (metanol 70%) e 3,9 mL de DPPH. Como branco foi utilizado o álcool metílico.

As medições foram realizadas a 515 nm em um espectrofotômetro Spectrum Meter (Brasil), em triplicata e protegidos da luz. Os resultados de absorbância foram anotados a cada 5 minutos por meia hora. Os dados resultantes foram tratados por Microsoft Excel.

4.14.3. Método de determinação de fenólicos totais para polpa do mesocarpo de pequi liofilizada, líquor e formulações de chocolate.

Em contato com os antioxidantes (agentes redutores) tem-se a formação de um complexo Molibdênio-Tungstênio (PMoW11O4)4, que possuem coloração azul. Através da diferença de coloração é possível determinar a quantidade de polifenóis em uma amostra (SINGLETON, ORTHOFER, LAMUELA-RAVENTOS, 1999).

A determinação de fenólicos totais foi realizada baseada no método de Folin Ciocauteau descrito por Singleton, Orthofer e Lamuela-Raventos (1999), com volume modificado.

A curva padrão foi construída a partir de soluções diluídas de ácido gálico nas concentrações de 50, 100, 150, 250 mg/L a partir de uma solução estoque de 0,5 mg/L.

Para determinação dos compostos fenólicos, 20 µL da amostra foram adicionados a um balão volumétrico com 5 mL. Logo após, acrescentou-se 200 µL do reagente Folin-Ciocauteau e se homogenizou a mistura. Após o tempo de 1 a 8 minutos adicionou-se 750 µL de carbonato de sódio 20% e o volume foi ajustado. A leitura, foi realizada em espectrofotômetro UV visível (Spectrum Meter, Brasil) em 760 nm.

4.14.4. Determinação da atividade antioxidante total pelo método de redução do ferro (FRAP) para o mesocarpo de pequi liofilizado, líquor de cacau e formulações de chocolate.

Para a determinação da atividade antioxidante pela redução do ferro (FRAP), será utilizada a metodologia descrita por Rufino et al. (2006). Será realizado uma curva padrão com do sulfato ferroso, a partir da solução padrão de sulfato ferroso (2.000 µM), preparar em balões volumétricos de 10 mL, soluções variando a concentração de 500 µM a 1500 µM, onde a partir da equação da reta, será calculado a absorbância referente a 1000 mM de sulfato ferroso.

A partir das absorbâncias obtidas das diferentes diluições dos extratos, plotar a absorbância no eixo Y e a diluição (mg/L) no eixo X. Em seguida, determinar a equação da reta. Para calcular a AAT (Atividade Antioxidante Total), deve-se substituir na equação da reta a absorbância equivalente a 1.000 µM do padrão sulfato ferroso.

4.15. Análise estatística.

As análises foram realizadas em triplicata, sendo calculados as médias e desvio padrões. Os resultados foram analisados pelos testes ANOVA e posteriormente de Tukey, em 5% de significância, com o software Statistica version 11 (StatSoft, EUA) e com o programa Microsoft Excel (Microsoft, EUA).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Caracterização do fruto pequi

5.1.1. Análise microbiológica

O resultado das análises microbiológicas do fruto do pequi é apresentado de acordo com os padrões determinados pela legislação vigente, e demonstrou um produto apto para consumo, por apresentar ausência de *Salmonella sp*. em 25 g. Quanto ao valor apresentado de coliformes a 45 °C e 35 °C indica a presença desses microrganismos com resultados muito abaixo dos níveis de tolerância permitidos pela legislação, máximo de 10^2/g (BRASIL, 2001). Os valores estão demostrados na Tabela 7.

Tabela 7: Resultados da análise microbiológica do pequi (*Caryocar villosum*).

Coliformes 35°C e 45°C	***Salmonella sp*.**	**Bolores e leveduras (UFC)**
< 3 nmp/g	Ausência	3,7x10

n:3

Contudo por se tratar de um fruto com teor de umidade elevado na polpa realizou-se a análise para bolores e leveduras, onde, o fruto apresentou 3,7x10 UFC/g, demostrando que os frutos estavam em boas condições, pois de acordo com a legislação, o alimento se torna inapto para consumo a partir de 10^6 UFC/g (BRASIL, 2001).

5.1.2. Análise biométrica.

O fruto maduro e recém colhido apresentou peso médio de 184,3 ± 51,4 g (Tabela 8). Bezerra et al. (2007) obtiveram 202,99 g, maior que o obtido, assim como o relatado por Donadio et aI. (2002) com média de 300 g. O epicarpo representou a menor porção 24,262 ± 11,493 %, apresentando maior rendimento que o mesocarpo. Bezerra et al. (2007) obtiveram 58,63%, de 119,03 g, do rendimento do epicarpo e 14,77 g de mesocarpo, representando 7,28% do peso do fruto. Apresentaram-se

carnoso e de fácil destaque da semente, como relatados por Souza et aI. (1996) e Donadio et aI. (2002), quando observaram uma proporção de 65% de epicarpo. Estão representados na Tabela 8 os parâmetros e valores obtidos da análise biométrica realizada no fruto pequi.

Tabela 8: Resultados biométricos do fruto pequi (*C. villosum* Alb. Pers)

Parâmetros	Valores obtidos (Média ± desvio padrão)
Amostras	100
Comprimento (cm)	7,12 ± 0,9
Largura (cm)	6,78 ± 0,7
Fruto (g)	184,3 ± 51,4
Epicarpo (g)	24,3 ± 11,5
Mesocarpo (g)	109,4 ± 40,9
Semente (g)	49,9 ± 14,2

n: 100

O rendimento das partes comestíveis do fruto do pequi foi de 59,37% para o mesocarpo, essa proporção está acima ao relatado por Donadio et aI. (2002) com mesocarpo do pequi representando 10% do peso do fruto, 13,17% do epicarpo e de 27,09% para as sementes. PESCE (1941), citado por Peixoto (1973), observou que o fruto de pequi é constituído com 35% de semente, sendo este último composto por 31,75% de polpa amarela oleosa (endocarpo), totalizando 11,11% do fruto. O peso médio obtido de 184,247 g para o fruto mostra que se consumirmos esse fruto conseguiremos suprir aproximadamente 26% das nossas necessidades calóricas diárias (Tabela 11).

5.1.3. Análises físico-químicas.

Na Tabela 9 estão representadas as análises físico-químicas referentes aos aspectos característicos do mesocarpo fresco em comparação com resultados obtidos por outros autores.

Tabela 9: Análises físicas e químicas do mesocarpo de pequi (*C. villosum*) *in natura*.

Parâmetros	Valores obtidos	Valores obtidos por Sousa et al. (2012)	Valores obtidos por Bezerra et al. (2007)

pH	3,4 ± 0,00	5,21	5,23
Acidez total titulável (g /100g)	7,20 ± 0,03	0,28	5,54
Sólidos Solúveis Totais °Brix (SST)	12,36 ± 0,00	4,50	19,33
Índice ratio (SST/acidez)	21,78	--	3,49

*base úmida n:3

No ponto de vista industrial um alimento de baixa acidez é propício ao desenvolvimento de microrganismos patogênicos e à deterioração, neste estudo o pH da polpa foi de 3,4 medido a uma temperatura de 25°C, inferior ao resultado obtido por Bezerra et al. (2007) de 5,23 e de Sousa et al (2012) com 5,21 na espécie *Caryocar coriaceum* Wittm, Paz et al. (2014) obteve pH neutro, 7,0 ± 0,01, com a espécie *Caryocar brasiliense* Camb. Em estudo realizado por Oliveira et al. (2010), ao realizar a caracterização físico-química de trinta e cinco (35) frutos do pequizeiro obteve a média de 6,9 no pH da polpa da espécie *Caryocar coriaceum*. A acidez total titulável (g /100 g) encontrada na polpa foi 7,20 ± 0,03 g. Valor superior em comparação aos obtidos por Bezerra et al. (2007), de 5,54, e por Souza et al. (2012).

A quantificação de sólidos solúveis totais (SST) apresentou resultado inferior, 12,36°Brix, em comparação ao obtido por Bezerra et al. (2007) de 19,33°Brix e por Paz et al. (2014) com 15,2 ± 1,06, mas superior ao encontrado por Souza et al. (2012), 4,50 °Brix, e Oliveira et al. (2010), 10 °Brix. Ao se relacionar a acidez com SST obteve-se o índice ratio de 21,78, superior ao encontrado por Bezerra et al. (2007), 3,49 e por Oliveira et al. (2010), 6,67. Segundo Volpe et al. (2002), o ratio ou índice de maturidade é o método de avaliação utilizado para determinar a maturidade e a época de colheita dos frutos, sendo que para este fruto ainda não há uma determinação da indústria quanto a este índice que proporcione maior qualidade do suco, como ocorre para a laranja onde seu índice de maturação favorável está situado entre 11 e 14 (STUCHI et al., 1996).

5.1.4. Análise granulométrica.

Na Tabela 10 está representada a análise granulométrica da polpa do mesocarpo do pequi liofilizada com a abertura média (AM) das peneiras e a variância pelo método algébrico, classificando o tamanho aproximado.

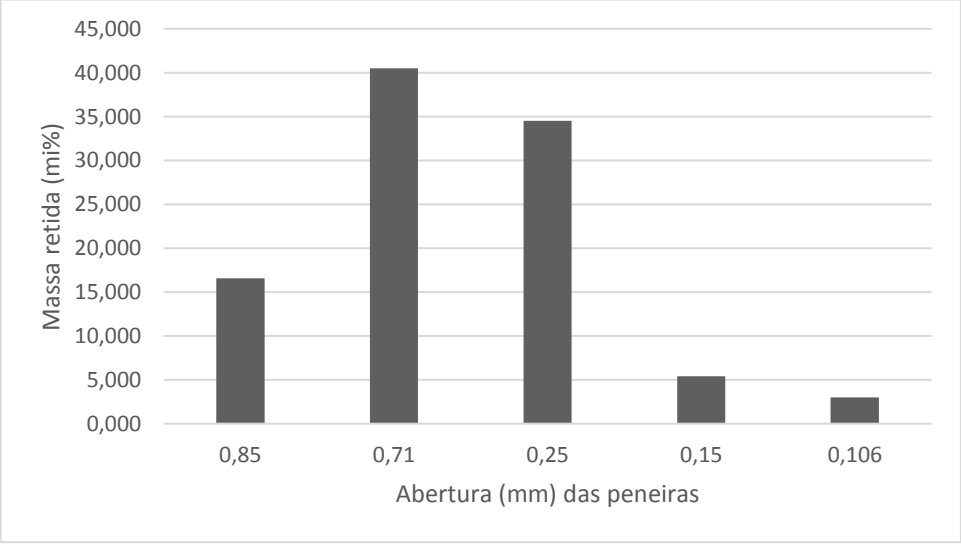
Tabela 10: Resultado da análise granulométrica pelo método algébrico da polpa de pequi liofilizada.

	ABERTURA MÉDIA (AM)	CV (%)
MÉTODO ALGÉBRICO	0,567	42,518

n:3

Como observado na Tabela 10 a polpa de pequi liofilizada se concentrou na peneira de abertura de 0,567 mm, sendo este o tamanho máximo das partículas, na Figura 6 está representada a massa retida nas peneiras com suas respectivas aberturas.

Figura 6: Massas de polpa de pequi liofilizada retidas nas peneiras com suas respectivas aberturas.



Se considerarmos a instrução normativa n°52, de 7 de novembro de 2011 (BRASIL, 2011) para farinha de mandioca, a farinha de pequi se enquadraria em tipo grossa, pois o produto ficou retido em mais de 10% na peneira com abertura de 2 mm.

5.1.5. Composição centesimal

Na Tabela 11 estão representados os resultados obtidos em relação ao mesocarpo do pequi em base seca, que serão utilizados para se comparar com resultados obtidos por outros autores.

Considerando os resultados de composição centesimal destacados na Tabela 11, verificou-se que o pequi apresentou baixo teor de umidade em comparação com os valores obtidos por Berto et al. (2015) e Chisté e Mercadante (2012), contudo o resultado de 27,715 ± 0,017 ainda é alto é desfavorável quanto à conservação, ainda mais um fruto que é considerado oleaginoso, podendo propiciar a rancidez do óleo.

A polpa apresentou teores de cinzas superiores ao valor obtido por Berto et al. (2015) e inferiores ao encontrado por Chisté e Mercadante (2012). De acordo com Ferreira et al. (1988) os teores de resíduo mineral fixo são mais significativos na amêndoa do fruto do que no mesocarpo.

Tabela 11: Valores obtidos na composição centesimal da polpa de pequi (*C. villosum*) comparando aos encontrados em literatura.

Parâmetros	Valores obtidos	Valores obtidos por Berto et al. (2015)	Valores obtidos por Chisté e Mercadante (2012)
Umidade (%)	27,72 ± 0,02	43,70 ± 0,21	51,7 ± 0,4
Cinzas (%)	0,83 ± 0,01	0,45 ± 0,01	1,1 ± 0,01
Proteínas (%)	3,08 ± 0,01	14,63 ± 0,15	3,7 ± 0,9
Lipídios (%)	46,78 ± 0,69	1,80 ± 0,02	25,5 ± 0,75
Carboidratos (%)	21,59	39,42	18,0
Açúcares totais (%)	13,37 ± 0,21	--	--
Açúcares redutores (%)	10,77 ± 0,17	--	--
Açúcares não redutores (%)	2,6	--	--
Sacarose (%)	2,47	--	--
VET (kcal.100 g^{-1})	519,71	296,55	290,67

*base seca n:3

Em relação ao teor de proteínas, observou-se que a polpa de pequi apresentou valores inferiores aos de Berto et al. (2015) e similar ao de Chisté e Mercadante (2012). De acordo com Marx et al. (1997), ao quantificar os aminoácidos do mesocarpo do pequi encontrou quantidades consideráveis em mg/100 g de valina (11,80), leucina (14,62), asparagina (18,16), Glutamina (10,36) e alanina (17,20).

A farinha do pequi poderá ter aplicabilidade na indústria para a agregação de valor antioxidante em alimentos, devido à grande concentração destes nesta parte do fruto, como demostrado no tópico 5.5. na quantificação de compostos fenólicos, também foi notada a aplicação da farinha da amêndoa do pequi em formulações de barras proteicas devido a quantidade considerável de proteínas presente nesta parte do fruto (35,30 ± 0,07), embora isso dependerá de seus fatores físicos e químicos (forma; composição de aminoácidos; relação hidrofobicidade/ hidrofilicidade; estruturas primárias, secundárias, terciárias e quaternárias; flexibilidade/rigidez; e habilidade de reagir com outros componentes), que afetam o comportamento no alimento durante o processamento, o armazenamento e a preparação, determinando os atributos finais de qualidade do produto.

Os valores de lipídios se mostraram superiores aos obtidos por Chisté e Mercadante (2012) e Berto et aI. (2015), possivelmente por o último utilizar extração lipídica por Bligh and Dyer, mas inferiores aos de Marx et al. (1997) de 64,50%. De acordo com Araújo et al. (2007) e Xavier (2011) o óleo é rico em ácido oléico e palmítico e rico em ácidos graxos insaturados.

A concentração de carboidratos foi superior aos valores obtidos Chisté e Mercadante (2012) e Marx et al. (1997), mas inferiores ao de Berto et al. (2015), tais valores são justificáveis pelos valores de açúcares totais de 13,243 ± 0,212% e a presença de 10,769 ± 0,167% de açúcares redutores, 2,597% de não redutores e 2,467% de sacarose.

Ao comparar os resultados de açúcares totais com os de carboidratos da Tabela 10 há uma diferença de 5%. Tais valores podem ser explicados ao se optar pelo cálculo da diferença para carboidratos pela legislação este mostrou o valor total proveniente das perdas das glicoproteínas e dos carboidratos presentes nas fibras obtidas das reações ácidas.

O valor energético total (VET) apresentou-se superior em comparação aos demais resultados utilizados como parâmetros comparativos mostrando que o

consumo de 100 g de polpa do pequi (aproximadamente um fruto) consegue suprir aproximadamente 26% das necessidades calóricas de um adulto com base em uma dieta de 2.000 kcal.

5.1.6. Análise de carotenoides.

A Tabela 12 mostra a análise de carotenoides do mesocarpo de pequi com seus respectivos resultados e com resultados encontrados na literatura.

Tabela 12: Resultado de carotenoides do mesocarpo de pequi da espécie *Caryocar villosum* em base seca comparado aos resultados encontrados em literatura.

	Carotenoides (µg de β-caroteno/g)	**Carotenoides (µg de luteína/g)**	**Carotenoides totais (µg/g)**
Valores obtidos	3,3 ± 0,44	3,3 ± 0,44	6,60 ± 0,44
Valores obtidos por Chisté e Mercadante (2012)	0,7 ± 0,4	2,8 ± 0,4	--
Valores obtidos por Machado et al (2013)	4,42 ± 0,15	--	--
Valores obtidos por Machado et al (2015)	103,41 ± 4,92	--	--

*Base seca n:3

Os teores de carotenoides (µg/g para β-caroteno e luteína) encontrados no mesocarpo do fruto foram 3,296 ± 0,439 e 3,3 ± 0,439, respectivamente, que se apresentaram superiores aos encontrados por Chisté e Mercadante (2012), 0,7 µg β-caroteno /g e 2,8 ± 0,4 µg luteína/g e inferiores aos encontrados por Machado et al (2013) e Machado et al (2015), essas divergências podem estar relacionadas aos possíveis solventes utilizados e/ou seus métodos de extração empregados, com o ponto de maturação e das condições edafoclimáticas da planta. Os compostos pertencentes ao grupo de carotenoides possuem propriedades antioxidantes. O β-caroteno é o maior precursor provitamínico A, assim como outros carotenoides

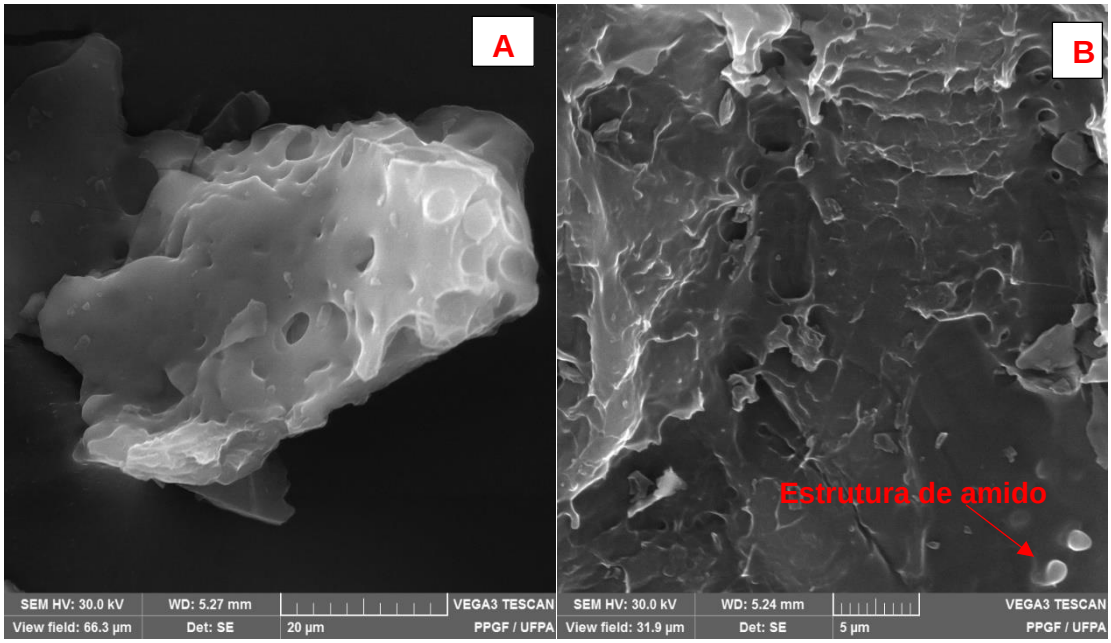
(licopeno, luteína e zeaxantina) possuindo capacidade de diminuir riscos de câncer, catarata, aterosclerose e atuar como neutralizadores de radicais livres e de outras espécies reativas de oxigênio, como o oxigênio singlete, principalmente em função de suas estruturas de duplas ligações conjugadas (FERRARI; TORRES, 2002; OLMEDILLA et al., 2001; SIKORA et al., 2008).

Os carotenoides totais presentes no mesocarpo do fruto de pequi podem apresentar variabilidade significativa dependendo da espécie, região e outras características edafoclimáticas como observado no estudo de Cordeiro (2012), onde este coletou frutos de pequi, da mesma espécie, em quatro regiões diferentes obtendo uma variação de carotenoides totais de 8,37 mg. 100 g^{-1} em frutos coletado na árvore e 11,34 mg. 100 g^{-1} em pequis mantidos três dias em condições ambientais, após a queda natural.

5.1.7. Análise de microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Nas figuras 7A, 7B e 8 estão representadas as micrografias realizadas em microscopia eletrônica de varredura do mesocarpo de pequi desengordurado e liofilizado.

Figura 7: Estrutura geral da polpa de pequi (A) e estrutura com granulo de amido (B).

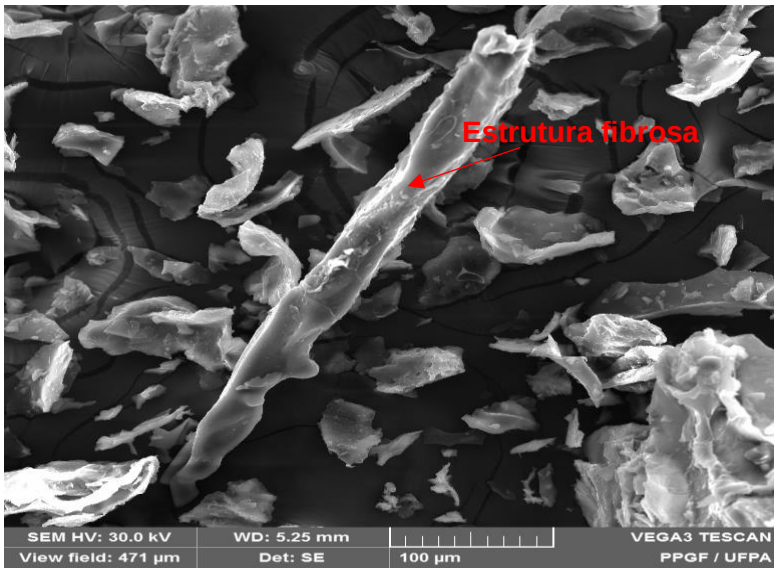


O estudo das estruturas microscópicas do mesocarpo do pequi tem como objetivo ampliar e ratificar o conhecimento a respeito da composição e caracterização das estruturas morfológica dessa matéria-prima, para desenvolver parâmetros de identificação de sua estrutura microscópica em alimentos elaborados a partir da mesma.

Nas Figuras 7A e 7B se têm uma visão geral da estrutura irregular com poros e com o interior cavernoso, notando-se a presença de grânulos de amido distribuídos de forma não uniforme e apresentando formatos ovais.

A microscopia da Figura 8 mostra uma estrutura fibrosa lisa, possivelmente devido à temperatura e à utilização de solventes na extração lipídica, diferente do observado por Ribeiro (2012) que observou em sua micrografia estrutura fibrosa do pequi e a superfície com placas agregadas.

Figura 8: Estrutura fibrosa da polpa de pequi encontrada em espectroscopia a 100 µm.

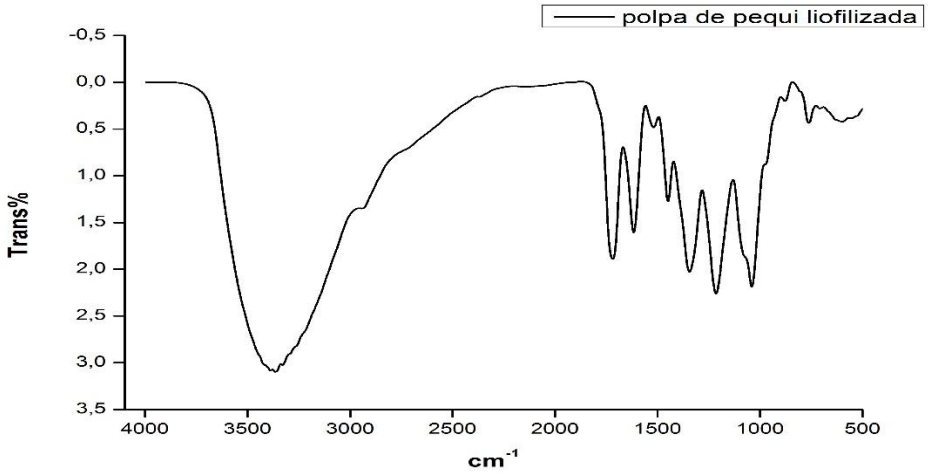


As características observadas nos grânulos de amido do pequi são semelhantes às encontradas por Cunha (2016) e Rodrigues (2014), nos grânulos de amido de araruta, sendo empregada no preparo de confeitos e na panificação, tornando esse material como um incremento a mais na diversificação de compostos e matrizes combinadas para utilização nos diversos setores da indústria alimentícia.

5.1.8. Análise de infravermelho da polpa do mesocarpo do pequi liofilizada.

A Figura 9 mostra a análise de infravermelho por módulo de transmitância da polpa de pequi liofilizada, com a intenção de verificar os compostos presentes em sua estrutura.

Figura 9: Infravermelho da polpa de pequi liofilizada por transmitância.



Se compararmos as bandas do gráfico da Figura 9 com o Quadro 1 pode-se inferir que a banda larga de 3500 cm^{-1} até 3300 cm^{-1}, característicos dos grupos aminas e amidas (N – H), semelhantes às bandas espectrais da amêndoa de pequi, estudo realizado por Amorim (2016), observou na amêndoa *in natura* a presença do estiramento da ligação -OH das proteínas, ácidos graxos, carboidratos e lignina presentes, podendo também ser atribuído a presença de água adsorvida na banda centrada a 3410 cm^{-1}, além da contribuição nessa região ao estiramento da ligação amida (N-H). Picos a cerca de 2928 cm^{-1} e 2818 cm-^{1} foram atribuídos aos grupos metil e metileno (C-H) e a presença dos grupos carbonila (C = O), encontrados em 1730 cm^{-1}, confirmando a presença de ácidos graxos presentes, a banda próxima a 1000 cm^{-1} foi atribuída à vibração de alongamento C-OH proveniente da celulose e

hemicelulose, indicando a possível utilização da polpa liofilizada como um modulador da flora intestinal.

Quadro 1: Intervalos de frequências de grupos para compostos orgânicos.

Ligação	Tipo de composto	Intervalo de frequência	Intensidade
C-H	Alcanos	2850-2970	Forte
		1340-1470	Forte
C-H	Alcenos	3010-3095	Média
		675-995	Forte
C-H	Alcinos	3300	Forte
C-H	Anéis aromáticos	3010-3100	Média
		690-900	Forte
	-Alcoóis e fenóis monoméricos	3590-3650	Variável
	- Alcoóis e fenóis com ligação de hidrogênio	3200-3600	Variável, às vezes alargada
O-H	-Ácidos carboxílicos monoméricos	3500-3650	Média
	-Ácidos carboxílicos com ligação de hidrogênio	2500-2700	Alargada
N-H	Aminas e amidas	3300-3500	Média
C=C	Alcenos	1610-1680	Variável
C=C	Anéis aromáticos	1500-1600	Variável
C≡C	Alcinos	2100-2260	Variável
C-N	Aminas e amidas	1180-1360	Forte
C≡N	Nitrilas	2210-2280	Forte
C-O	Alcoóis, ésteres, éteres, ácidos carboxílicos	1050-1300	Forte
C=O	Aldeídos, cetonas, ácidos carboxílicos, ésteres	1690-1760	Forte
NO_2	Nitrocompostos	1500-1570	Forte
		1300-1370	

Fonte: Skoog, Holler e Neieman (2002).

Bandas em torno de 1650 e 1500 cm^{-1} também podem ser observadas, sendo características da presença de anéis aromáticos (C = C), e na faixa de 1750 cm^{-1} há a presença do grupo carbonila (C = O), pertencentes ao metil ésteres, cetonas, aldeídos frequentes em ácidos graxos de cadeia longa, encontrados em óleos como patauá e buriti (FIGUEIRA, 2012), macaúba (DEL RÍO et al., 2016), castanha-do-brasil (SANTOS, 2012).

Notam-se ainda bandas nas faixas entre 1000 cm^{-1} e 1300 cm^{-1}, característico de ésteres saturados (C – O – C); em faixas próximas a 1290 a 1050, características de álcoois, ésteres, éteres, ácidos carboxílicos e de ácidos graxos. As menores bandas verificadas estão em torno de 690 cm^{-1} e podem estar ligadas aos alcenos (C – H), podendo ser a sequência de cadeias alifáticas de ácidos graxos.

Outro estudo realizado por Andrade et al (2015), com o pecíolo do buriti com carvão aditivado foi encontrado resultados semelhantes em espectro de infravermelho onde se observou uma banda larga entre 3000 e 3411 cm^{-1}, onde se atribuíu à vibração de estiramento do grupo -OH, indicando a presença de água, bem como grupos carboxílicos ou fenólicos na estrutura do material e a banda de estiramento na região de 2921 cm^{-1} característica de uma estrutura simétrica e assimétrica do grupo metilo. A banda localizada a 1625 cm^{-1} foi relacionada com a vibração de estiramento C = O dos grupos carbonila ou associada com as vibrações de estiramento C = C conjugadas do anel aromático é termicamente estável. A banda localizada na região de 1392 cm^{-1} foi associada aos grupos fenólicos e a banda em 1241 cm^{-1} a deformação do alongamento -OH de grupos carboxílicos (PRAPAGDEE; PIYATIRATITIVORAKUL, 2014). Sendo observado a presença de uma banda na região de 1115 cm^{-1} que se relacionou ao alongamento do grupo -CN característico das aminas.

5.2. Caracterização do óleo do mesocarpo de pequi.

5.2.1. Análises físico-químicas do óleo do mesocarpo de pequi

Na Tabela 13 estão representados os resultados da caracterização físico-química do óleo do mesocarpo de pequi.

Tabela 13: Resultados da caracterização físico-química do óleo da polpa de pequi.

Análises	Resultados
Índice de acidez (mg KOH/g)	3,2 ± 0,14
Índice de peróxido ($mEqkg^{-1}$)	0,21 ± 0,01
Índice de refração	1,46 ± 0,0
Índice de saponificação (mgKOH/g)	195,24
Índice de iodo (g de Iodo/100 g de óleo)	76,88
Índice de oxidação	0,17

n:3

O índice de acidez é uma variável que decorre da hidrólise parcial dos glicerídeos, sendo relacionada com a natureza e a qualidade da matéria-prima, seu resultado pode revelar o estado de conservação de um óleo, baseado na ação deteriorante da temperatura, da luz e do oxigênio, que aceleram a decomposição dos glicerídeos, acompanhados da formação de ácidos graxos livres. Nas pesquisas realizadas no óleo de pequi, Deus (2008), Brandão et al (2006) e Oliveira (2013) obtiveram valores respectivamente de 3,17 ± 0,08; 0,47 e 2,2 ± 0,1 em mg de KOH, mostrando que o valor obtido 3,2 ± 0,14, se encontra similar aos encontrados por Deus (2008) e Oliveira (2013).

Esse valor representa um dos parâmetros de controle de qualidade mais importante para óleos, demostrando que a forma de extração avaliada para o óleo de pequi altera de forma significativa a sua acidez, entretanto, o valor obtido se encontra de acordo com os padrões definidos pela ANVISA para óleos não refinados, estabelecendo valores máximos de 4,0 mg KOH/g de óleo (BRASIL, 2005).

Outro parâmetro de avaliação da qualidade do óleo determinado foi o índice de péroxido, o intuito desta análise é avaliar os estágios iniciais do processo oxidativo. Esta avaliação pode determinar as concentrações de hidroperóxidos que sejam capazes de oxidar o iodeto de potássio, quantificando sua concentração. Sendo o mais utilizado na determinação da qualidade de óleos e gorduras.

O valor encontrado para o óleo de pequi foi de 0,21 $mEqkg^{-1}$, foi inferior aos encontrados na literatura para o óleo de pequi, em Deus (2008) e Santos et al (2010), foram encontrados os valores de 24,16 ± 0,05 e 11,16 ± 0,00, respectivamente, e próximo aos resultados de Brandão et al (2006), 2,98 e Ribeiro (2010) com 0,75. Resultando que a forma de extração avaliada apresenta-se de acordo com os valores determinados pela ANVISA com valor máximo para óleos brutos de 15 $mEqkg^{-1}$ (BRASIL, 2005).

O índice de saponificação, pode ser definido como a quantidade necessária para saponificar uma quantidade determinada de amostra de óleo ou gordura, expressando o número de miligramas de hidróxido de potássio necessário para promover a saponificação de um grama de amostra (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985).

O resultado do índice de saponificação de 195,24 mgKOH/g foi similar aos resultados obtidos por Deus (2008), 194,29 ± 0,05, inferior aos de Ribeiro (2010), 218,66 e superior ao de Santos et al (2010), 97,58 ± 4,06, tais discrepâncias dos resultados podem ser explicadas pelo método de extração, a qualidade do óleo e seu método de conservação, além do período de colheita do fruto (RIBEIRO, 2010; AQUINO et al, 2011).

A avaliação do índice de refração apresenta-se relacionado aos graus de saturação das ligações, podendo apresentar padrões diferenciados por influencia de fatores como o teor de ácidos graxos livres, seu grau de oxidação e tratamento térmico (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985).

O indice de refração apresentado pelo óleo de pequi foi de 1,46, resultado semelhante aos encontrados por Deus (2008) e Santos et al (2010), com 1,41 ± 0,00 e 1,46 ± 0,00, respectivamente. O índice de refração de óleos é relacionado com o indice de iodo e pode ser usado no controle de processos de hidrogenação de óleos insaturados (SANTOS et al, 2010).

O índice de iodo tem o mesmo fundamento que o índice de refração, ou seja, com o grau de insaturação das moléculas de ácidos graxos presentes na gordura. Em Santos et al (2010), este obteve indice de 60,30 ± 0,49 e Ribeiro (2010), 55,18, resultados inferiores ao encontrado no presente estudo, 76,88 g de Iodo/100 g de óleo, tais resultados podem variar dependendo da porcentagem de ácidos graxos insaturados presentes na composição de ácidos graxos (Tabela 14) do óleo, o que pode variar para cada matéria-prima.

Para se utilizar óleos vegetais para fins comestíveis, lubrificantes, combustiveis, entre outros afins, se torna importante o conhecimento de sua estabilidade oxidativa e térmica. Essas informações são úteis para se determinar as condições de tempo de prateleira, além de avaliar a necessidade do uso de antioxidantes (WAYONICK, 2005; MEYER, 2013).

Em Meyer (2013), ao analisar o indice de oxidação de óleos tanto da polpa quanto da semente de cinco especies de frutos oriundos de palmeiras, sendo, brejaúva, juçara, bacaba, pataúa e paxiúba, onde observou maior tendência de oxidação nas sementes de juçara, com iíndice de oxidação com média de 0,5 e na polpa e semente de bacaba, 0,2 e 0,3, respectivamente, por apresentarem maiores percentuais de ácidos graxos insaturados em sua composição, com destaque aos ácidos poliinsaturados. O óleo da polpa de pataúa apresentou baixo valor de oxidação, 0,06 devido ao alto teor de monoinsaturados e baixo de poliinsaturados, o mesmo foi considerado para o óleo da paxiúba com indice de 0,005.

Como parâmetro do índice de oxidação foi utilizado o do dendê, com 0,11, onde, o valor obtido de 0,17, devido ao alto teor de ácidos moinsaturados e baixo de poliinsaturados (Tabela 15), que segundo Meyer (2013), demostram que óleos com semelhanças ao índice de oxidação do dendê possuem menor tendência à oxidação e pode ser utilizado para a produção de biodiesel podendo ser estocado por um tempo igual ao de dendê.

5.2.2. Composição do material graxo do óleo da polpa de pequi

Na Tabela 14 se encontram as porcentagens de ácidos graxos obtidos através da cromatografia gasosa onde esses dados foram utilizados para se calcular os índices de peróxido, iodo e oxidação, presentes na Tabela 13 e a qualidade funcional das frações lipídicas da Tabela 15.

Tabela 14: Composição de ácidos graxos do óleo da polpa de pequi obtida por cromatografia gasosa.

Ácido graxo	**Valores obtidos (% AG)**	**Berto et al (2015) (%AG)**	**Cordeiro (2012) (%AG)**
Ácido octanoico (c8:0)	0,28 ± 0,00	--	0,01
ácido palmitico (c16:0)	26,50 ± 0,00	6,12	40,71
Ácido palmitoleico (c16:1n7)	0,35 ± 0,00	0,25	1,32
ácido esteárico (c18:0)	2,37 ± 0,00	2,18	2,21
ácido oleico (c18:1n9c)	52,67 ± 0,00	59,52	44,85
Ácido linoleico (c18:2n6c)	15,20 ± 0,00	2,88	1,04
Ácido gama-linolênico (c18:3n6)	0,25 ± 0,00	0,11	--
ácido α-linolênico (c18:3n3)	0,46 ± 0,00	0,61	0,51
CLA c18,2 10 trans, 12 cis	1,77 ± 0,00	--	--
Ácido araquídico (C20:0)	Traços	0,06	0,12
Ácidos saturados (ΣA. S)	29,15	6419,27	43,33

Ácidos monoinsaturados (ΣM. I)	53,02	6499,62	46,55
Ácidos poli-insaturados (ΣP. I)	17,68	366,31	1,93
TOTAL	100	--	--

n:2

Os resultados do óleo de pequi demostraram maior relevância dos ácidos graxos: oleico com 52,67%, linoleico com 15,20%, α – linolênico com 0,46%, palmitoléico com 0,35% e gama-linolênico com 0,25%, apresentando ácido linoleico conjugado (CLA), 1,77%, totalizando 53,02% de ácidos graxos monoinsaturados e 17,68% de ácidos graxos poli-insaturados.

Além do ácido oleico outro ácido graxo de maior representatividade foi o ácido palmítico com 26,50%, seguido pelo esteárico com 2,37%, que somando as quantidades em porcentagens obtidas pela presença dos ácidos octanóico, obtiveram o total de 29,15% de ácidos graxos saturados.

Em comparação com os valores obtidos, os resultados de Berto et al (2015) e Cordeiro (2012) apresentaram concentração de ácidos palmítico, palmitoléico e linoleico superiores, mas de linolênico inferiores ao do presente estudo, além de não se ter registros da presença de CLA. O ácido graxo oleico neste estudo foi superior ao encontrando em Cordeiro (2012) e inferior ao de Berto et al (2015) e em ambos os trabalhos foram encontrados resultados semelhantes à concentração de ácido esteárico, demostrando resultados compatíveis com o presente estudo, quanto a composição de ácidos graxos.

Deus (2008), observou que o óleo da polpa de pequi possui características semelhantes, com relação à sua composição em ácidos graxos, ao óleo de andiroba, apresentando 30% no teor de ácido palmítico e 52% em ácido oléico. De acordo com o mesmo autor os ácidos graxos presentes no óleo da polpa e amêndoa de pequi são bastante semelhantes aos apresentados na epiderme, o que possibilita o uso como matéria-prima na formulação de cosméticos.

Zelman (2011) apresentou questionamentos sobre a indicação de diminuição de gordura saturada devido ao aumento de consumo de outros nutrientes tais como carboidratos refinados. Evidências colhidas mostram que a substituição de gordura saturada por carboidratos simples pode ter grande impacto no aumento do risco de doença cardiovascular e diabetes. Os principais efeitos observados quando há troca de gordura saturada por carboidratos são: diminuição Colesterol total, LDL e HDL, aumento triacilglicerol, aumento da incidência de obesidade, diabetes, doença

cardíaca e risco para síndrome metabólica (LOTTENBERG, 2009; SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 2013).

Um exemplo de ácido graxo saturado neutro é o ácido esteárico que não eleva a colesterolemia. A explicação é que a desidrogenação desse ácido graxo é mais veloz do que o alongamento da cadeia, fazendo com que seja mais rapidamente convertido em oleico no fígado, por meio das dessaturases (SOMMERFELD,1983; DAUMERIE et al, 1992; LOTTENBERG, 2009).

A classificação dos ácidos graxos insaturados baseia-se no número de duplas ligações. Denominados mono ou poli-insaturados, eles pertencem a diferentes séries, definidas pela localização da primeira dupla ligação na cadeia de carbono a partir do terminal metila, identificada pela letra w. Dessa forma, esses ácidos graxos são classificados em série w-3, w-6 e w-9. O ácido oleico (C18:1), série w-9, é o mais frequentemente encontrado na natureza, sendo as principais fontes o óleo de oliva e de canola. Onde as populações do Mediterrâneo, reconhecidas pelo alto consumo de ácido oleico, apresentam menor prevalência de obesidade, síndrome metabólica, diabetes tipo 2 e eventos cardiovasculares (DE LORGERIL et al, 2006; LOTTENBERG, 2009).

Os ácidos graxos poli-insaturados, de forma geral, atuam na modulação de vias que poderiam influênciar a colesterolemia: a diminuição da produção hepática de VLDL, precursora da LDL, tanto por maior catabolismo hepático desse ácido graxo nos peroxissomos, quanto por interferência com receptores nucleares e o aumento da fluidez das membranas do hepatócito, alterando a atividade dos receptores de LDL, e da quantidade de receptores hepáticos (TRIPODI et al, 1991; FERNANDEZ, MCNAMAR, 1989; LOTTENBERG, 2009).

Na Tabela 15 estão representados os índices de qualidade funcional, calculados a partir das porcentagens dos ácidos graxos saturados, poli-insaturados e monoinsaturados do óleo de pequi, obtidos da composição de ácidos graxos provenientes da Tabela 14.

Tabela 15: Índices de qualidade funcional do óleo da polpa de pequi.

Índice de qualidade funcional	Resultados
Poliinsaturado/saturado	0,61
Índice de Aterogenicidade	0,38
Índice de Trombogenicidade	0,75
Razão hipocolesterolêmicos e hipercolesterolêmicos	2,58

A relação percentual de polinsaturados/saturados é considerado um fator de grande relevância dos óleos vegetais, expressando a funcionalidade lipídica do material e a potencialidade deste óleo, repercurtindo seus efeitos em diversos processos fisiológicos na prevenção e tratamento de doenças cardiovasculares, aterosclerose, trombose, hipertrigliceridemia, hipertensão, diabetes, artrite, outros problemas inflamatórios e câncer.

No presente estudo esta relação obteve valor superior de Berto et al (2015), 0,06, o resultado da relação obtido se enquadra nas exigencias do Departamento de Saúde e Segurança Social (1984) Dietas, que segundo o mesmo uma relação poliinsaturado / saturado maior que 0,45 são consideradas benéficas e apresentando uma razão menor que 0,45 são consideradas indesejáveis porque podem levar ao aumento dos níveis de colesterol no sangue. No entanto, este índice é limitado quando avaliado isoladamente pois não considerar os efeitos metabólicos dos ácidos monoinsaturados (WILLIAMS, 2000). Considerando essa proporção, com os valores dos ácidos graxos monoinsaturados, obtivemos 1,82, demostrando superiores a 0,45 podendo ser o óleo de pequi uma fonte saudavel para humanos.

Os resultados dos índice de aterogenicidade (I. A) e o índice de trombogenicidade (I. T) em reduzidos valores na composição de alimentos e na proporção das dietas como um todo são um dos mais desejados fatores. Uma vez que revelam uma melhor composição nutricional e funcional como adjuvante na prevenção dos riscos de agravos cardiovasculares, no presente estudo ambos os índices se apresentaram menores que 0,8, podendo influenciar de forma positiva a prevenção de riscos de compromentimento cardiovascular.

Em contrapartida, os resultante da razão Hipocolesterolêmico/ hipercolesterolêmico (H. H) devem ser avaliados inversamente aos índices I.A e I.T, pois seus altos valores estão diretamente ligada ao beneficio oferecido ao metabolismo do colesterol, na formação de lipoproteínas de alta densidade (HDL). Assim, quanto maior o seu valor, mais adequado o óleo será ao consumo humano.

Uma melhor abordagem para a avaliação nutricional da gordura deve ser a utilização de índices baseados em efeitos funcionais de ácidos graxos, pela proporção H / H, calculada de acordo com o conhecimento atual dos efeitos de ácidos graxos individual sobre o metabolismo do colesterol (Dietschy, 1998, Williams, 2000).

Os valores obtidos para essa razão foi de 2,58. Um valor similar (2,08) foi obtido para costeletas de porco (WOOD E ENSER, 1997), quando H / H foi calculado a partir de dados.

5.2.3. Análise colorimétrica.

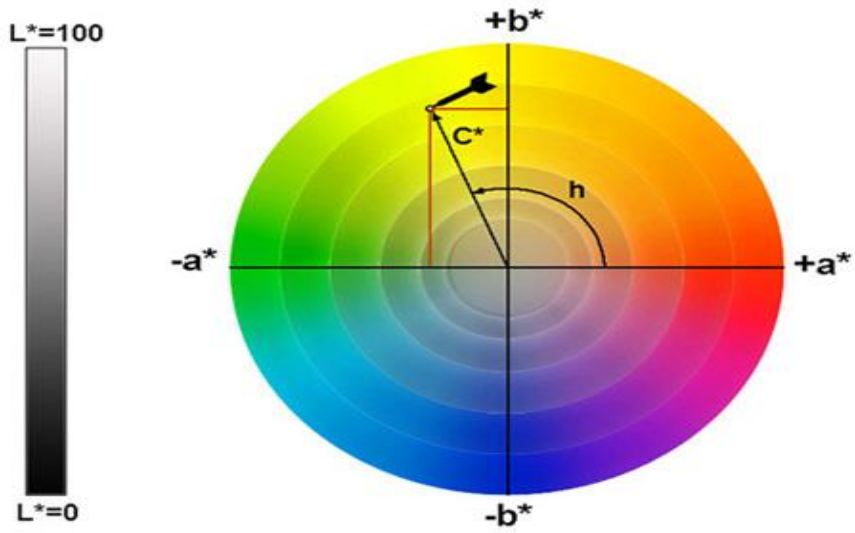
A análise instrumental de cor dos produtos vegetais pode oferecer indicações da qualidade do produto, podendo-se avaliar os aspectos sensoriais, determinações químicas e físicas. Nesta pesquisa, se aplicou a análise colorimétrica no óleo de pequi, onde se utilizou as seguintes coordenadas:

O L *, que representa o brilho ou a luminosidade; a * é o componente vermelho (quando positiva) ou verde (se negativo); enquanto b * representa o componente amarelo (se positivo) ou azul (se negativo).

No gráfico os códigos C * e H também aparecem. C * representa o "chroma" (quantidade, pureza ou saturação de cor) e h corresponde ao "tom", definido como o ângulo (em graus) na roda de cores. (C * e h não são mais do que o equivalente a * cartesiano e b * coordenadas polares cilíndricas).

A Figura 10 está representado as coordenadas de determinação de cor estipuladas pelo CIElab e na Tabela 16, está representado as médias com seus respectivos desvios obtidos na análise colorimétrica desta pesquisa.

Figura 10: Coordenadas de cor determinadas pelo CIElab.



Fonte: Quantotec. Disponível em: http://www.quantotec.com/sp/Colorimetria.htm

Tabela 16: Resultados colorimétricos do óleo da polpa de pequi.

Amostra	Coordenadas de cor			Tonalidade	Saturação
	L*	a*	b*	Hue **	Chroma
Óleo bruto	14,17 ± 0,1	3,32 ± 0,3	12,01 ± 0,18	12,46	74,55

** graus

Em relação à coordenada a*, a amostra apresentou valor positivo (3,32 ± 0,03) indicando tonalidades que tendem ao vermelho e a coordenada b* tendendo ao amarelo.

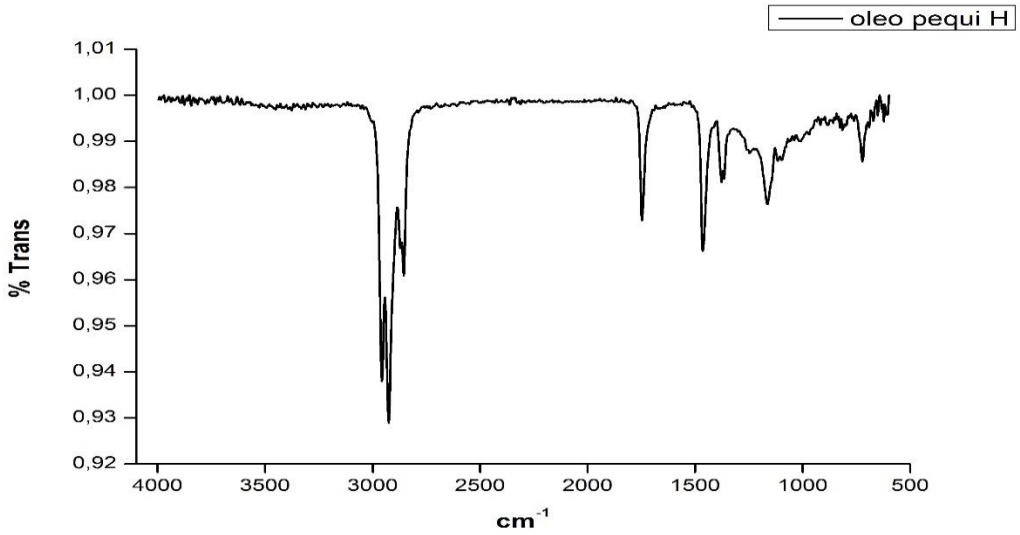
Quanto à tonalidade (hue*) está próxima ao alaranjado, assim como o seu Chroma demostrando a intensidade da tonalidade alaranjada da amostra. O L* da amostra apresentou valor tendendo ao preto, ou seja, o óleo apresenta coloração escura, devido, possivelmente, sua coloração amarela-alaranjada característico dessa matéria-prima.

Em Santos et al (2010), a coordenada b* (68,04) confirmou a cor amarelada do óleo bruto de pequi, indicando possíveis teores de carotenoides. Ribeiro (2010) encontrou valores de L, a* e b* diferentes: 51,8; 10,9; e 38,6, respectivamente, devido à divergência de metodologias empregadas, além das formas de extração do óleo utilizada. Santos et al (2010) conduziram a análise com o óleo em forma sólida, com o óleo extraído a frio, enquanto que em Ribeiro (2010) a amostra foi analisada em sua forma líquida em recipiente incolor translucido sendo o óleo extraído com éter etílico, entretanto em ambos os casos a cor predominante foi a amarela.

5.2.4. Análise de infravermelho do óleo da polpa de pequi.

O resultado apresentado pelo espectro de infravermelho, método ATR, do óleo de pequi proveniente do mesocarpo extraído com hexano via soxhlet, está representado abaixo, na Figura 11. Os resultados das bandas foram comparados aos dados disponíveis no Quadro 1.

Figura 11: Região do espectro de infravermelho pelo método ATR do óleo da polpa de pequi.



Neste espectro, na faixa de absorção das ligações C – H do esqueleto hidrocarbônico, características dos alcanos de forte intensidade, foram observadas faixas de intervalo entre 2980 cm^{-1} até 2870 cm^{-1}. A banda de absorção (H – C e C = O) mostra uma forte característica de grupos funcionais com dupla ligações, presentes nos ácidos graxos insaturados, que podem ser encontrados em torno de 3000, 1600 e 750 cm^{-1}.

Bandas em torno de 1750 cm^{-1} foram observadas como característica do grupo carbonila (C = O), metil ésteres, cetonas, aldeídos frequentes em ácidos graxos de cadeia longa. Nas faixas em torno de 1016 cm^{-1} e 1490 cm^{-1}, característico de ésteres saturados (C – O – C); em faixas próximas a 1290 a 1050, características de álcoois, ésteres, éteres, ácidos carboxílicos e de ácidos graxos. As menores bandas verificadas estão em torno de 690 cm^{-1} e podem estar ligadas aos alcenos (C – H), podendo ser a sequência de cadeias alifáticas de ácidos graxos.

Semelhante característica foi encontrada em extrato hexanóico de pequi da espécie *Caryocar brasiliensis*, em estudo realizado por Geöcze (2011), onde nas bandas 2.919 e 2.851 cm^{-1} foi encontrado o estiramento de C-H de grupamentos CH, CH2 e CH3 comuns em várias classes de compostos alifáticos como os ésteres. Em 1.738 cm^{-1} foi encontrado o estiramento da carbonila, também comum de ácidos graxos. As bandas 1.241, 1.168 e 1.098, foram atribuídas como correspondentes ao estiramento de ésteres. Sendo que segundo a autora a ausência da banda larga (tipo “sino”) de estiramento O-H, entre as faixas de 3400 – 2500 cm^{-1}, indica que a amostra, praticamente, não possui ácidos graxos livres.

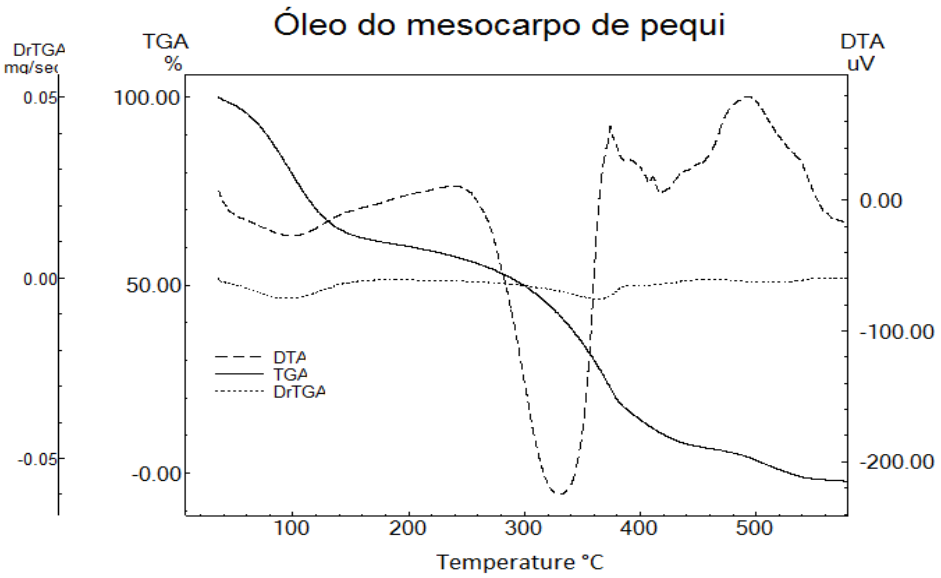
Em Del Río et al (2016), em estudo com os óleos da polpa e amêndoa de macaúba, onde apresentou picos de infravermelho semelhantes ao presente estudo, com picos característicos de grupos funcionais comuns a amostras de éster. A banda a 3005 cm^{-1}, que apareceu no espectro dos óleos, foi atribuída à vibração de estiramento C-H típica de ácidos graxos insaturados. As bandas de absorção a 2921 cm^{-1} e 2852 cm^{-1} são devidas ao alongamento C-H alifático assimétrico e simétrico, respectivamente. A banda característica a 1740 cm^{-1} associada ao estiramento do grupo éster carbonil (C-O-C) em triacilgliceróis. Os picos a cerca de 1155 cm^{-1} a 1237 cm^{-1} foram considerados alongamento de C=O em ácidos graxos de cadeia longa. As bandas a 1115 cm^{-1} e 1097 cm^{-1} provenientes da vibração do alongamento da ligação éster em triacilgliceróis.

5.2.5. Análise térmica do óleo da polpa de pequi.

5.2.5.1. Análise termogravimétrica e diferencial (TG/DTA)

O comportamento das curvas termogravimétrica e diferencial do material graxo em atmosfera de ar sintético está representado na Figura 12.

Figura 12: Análise termogravimétrica e derivada do óleo da polpa de pequi.



Nos resultados apresentados pelas curvas termogravimétricas e diferenciais (TG/DTG e DTA), referentes ao óleo de pequi (Figura 11) pode se observar um evento de decaimento de massa com início em 37°C e com término em 135º C, com perda de 34,7% de massa. A alteração está relacionada ao ponto de ebulição da água presente neste material ou também à degradação de compostos sensíveis a temperaturas elevadas, como antioxidantes e carotenóides presentes no material. O decaimento de massa segue paralelo à elevação progressiva de temperatura com declínio mais evidente no evento entre as temperaturas de 267°C e 376 º C, com a perda de 40,7% de sua massa, seguindo-se esse comportamento até o limiar de destruição total da amostra próximo a 529 ºC.

A termogravimetria derivada (DTG) do material graxo foi plotada para acentuar o ponto mais exato possível do decaimento de massa, sendo mais evidente a partir de sua primeira derivada matemática. O comportamento mostrou-se evidente com projeções de três picos, sendo o segundo de alta intensidade. O principal pico apresentado está situado na temperatura próxima a 279 e 363 ºC, tendo se ponto de máximo mais evidente para a perda de massa em torno de 330 º C, apresentando um ΔH de -15 KJ/g, caracterizando como um pico endotérmico. O último evento de menor intensidade foi encontrado na faixa de temperatura de 500ºC, semelhante ao apresentado na curva termogravimétrica.

Em Ramos et al (2015) a análise dos resultados TG/DTG mostrou que o óleo de pequi é estável à temperatura de 265 °C, após essa temperatura ocorre a

decomposição do composto em duas etapas consecutivas de perda de massa entre 265-371 °C e 371-498 °C com perda de massa de 84,36 e 15,63 % respectivamente.

Em Garcia et al (2007) óleo de polpa de pequi teve estabilidade de material até 290°C, quanto ao óleo de baru e óleo amburana se apresentaram menos estáveis. Segundo os autores, os resultados de estabilidade térmica podem estar relacionados com o grau de insaturação dos ácidos graxos que constituem os óleos. Normalmente, quanto maior o nível de insaturação, menor será a estabilidade térmica. Isto pode ser explicado pelo ponto de ebulição mais baixo dos ácidos graxos insaturados em comparação com os seus equivalentes saturados.

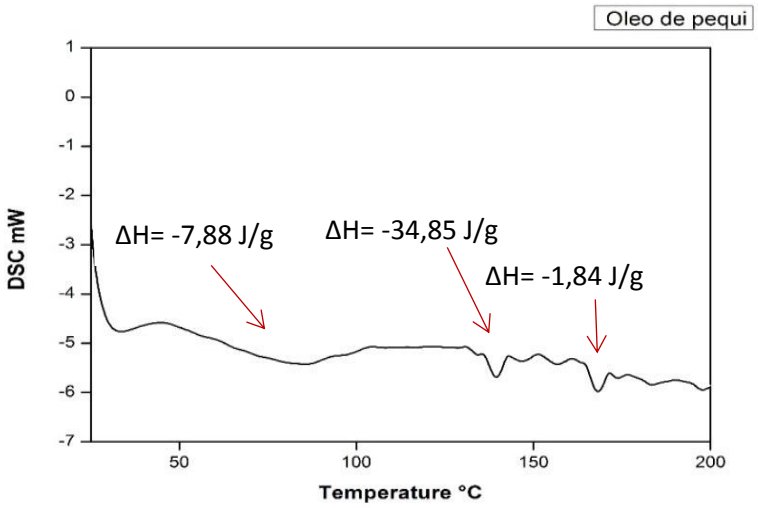
Em Pardauil et al (2010) a alta estabilidade do óleo da polpa de tucumã foi atribuída à grande quantidade de carotenóides e tocoferóis presentes no óleo, apesar da grande quantidade de ácido oleico, 63%, enquanto que a manteiga da amêndoa de tucumã apresentou uma estabilidade térmica menor em relação ao óleo da polpa de tucumã. Segundo os autores, isso se deve à grande quantidade de ácidos graxos voláteis de cadeia curta presentes nas moléculas de triacilgliceróis. Nas curvas TG/DTG dos óleos analisados observou-se que em atmosfera de ar o perfil termogravimétrico apresentou três etapas de decomposição, que podem ser atribuídas à volatilização e/ou decomposição dos triacilglieróis, enquanto que em atmosfera de N_2 apenas uma ou duas etapas foram observadas, sugerindo que em atmosfera oxidante o processo de decomposição ocorre por combustão e em atmosfera inerte por pirólise.

Os resultados encontrados se apresentaram similares aos de Ramos et al (2015) e Garcia et al (2007), principalmente ao que se refere à faixa do pico de estabilidade do óleo, em comparação ao resultado de Pardauil et al (2010), com o óleo da polpa e da amêndoa de tucumã, o óleo de pequi possui maior estabilidade do que o óleo e gordura de tucumã que apresentaram *Tonset* de 216 e 206°C, respectivamente.

5.2.5.2. Análise calorimétrica diferencial exploratória (DSC).

Na Figura 13 mostra-se o gráfico da análise térmica diferencial exploratória (DSC) em atmosfera de nitrogênio do óleo da polpa de pequi obtido pelo método de extração solido liquido via Soxhlet.

Figura 13: Curva da análise térmica diferencial exploratória *(*DSC-Diferencial Scanning Calorimetry*)* do óleo de pequi.



Quanto ao óleo extraído do mesocarpo do fruto submeteu-se a uma temperatura de até 200°C, para avaliar se este se demonstraria estável a altas temperaturas dependendo da aplicabilidade em que este seria utilizado, onde apresentou três curvas endotérmicas, sendo a primeira devido à evaporação de água remanescente, entre 50°C e 95°C, apresentando variação de entalpia ΔH= -7,88 J/g, o segundo apresentou ΔH= -34,85 J/g e terceiro pico com ΔH= -1,84 J/g seriam a volatilização ou decomposição de compostos, conseguindo mostrar que o mesmo é estável a temperaturas até 200°C, podendo ser aplicado como um material para fritura e de assados, além de não ocorrer riscos de degradação do material lipídico da polpa liofilizada do pequi quando adicionada na formulação de chocolate, onde o processo de sua fabricação vai até a temperatura de 50°C.

Em Brandão et al (2006), a curva DSC do óleo de Pequi apresentou duas transições exotérmicas, uma em torno de 180 °C atribuídas à decomposição dos ácidos graxos e outra em 463,96 °C produzida pelo processo de carbonização da amostra, mostrando-se condizente com as faixas de picos obtidas no presente estudo, quanto à estabilidade do óleo a altas temperaturas.

5.3. Líquor de cacau.

5.3.1. Análise físicas do líquor de cacau.

Na Tabela 17 estão representados os resultados com suas respectivas médias e desvios padrões para a caracterização física do líquor de cacau, com a intenção de verificar se este ainda se encontra nos padrões estabelecidos pela empresa Cargill, para ser utilizado nas formulações de chocolate.

Tabela 17: Resultado das análises físico-químicas do líquor de cacau.

Análise	Resultado
Atividade de água (Aw)	0,29 ± 0,01
pH	6,88 ± 0,03

n:3

Em comparação com as recomendações do fabricante para o resultado de pH, o valor obtido demostra-se de acordo com as especificações exigidas para o líquor de cacau, que variam de 6,8 a 7,3.

Embora não tenha sido fornecido um padrão para o valor de atividade de água, o valor obtido se mostra abaixo de 0,6, faixa propícia para a proliferação de micro-organismo, que segundo a análise microbiológica da ficha de controle do líquor se apresentou isenta.

5.3.2. Composição centesimal do líquor de cacau.

Em continuação a caracterização do líquor, na Tabela 18, se encontra a composição centesimal do líquor de cacau, com o intuito de averiguar a qualidade do mesmo e para balancear a quantidade de gordura na formulação dos chocolates.

Tabela 18: Composição centesimal do líquor de cacau.

Análise	Resultado (média desvio padrão)
Umidade	1,42 ± 0,03
Cinzas	5,06 ± 0,02
Proteína	11,52 ± 0,37
Lipídios	52,32 ± 0,02
Carboidratos	29,68
Valor Energético Total (VET)	635,71

n:3

A umidade do líquor se encontrou condizente com a recomendação do fabricante do líquor de cacau, que segundo a especificação estabelece a umidade máxima de 1,75, o mesmo se vale para os resultados de lipídios, onde, o valor encontrado se encontra dentro do especificado de 53,67%.

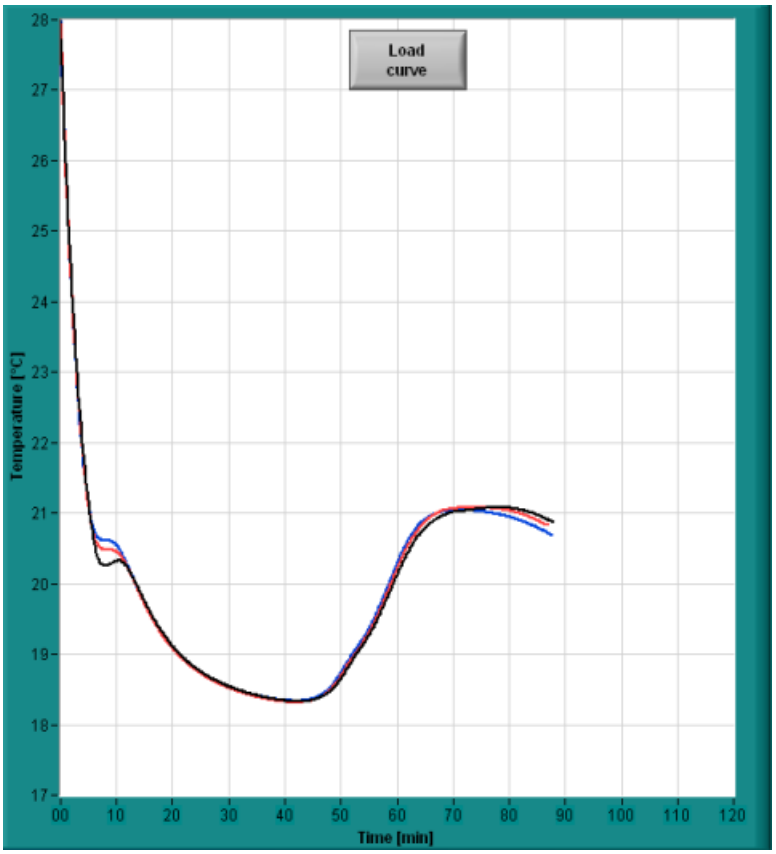
Quanto a análise de proteína, cinzas e carboidratos do líquor, se compararmos os resultados da Tabela 18 com os das formulações de chocolate da Tabela 22, observa-se que as porcentagens de cinzas e valor energético total (VET) são maiores que os da formulação, devido o a adição de outros compostos na produção de chocolate há uma redução desses valores para o produto final. Em contrapartida houve um aumento das porcentagens de carboidratos, que devido a adição de açúcar e da polpa de pequi no chocolate adicionado proporcionaram o aumento de carboidratos. Quanto a proteína houve um aumento significativo no chocolate adicionado com a polpa de pequi.

5.4. Chocolate

5.4.1. Curva de resfriamento da manteiga de cacau e curva de temperagem dos chocolates padrão e adicionado de polpa de pequi liofilizada.

A curva de resfriamento da manteiga de cacau teve como objetivo a verificação da produção de cristais, se encontram-se adequados na manteiga de cacau utilizada. A curva de resfriamento se encontra na Figura 14.

Figura 14: Curvas de resfriamento da manteiga de cacau.



Os resultados da curva de resfriamento da manteiga de cacau expressos em Buhler Crystallization Index™ (BCI™) se encontram descritos na Tabela 19.

Tabela 19: Resultados das curvas de resfriamento da manteiga de cacau.

Análise	Tn (°C)	tn (min)	Q (°C/min)	BCI
BCI	20,5 ± 0,15	8,5 ± 0,45	0,2 ± 0,01	3,7 ± 0,00

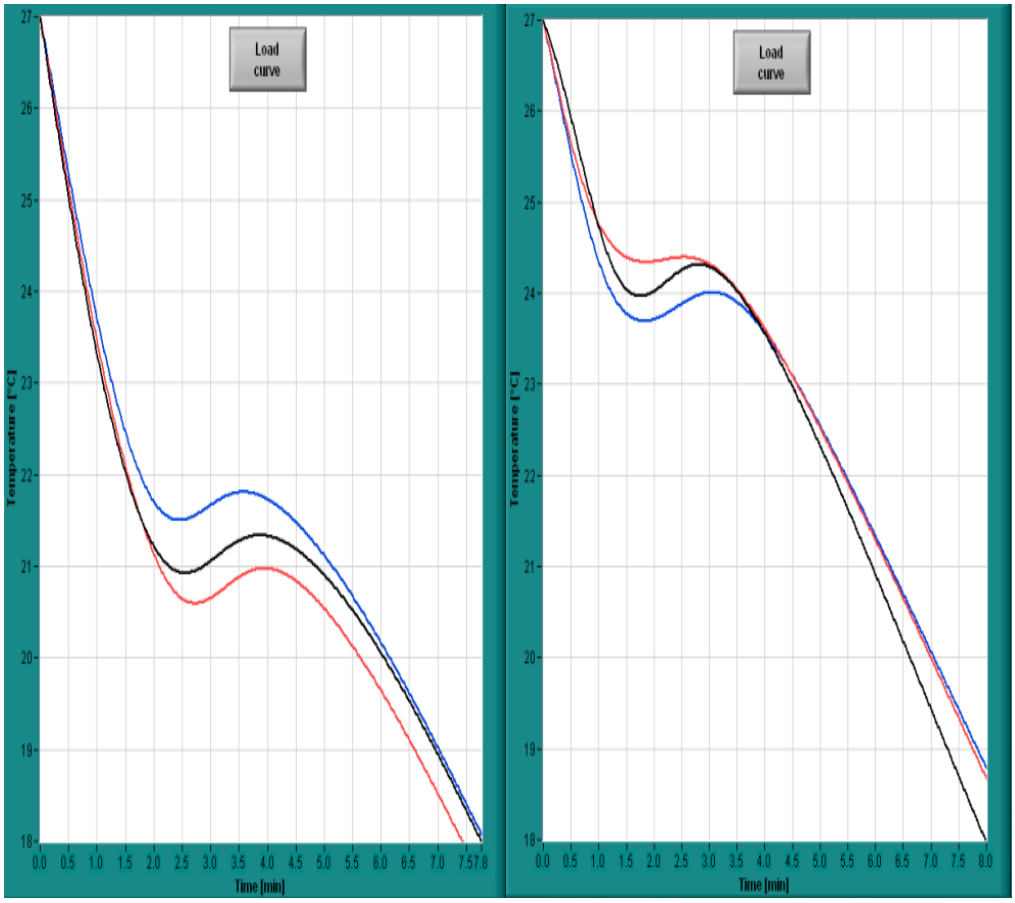
n: 3. Onde: Tn: cristalização; tn: tempo em minutos; Q: Taxa de resfriamento; BCI: Buhler Crystallization Index™.

A curva de resfriamento da manteiga de cacau demonstra suas características de derretimento e a taxa de cristalização, apresentando a adequação desta gordura para utilização em chocolates. O fabricante do equipamento (Buhler) criou um índice para avaliação da qualidade da manteiga de cacau através da sua curva de resfriamento, conhecido como *Buhler Crystallization Index* (BCI). Segundo o fabricante, o BCI encontrado para a manteiga analisada (3,7 ± 0,00) é considerado adequado para produção de chocolates, de acordo com o padrão de qualidade do equipamento, deve-se ter uma oscilação entre 3 e 5 no valor de BCI.

Lannes (1997) estudou a curva de resfriamento de Jensen de diferentes tipos de gorduras utilizadas em chocolate tipo cobertura. Em seu trabalho, a autora demonstrou uma curva de resfriamento da manteiga de cacau originaria do Brasil, Costa do Marfim e Malásia, com taxa de resfriamento de 3,0ºC/min, cristalização a 23,9°C por um tempo de 7,0 minutos, para a manteiga de cacau produzida no Brasil, sendo semelhante ao encontrado. Carvalho (2016) ao realizar a curva de resfriamento da manteiga de cacau obteve valores semelhantes ao encontrado, com taxa de resfriamento de 2,0ºC/min, cristalização a 20,5 ºC por um tempo de 7,8 minutos.

A curva de temperagem foi utilizada para verificação da temperagem realizada, se os cristais adequados da manteiga de cacau, em sua forma estável, foram formados. A curva de temperagem dos chocolates padrão e adicionado de polpa de pequi liofilizada se encontram na Figura 15.

Figura 15: Curvas de temperagem dos chocolates padrão (esquerda) e adicionado de polpa de pequi liofilizada (direita).



Na Tabela 20 estão representados os valores obtidos nas respectivas curvas de temperagem dos chocolates, onde TI_{BR} representa a curva de temperagem do

chocolate padrão e TI_{AD} a curva de temperagem do chocolate adicionado com polpa de pequi liofilizada.

Tabela 20: Resultados das curvas de temperagem dos chocolates padrão e adicionado de polpa de pequi liofilizada.

Análise	Temperatura (°C)	Tempo (min)	Inclinação (°C/min)	TI
TI_{BR}	21,2 ± 0,4	3,1 ± 0,2	0,47 ± 0,04	3,4 ± 0,12
TI_{AD}	24,1 ± 0,3	2,3 ± 0,12	0,34 ± 0,21	3,8 ± 0,7

n: 3

Onde: TI_{BR} chocolate padrão; TI_{AD} chocolate adicionado com polpa de pequi liofilizada;TI Temper Index.

Segundo o fabricante do equipamento (Buhler), a curva de temperagem realiza a liberação de calor proporcionando a solidificação do chocolate. Na formação da curva o gráfico gera dois pontos de inflexão, indicando a formação de cristais. O primeiro ponto refere-se à relação temperatura/tempo em que se inicia a nucleação dos cristais e a segundo o ponto no qual a nucleação realmente ocorre. Há duas formas de avaliar as inclinações geradas a partir dos dois pontos formados: quando a inclinação dá um valor negativo, significa que o chocolate está *over-tempered*, possuindo maior quantidade de cristais formados, liberando assim, menos energia; inclinação positiva, chocolate *under-tempered*, menor quantidade de cristais formados, levando a uma maior dissipação de calor, gerando uma inflexão mais acentuada na curva. (CARVALHO, 2016; ZENG et al,,s.d.).

A curva obtida no presente trabalho apresenta uma linearidade adequada, podendo-se afirmar que na massa de chocolate procedeu-se a uma temperagem adequada, sendo que foi obtido um *slope* de 0,47 ºC/min em tempo de 3,1 minutos e temperatura igual a 21,2ºC. O "*temper index*" (TI), parâmetro utilizado pelo fabricante do equipamento (Buhler) para avaliar a boa performance da temperagem, resultou no valor de 3,4, considerado adequado, para chocolate amargo, o mesmo foi considerado para o chocolate adicionado com TI de 3,8, onde de acordo com o padrão de qualidade do equipamento, deve-se ter uma oscilação entre 3 e 5 no valor de TI

5.4.2. Análises físico-químicas do chocolate.

Na Tabela 21 estão descritos os resultados das análises físicas dos chocolates padrão e o adicionado com 1,5% de polpa de pequi liofilizada com suas respectivas médias e desvios padrões, também foram realizados os testes ANOVA e Tukey, em 5% de significância, para avaliar possíveis diferenças significativas entre as amostras.

Tabela 21: Resultados das análises físico-químicas dos chocolates.

Análise	Chocolate padrão	Chocolate adicionado
Atividade de água (Aw)	$0,43^{a} \pm 0,02$	$0,46^{a} \pm 0,00$
pH	$7,07^{a} \pm 0,03$	$6,32^{b} \pm 0,01$

n:3

Mesma letra, na mesma linha, indica que não há diferença em 5% de significância

O estudo revelou valor de atividade de água de 0,42 em chocolates ao leite, outro estudo realizado por Carvalho (2016), com chocolates ao leite adicionados de couve e de uva liofilizada, encontrou atividade de água de 0,5, não tendo diferença significativas entre o chocolate ao leite padrão e os adicionados.

A atividade de água no presente trabalho se encontra na faixa indicada, sendo que a adição de produto liofilizado não influenciou o aumento dessa atividade. Esse resultado se deve, principalmente, à baixa atividade de água na matéria prima liofilizada.

No pH dos chocolates houve diferença significativa entre ambos devido à adição da matéria-prima liofilizada que possui pH de 3,4 (Tabela 9), que apesar da pequena porcentagem da adição interferiu significativamente no pH do chocolate.

5.4.3. Composição centesimal dos chocolates formulados.

Os resultados da composição centesimal dos chocolates padrão e adicionado com 1,5% de polpa de pequi liofilizada, estão representados na tabela 22 com suas respectivas médias e desvios e com os testes ANOVA e de Tukey, em 5% de significância.

Tabela 22: Resultado da composição centesimal do chocolate padrão e do chocolate adicionado de polpa de pequi liofilizada.

Análise	Chocolate padrão	Chocolate adicionado de polpa de pequi liofilizada
Umidade	1,06 ± 0,07[b]	1,20 ± 0,01[a]
Cinzas	2,47 ± 0,03[a]	2,21 ± 0,02[b]
Proteína	14,40 ± 0,28[a]	14,30 ± 0,25[a]
Lipídios	34,32 ± 0,11[a]	34,67 ± 0,39[a]
Carboidratos	47,8	47,62
Valor energético Total (VET)	557,5	559,73

n:3

Mesma letra, na mesma linha, indica que não há diferença em 5% de significância.

Tanto no chocolate padrão quanto o chocolate adicionado de polpa de pequi liofilizada foi observada diferença significativa entre a umidade e a concentração de cinzas dos mesmos, quanto as demais análises não houve diferença significativa, possivelmente devido à quantidade de material liofilizado adicionado, em 1,5%, não acarretar a diminuição ou aumento dessas composições.

A adição do produto liofilizado foi eficaz em termos de não aumentar o teor de umidade expressivamente das amostras de chocolate. A umidade é um importante parâmetro para o chocolate, pois altos valores de umidade em chocolate podem estar altamente relacionados com o *shelf life* do produto. A formação de uma camada agregada de partículas de açúcar, formando grumos no chocolate, defeito conhecido como *sugar bloom*, torna o chocolate desagradável, pois a película branca formada na superfície do produto altera seu brilho, tornando-o opaco, interferindo tanto no paladar quanto visualmente. (AFOWAKA, 2010).

Umidade com valores acima de 3 % em chocolates podem alterar as suas propriedades de fluxo, levando a um aumento na tensão inicial e na viscosidade do produto (AFOWAKA; PATERSON; FOWLER, 2008). O chocolate com adição de polpa de pequi liofilizada apresentou valores de umidade abaixo de 3% e, portanto, não houve um aumento nesses parâmetros, corroborando, portanto, com os resultados encontrados na análise reológica.

A quantificação de lipídeos não apresentou diferença significativa entre as formulações, tais resultados podem ser explicados devido à baixa adição (1,5%) de polpa de pequi liofilizada ao chocolate, embora, tenha sido adicionado teor de 0,7%

de óleo de polpa de pequi ao chocolate formulado agregando as propriedades desse óleo como altos teores de ácidos oleico, palmítico e linoleico, além dos benefícios a saúde se termos como base os índices de funcionalidade desse óleo.

O conteúdo mineral apresentou diferença significativa com a formulação de adição de pequi. Este resultado era esperado devido ao acréscimo de material sólido/mineral ao produto, que em sua composição é pobre na concentração desse nutriente, assim como na concentração de proteína, como foi discutido no item 5.1.5 da composição centesimal do mesocarpo de pequi da tabela 11.

No valor energético, não houve diferença entre as amostras, devido à semelhança entre a composição de ambas. Afowaka (2010), ao analisar três tipos de chocolate, amargo, ao leite e branco, obteve o valor energético de 132 kcal/30g, 160 kcal/30g e 163 kcal/40g, respectivamente, se realizarmos a conversão para 100g obteremos, 440 kcal para o chocolate amargo, 533,3 kcal para ao leite e 407,5 kcal para o chocolate branco. Demonstrando que o chocolate amargo padrão e o adicionado com polpa de pequi liofilizada se enquadram no valor energético do chocolate ao leite provavelmente, devido à porcentagem considerável de carboidratos e lipídios presentes nos mesmos.

5.4.4. Reologia.

O chocolate é considerado um fluído não-newtoniano, devido a tensão de cisalhamento que não é diretamente proporcional a taxa de cisalhamento. Isso ocorre devido a suspensão de partículas de açúcar e líquor de cacau se encontram dispersas na manteiga de cacau. Os chocolates possuem mais duas características principais: o "*yield stress*", (força mínima necessária para se iniciar o fluxo) e uma viscosidade plástica (energia necessária para que continue a fluir) (LANNES, 1997; AFOWAKA,2010; CARVALHO 2016).

A viscosidade e a tensão inicial de Casson,são parâmetros utilizados na reologia para atestar a qualidade do chocolate durante a sua produção. Esses foram avaliados no presente trabalho para todos os chocolates e os resultados se encontram na Tabela 23.

Tabela 23: Parâmetros de Casson para as formulações de chocolate amargo.

Parâmetros de Casson	Chocolate padrão	Chocolate adicionado
Tamanho de partícula	$22,5^{b} \pm 0,26$	$62,0^{a} \pm 2,4$
Tensão (Pa)	$28,04^{a} \pm 0,21$	$30,65^{a} \pm 1,69$
Viscosidade (Pa.s)	$4,32^{a} \pm 0,40$	$3,98^{a} \pm 0,83$
Coeficiente de determinação	$0,99 \pm 0,00$	$0,99 \pm 0,00$

n:3

Mesma letra, na mesma linha, indica que não há diferença em 5% de significância.

A partir dos resultados apresentados na Tabela 23, não houve diferença significativa entre as viscosidades dos chocolates. As amostras apresentaram tixotropia. Segundo Beckett (2009) A distribuição do tamanho de partícula influência diretamente na qualidade do produto, como na reologia, afetando sua viscosidade pois quanto maior for o tamanho de partícula menor será sua viscosidade, pois ao reduzir o tamanho, há um aumento de fricção entre as partículas, além disso, partículas com tamanho maior que 30 µm são percebidos na boca, levando a uma textura arenosa na boca,e próximas a 20 µm são mais agradáveis sensorialmente, devido não alterar a sua viscosidade ideal (BECKETT, 2009; AFOWAKA, 2010)

Conforme a análise estatística realizada tem-se que a adição de pequi liofilizado altera significativamente o tamanho de partícula do chocolate. O tamanho de partícula desejável para chocolates está entre 20 a 30 µm, como é o caso do chocolate padrão (22,5 µm). Tal divergência do chocolate adicionado com o padrão pode ser explicado, devido a polpa de pequi ter sido adicionada após o término da fabricação da massa de chocolate, em agitação manual, portanto, não passou pelo processo de refino. Essa diferença no processo certamente refletiu no tamanho de partícula do chocolate com adição, que sugere que estas partículas poderão ser sentidas sensorialmente.

Beckett (2009) afirma que os valores normais para chocolate, no caso da viscosidade, vão de 1 a 20 Pa.s. As viscosidades encontradas para o chocolate padrão e o adicionado com polpa liofilizada estão dentro dessa faixa.

Em todas as formulações do presente trabalho foram encontradas altas quantidades de gordura (34,32 g/100 g no chocolate, 34,67 g/100 g no chocolate com adição de polpa de pequi liofilizada), o que justificando a baixa viscosidade de Casson, segundo Afowaka, 2010, quanto maior a quantidade de gordura mais espaços vazios

são preenchidos na estrutura do chocolate, levando a uma maior facilidade no fluxo, consequentemente, menor viscosidade (AFOWAKA,2010).

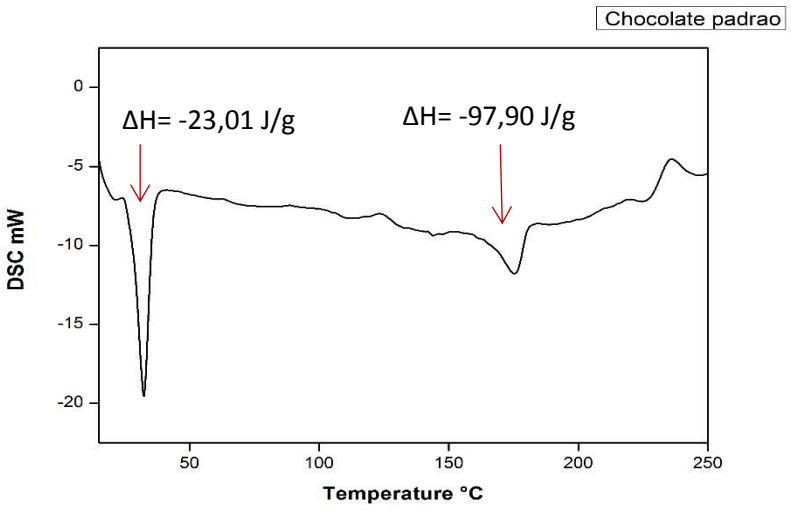
A tensão inicial não apresentou diferença significativa (5%) entre as amostras. Sabe-se que a tensão inicial está relacionada com a superfície de contato das partículas. Quanto menor o tamanho de partícula, maior será a interação entre elas, aumentando sua área superficial, facilitando o escoamento do liquido (AFOWAKA,2010; BECKETT,2009; KONAR,2014).

Apesar de o chocolate com adição de 1,5% de pequi ter sofrido a adição de polpa mecanicamente, vale ressaltar que a quantidade de amostra e o tamanho da partícula da polpa de pequi não foram o suficiente para afetar significativamente a reologia do chocolate adicionado em comparação com o chocolate padrão.

5.4.5. Análise térmica

Na Figura 16 mostra-se a curva da análise térmica diferencial exploratória (*(DSC*-Diferencial Scanning Calorimetry*)*) do chocolate padrão.

Figura 16: Análise térmica diferencial exploratória (DSC-*Diferencial Scanning Calorimetry*) do chocolate padrão.



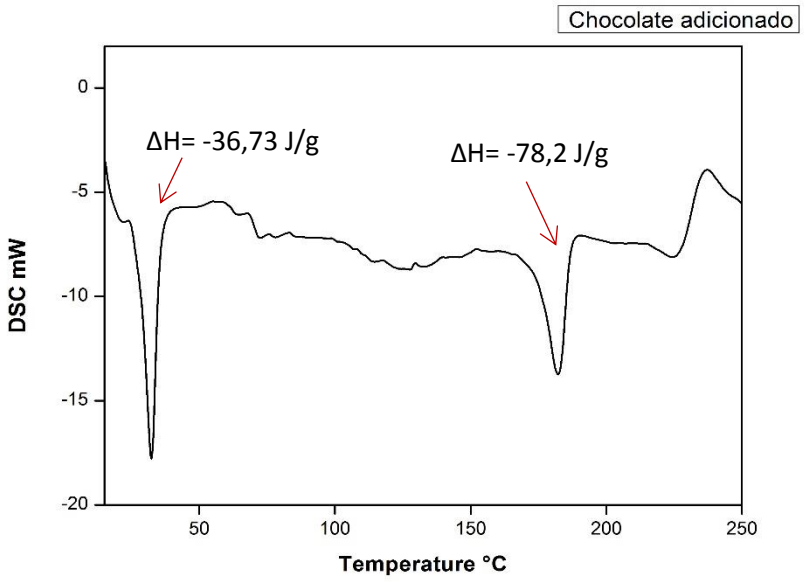
Submeteu-se o chocolate padrão até uma temperatura até 250°C, onde este apresentou duas curvas endotérmicas, tendo alcançado todos os eventos até a

temperatura estabelecida, este gráfico conseguiu mostrar que o mesmo é estável a temperaturas até 50°C, como demostrado no primeiro pico com variação de entalpia ΔH= -23,01J/g, o segundo é a reação de fusão dos cristais de açúcar e a carbonização total da amostra com ΔH= -97,90 J/g.

Resultado semelhante foi encontrado por Glicerina et al. (2013), onde analisaram cada constituinte do chocolate e o mesmo comparando-se as curvas provenientes da análise de DSC e encontraram para a gordura pico entre 25 e 35°C com chocolate temperado e para os cristais de açúcar entre 174 e 190°C.

Na Figura 17 mostra-se o gráfico da análise térmica diferencial exploratória (*(DSC*-Diferencial Scanning Calorimetry*)*) do chocolate adicionado com polpa de pequi liofilizada.

Figura 17: Curva da análise térmica diferencial exploratória (DSC-*Diferencial Scanning Calorimetry*) do chocolate adicionado com 1,5% de polpa de pequi liofilizada.

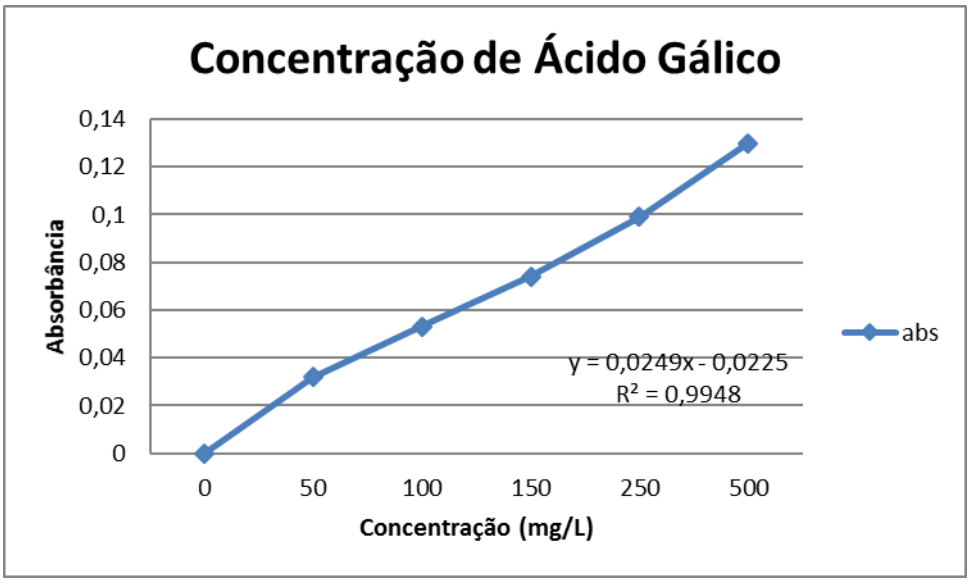


Submeteu-se o chocolate adicionado com polpa a uma temperatura até 250°C, onde este apresentou cinco curvas endotérmicas, tendo alcançado todos os eventos até a temperatura estabelecida, este gráfico conseguiu mostrar que o mesmo é estável a temperaturas até 50°C, como demostrado no primeiro pico com variação de entalpia ΔH= - 36,73 J/g, o segundo ao terceiro pico que correspondem as áreas de 100°C a 140°C, correspondem a oxidação e degradação da polpa liofilizada de pequi adicionada ao chocolate, um diferencial em comparação ao chocolate padrão, e o quinto pico é a carbonização total da amostra com ΔH= -78,2.

5.5. Análise de quantificação de fenólicos totais.

Para a construção da curva padrão de ácido gálico, foi realizada a reação do reagente Folin-Ciocauteau com diferentes concentrações de ácido gálico (0,50,100,150,250 e 500 mg/L). A Figura 18 representa a definição desta curva.

Figura 18: Curva padrão de ácido gálico.



Os diferentes extratos foram colocados em reação com o reagente Folin-Ciocauteau, sendo cada amostra realizada em triplicata.

A partir da curva padrão de ácido gálico, obteve-se a equação da reta que foi utilizada para o cálculo das concentrações de cada extrato. A Tabela 24 representa os resultados obtidos, onde se realizou o teste ANOVA e Tukey com 5% de significância.

Tabela 24: Resultados de fenólicos totais obtidos através da curva padrão de ácido gálico nas amostras de polpa de pequi liofilizada, líquor de cacau, chocolate padrão e chocolate adicionado de polpa de pequi liofilizada.

Amostras	Resultado (µg GAE.ml^{-1})
Polpa de pequi liofilizada	358,43^{c} ± 0,01
Líquor de cacau	523,80^{b} ± 0,01
Chocolate padrão	235,98^{d} ± 0,05
Chocolate adicionado de polpa de pequi liofilizada	813,49^{a} ± 0,03

n: 3

Mesma letra, na mesma coluna, indica que não há diferença em 5% de significância.

Houve diferença significativa em todas as amostras, onde a maior concentração de fenólicos foi no chocolate adicionado, seguido pelo líquor e a polpa de pequi.

O resultado obtido para o extrato da polpa de pequi liofilizado foi superior ao encontrado por Machado et al (2013), de 196,23 ± 3,26 µg GAE.ml^{-1} em extrato metanólico e 216,69 ± 0,69 µg GAE.ml^{-1} em extrato aquoso, em estudo posterior Machado et al (2015), com 277,25, ainda se apresentaram inferiores ao obtido. Em Sangeethapriya e Siddhuraju (2014), ao analisar o extrato de *Zizyphus mauritiana* (jujuba indiana), este obteve 255,4 ± 1,1 µg GAE/g, tais diferenças de resultados podem ser explicados devido a forma de extração do extrato e o método de análise empregado. Carvalho (2016), ao analisar dois métodos de extração e utilizar diferentes solventes para os extratos de uva e couve liofilizada, observou que houve variações nos resultados, também fatores edafoclimáticos dos períodos em que os frutos de pequi foram coletados podem influenciar nos resultados de cada pesquisa.

Se compararmos o resultado do líquor de cacau com o de chocolate padrão nota-se a diminuição da concentração de fenólicos devido a adição de outros ingredientes na fabricação do chocolate. Contudo ao compararmos o líquor com o chocolate adicionado observa-se o aumento de 300% de fenólicos ocasionados pela adição de polpa de pequi, que como relatado em pesquisas já mencionadas o fruto possui capacidade antioxidante relevante e que aliado ao chocolate amargo que

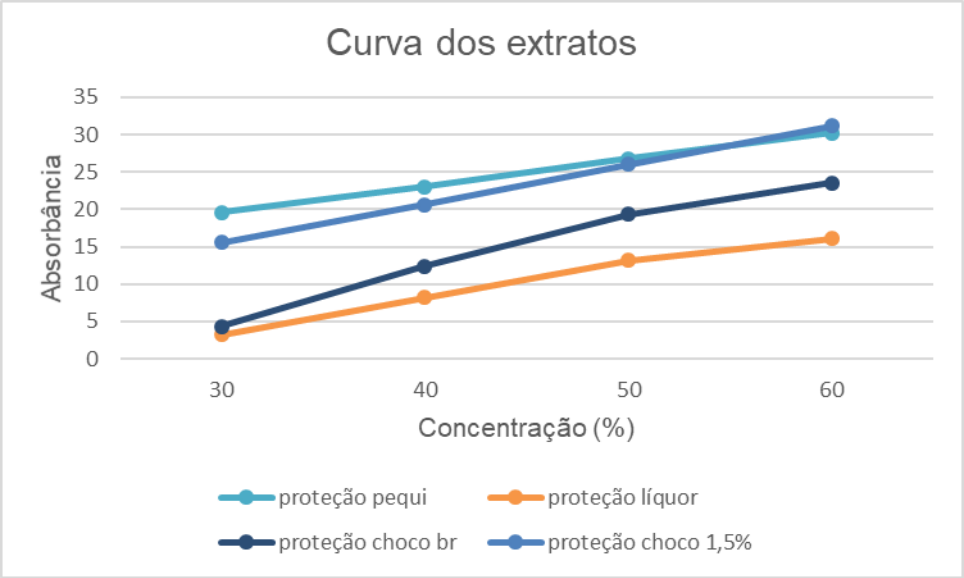
possui maior porcentagem de liquor de cacau propiciam um resultado representativo nesta pesquisa.

5.6. Análise de atividade antioxidante frente ao radical DPPH.

Para realizar o estudo do DPPH, cada extrato foi diluído em diferentes concentrações: 5,10, 20, 30, 40 50 e 60%, para obter um intervalo de absorbância de modo que seja possível verificar a curva de reação.

Os resultados das curvas dos extratos da polpa de pequi liofilizada, do líquor de cacau, e das formulações de chocolate estão representados na Figura 19.

Figura 19: Curvas dos extratos do líquor de cacau, da polpa de pequi, do chocolate padrão e do chocolate adicionado com polpa de pequi liofilizada a partir do radical DPPH.



O aumento da diluição dos extratos há um decaimento da absorbância. A partir destes resultados é possível calcular o IC_{50}, ou seja, a concentração necessária para reduzir a absorbância do DPPH pela metade. Sendo assim, quanto menor for a concentração de IC_{50}, mais potencial antioxidante este extrato tem. Os resultados da atividade antioxidante contra o radical DPPH se encontram na Tabela 25.

Tabela 25: Resultados da atividade antioxidante contra o radical DPPH.

Amostras	Resultado em IC_{50} (mg/L)
Extrato de polpa de pequi liofilizada	191,94
Extrato de líquor de cacau	233,11
Extrato de chocolate padrão	158,87
Extrato de chocolate adicionado com polpa de pequi liofilizada	151,65

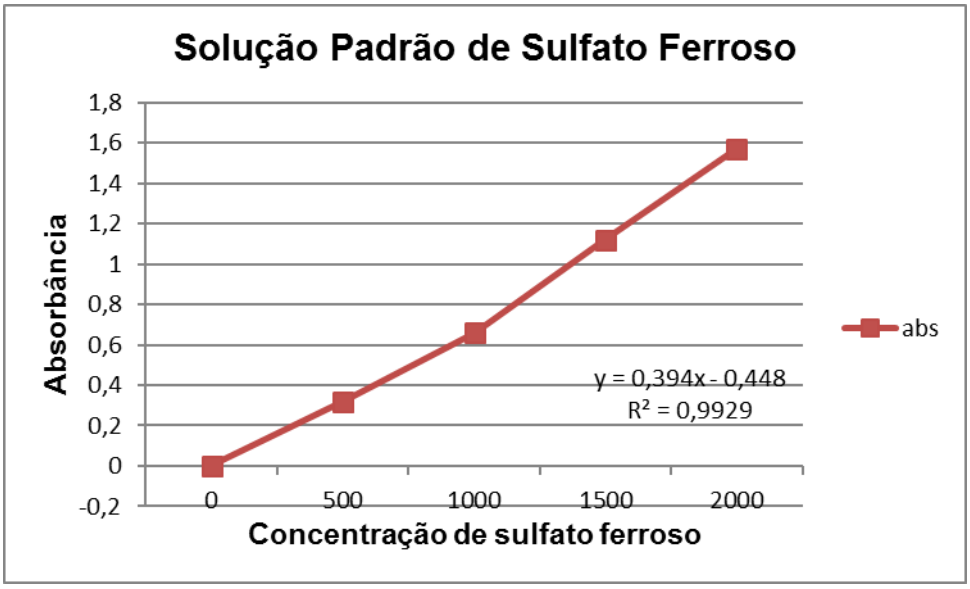
O resultado obtido para o extrato da polpa de pequi liofilizada (191,94 mg/L) foi superior ao encontrado por Carvalho (2016), onde obteve valores 41 mg/L na couve liofilizada e 66,45 mg/L na uva liofilizada. O valor encontrado neste estudo representa baixa capacidade antioxidante, em comparação com o obtido por Carvalho (2016).

Se compararmos os resultados dos extratos obtidos por DPPH, observa-se a que há uma diminuição da concentração em IC_{50} do líquor de cacau com o de chocolate padrão, contudo, há uma diferença visual mais expressiva, ao compararmos o líquor com o chocolate adicionado, onde se observa um aumento da capacidade antioxidante ocasionados pela adição de polpa de pequi, que, com 151,65 mg/L de chocolate com 1,5% de polpa de pequi liofilizada foi capaz de reduzir 50% do radical DPPH presente no sistema.

5.7. Determinação da Atividade Antioxidante Total pelo Método de Redução do Ferro (FRAP).

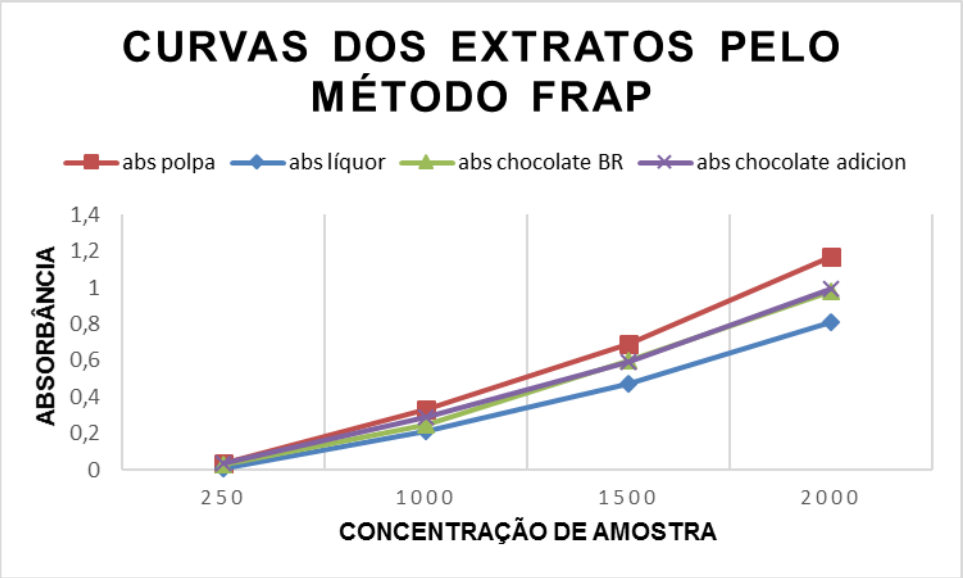
Na figura 20 está representada a curva padrão de sulfato ferroso com a equação da reta da mesma que foi usada para se obter os resultados da tabela 28.

Figura 20: Curva padrão de sulfato ferroso.



Para realizar o estudo de FRAP, cada extrato foi diluído em diferentes concentrações: 250, 500, 1000, 1500 e 2000 µM. Utiliza-se diferentes concentrações para se ter um intervalo de absorbância de modo que seja possível verificar a curva de reação. As retas dos extratos estão exibidas na Figura 21.

Figura 21: Curvas dos extratos de líquor de cacau, da polpa de pequi, do chocolate padrão e do chocolate adicionado com polpa de pequi liofilizada pelo método FRAP.



Se observarmos as retas dos extratos na da Figura 21, acima, nota-se visivelmente que não houve diferença entre o chocolate padrão e o adicionado, e mostra que tanto os extratos de pequi e líquor de cacau, só diferiram entre si a partir da concentração de 1500 µM.

Na Tabela 26, abaixo, se encontra os resultados obtidos através da curva da reta do padrão do sulfato ferroso.

Tabela 26: Resultados obtidos através da curva da reta do padrão do sulfato ferroso.

Amostras	Resultado em mM de Sulfato Ferroso/g
Extrato de polpa de pequi liofilizada	$8,67^{b} \pm 0,01$
Extrato de líquor de cacau	$25,68^{a} \pm 0,03$
Extrato de chocolate padrão	$23,62^{ab} \pm 0,05$
Extrato de chocolate adicionado de polpa de pequi liofilizada	$23,51^{ab} \pm 0,02$

n: 3

Mesma letra, na mesma coluna, indica que não há diferença em 5% de significância.

No extrato da polpa de pequi liofilizado foi superior ao encontrado por Machado et al (2013), FRAP (mM $FeSO4.mL^{-1}$) 2,47 ± 0,050 em extrato metanólico e 2,62 ± 0,007 em extrato aquoso, e em seu estudo posterior onde Machado et al (2015), de 2,62 ± 0,01mM mL^{-1}.

Nesta análise, também houve a diminuição de concentrações do líquor para o chocolate padrão, contudo ao se comparar o anterior com o chocolate adicionado, nota-se que não houve diferença do resultado de antioxidantes expressos em µM de Sulfato Ferroso/g, diferentemente na análise de DPPH, que comparativamente houve diferença entre elas.

Tal resultado é possível devido a capacidade de interação do extrato de pequi liofilizado com o radical TPTZ utilizado na análise de FRAP, demostrando, possivelmente, que os antioxidantes do pequi são mais reativos ao radical DPPH que o TPTZ.

6. CONCLUSÃO

Foram encontrados compostos bioativos na polpa liofilizada de pequi, que apresentou 6,6 µg/g de carotenoides totais. No óleo, os ácidos graxos principais foram palmítico, oleico e linoleico, que influenciaram nos índices de qualidade funcional do óleo, demostrando que o mesmo possui baixa capacidade de aterogenicidade, a relação poliinsaturado/ saturado apresentou-se na faixa indicada como benéfica à saúde, assim como o índice hipocolesterolêmico/ hipercolesterolêmico que se apresentou adequado.

Com a adição de 1,5% de mesocarpo de pequi liofilizado não houve alteração do sabor e na cor do chocolate amargo formulado. O aumento do tamanho de partículas da massa do chocolate formulado não foi suficiente para aumentar sua viscosidade ou a tensão inicial. Ocorreu alteração significativa ($p<0,05$) na umidade e no teor de resíduos minerais do chocolate. A grande quantidade de polifenóis totais presentes no mesocarpo de pequi ocasionou um aumento de 244,5% no chocolate formulado, usando o ácido gálico como parâmetro. A atividade antioxidante, frente ao radical DPPH, gerou um aumento no produto formulado de 7,22%, demonstrando a adição de compostos bioativos ao produto. Foi adicionado teor de 0,7% de óleo de polpa de pequi ao chocolate formulado agregando as propriedades desse óleo como altos teores de ácidos oleico, palmítico e linoleico.

. Na curva de resfriamento da manteiga de cacau encontrou-se o BCI (*Buhler crystallization index*) de 3,7 ± 0,00, sendo considerado adequado para produção de chocolates. Para a curva de temperagem do chocolate formulado em relação ao controle houve um aumento da temperatura inicial da temperagem e diminuição do tempo de total do processo.

A análise térmica apontou que a temperatura de degradação do óleo de pequi suporta temperaturas de até 300°C, demonstrando que a polpa de pequi pode ser aplicada em chocolate. As análises térmicas dos chocolates padrão e adicionado demostraram que ambos suportam até a temperatura de 50°C, não havendo interferência da polpa de pequi no chocolate.

A utilização da polpa do pequi liofilizada como alternativa para o enriquecimento de propriedades nutricionais no chocolate amargo foi comprovada neste trabalho.

7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Com as pesquisas realizadas até o presente estudo, a elaboração de produtos com alta teor de compostos bioativos, se utilizando matéria prima com alta capacidade desses compostos, em prol do benefício ao ser humano, para atingir melhor qualidade de vida, tem sido muito visada para atender um mercado consumidor que possui expectativas em produtos o mais próximo possível do saudável.

Para maior aprofundamento desta pesquisa, técnicas como, difração de RAIO-X, HPLC, textura, testes *in vivo*, *shelf life* e análise sensorial para teste de aceitação do produto formulado, poderiam ser utilizadas para trabalhos futuros.

REFERENCIAS

ABE, L.T.; MOTA, R.V.; LAJOLO, F.M.; GENOVESE, M.I. Compostos fenólicos e capacidade antioxidante de cultivares de uvas *Vitis labrusca* L. e *Vitis vinifera* L. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.27, n.2, p.394-400, 2007.

ABICAB. **Pesquisas e estatísticas**. Disponível em: http://www.abicab.org.br/estatisticas/. Acesso em: 16 mar. 2015.

ACHKAR, M.T.; NOVAES, G.M.; SILVA, M.J.D.; VILEGAS, W. Propriedade antioxidante de compostos fenólicos: importância na dieta e na conservação de alimentos. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, v.11, n.2, p.398-406, 2013.

AFOWAKA, E.O.; PATERSON, A.; FOWLER, M. Factor influencing rheological and textural qualities in chocolate - a review. **Trends in Food Science & Technology**, v.18, n.6, p.290-298, 2008.

AFOAKWA, E.O. **Chocolate science and technology**. Oxford: Wiley-Blackwell, 2010. p.1-2, 12-13, 41-51.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Resolução RDC n°.264, de 22 de setembro de 2005**. Regulamento técnico para chocolate e produtos de cacau. Disponível em: http://www.aeap.org.br/doc/resolucao_rdc_264_de_22_de_setembro_2005.pdf. Acesso em: 10 mar. 2016.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Resolução RDC n.360, de 23 de dezembro de 2003**. Regulamento técnico sobre rotulagem nutricinal de alimentos embalados. Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/res0360_23_12_2003.pdf/5d4fc713-9c66-4512-b3c1-afee57e7d9bc. Acesso em: 10 de mar. 2016.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Resolução RDC n.12 de 2 de janeiro de 2001**. Regulamento técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos. Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/RDC_12_2001.pdf/15ffddf6-3767-4527-bfac-740a0400829b. Acesso em: 3 de jan. 2016.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Instrução normativa n.52, de 7 de novembro de 2011. Regulamento Técnico da Farinha de Mandioca. **Diário Oficial da União**, Brasília – DF, novembro de 2011.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução RDC n° 264, de 22 de setembro de 2005. Regulamento Técnico para Chocolate e Produtos de Cacau. **Diário Oficial da União**, Brasília – DF, setembro de 2005.

AGUILAR, E.C.; JASCOLKA, T.L.; TEIXEIRA, L.G.; LAGES, P.C.; RIBEIRO, A.C.C.; VIEIRA, E.L.M.; PELUZIO, M.C.G.; ALVAREZ-LEITE, J.I. Paradoxical effect of a pequi oil-rich diet on the development of atherosclerosis: balance between antioxidante and hyperlipidemic properties. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.45, p.601-609, 2012.

ALMEIDA, M.R.; AISSA, A.F.; DARIM, J.D.C. GOMES, T.D.U.H. CHISTÉ, R.C.; MERCADANTE, A.Z.; ANTUNES, L.M.G.; BIANCHI, M.L.P. Effect of piquiá (Caryocar Villosum) pulp fruit on oxidative stress, Ephx2 and Tp53 gene expressions in liver of rats. **Nutrition & Health**, v.53, s.2, p.S82, 2012.

AMARAL, A.A; LANNES, S.C.S. **Comportamento reológico de recheios para chocolates com base gordurosa e formulados com polpa de frutas e gomas**. São Paulo, 2013. 140p. Dissertação de Mestrado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade de São Paulo.

AMERICAN OIL CHEMISTS' SOCIETY. **Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society**. 5.ed. Champaign: AOCS, 1998.

AMORIM, D.J.; REZENDE, H.C.; OLIVEIRA, E.L.; ALMEIDA, I.L.S.; COELHO, N.M.M.; MATOS, T.N.; ARAÚJO, C.S.T. Characterization of pequi (Caryocar brasiliense) shells and evaluation of their potential for the adsorption of Pb^{II} ions in aqueous systems. **Journal Brazilian Chemistry Society**, v.27, n.3, p.616-623, 2016.

ANDRADE, R.C.; ALMEIDA, C.F.; SUEGAMA, P.H.; ARRUDA, E.J.; ARROYO, P.A.; CARVALHO, C.T. Buriti palm stem as a potential renewable source for activated carbono production. **Environmental Technology & Innovation**, v.3, p.28-34, 2015.

ANGELO, P.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos: uma breve revisão. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v.66, n.1, p.1-9, 2007.

AQUINO, L.P.; BORGES, S.V.; QUEIROZ, F.; ANTONIASSIB, R.; CIRILLOC, M. A. Extraction of oil from pequi fruit (*Caryocar Brasiliense*, Camb.) using several solvents and their mixtures. **Grasas y Aceites**, v.62, n.3,p. 245-252, 2011.

ARAÚJO, V.F.; PETRY, A.C.; ECHEVERRIA, R.M.; FERNANDES, E.C.; PASTORE Jr., F. **Plantas da amazônia para produção cosmética**: uma abordagem química. Brasília: UnB, 2007. 244p.

ASIMI, O.A.; SAHU, N.P.; PAL, A.K. Antioxidant capacity of crude water and ethylacetate extracts of some Indian species and their antimicrobial activity against Vibrio vulnificus and Micrococcus luteus. **Journal of Medicinal Plants Research**, v.7, n.26, p.1907-1915, 2013.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of AOAC International**. 17.ed. Gaithersburg: AOAC International, 2000. CD-ROM.

BARBOSA, K.B.F.; COSTA, N.M.B.; ALFENAS, R.C.G.; PAULA, S.O.; MINIM, V.P.R.; BRESSAN, J. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição**, v.23, n.4, p.629-643, 2010.

BARTOSZEK, M.; POLAK, J. An electron paramagnetic resonance study of antioxidant properties of alcoholic beverages. **Food Chemistry**, v.132, n.4, p.2089-2093, 2012.

BECKETT, S.T. **Fabricación y utilización industrial del chocolate**. Zaragoza: Acribia, 1994. 432p.

BECKETT, S.T., ed. **Industrial chocolate manufacture and use**. 4.ed. Chichester: Wiley-Blackwell, 2009. 688p.

BERTO, A.; SILVA, A.F.; VISENTAINER, J.V.; MATSUSHITA, M.; SOUZA, N.E. Proximate compositions, mineral contents and fatty acid compositions of native Amazonian fruits. **Food Research International**, v.77, p.441-449, 2015.

BEZERRA, V.S.; PEREIRA, S.S.C.; FERREIRA, L.A.M. Avaliações físico-químicas do mesocarpo do pequi (*Caryocar villosum* (Aubl.) Pers.). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PLANTAS OLEAGINOSAS, ÓLEOS, GORDURAS E BIODIESEL, 3, Universidade Federal de Lavras e Prefeitura Municipal de Varginha, 2007. **Livro de Resumos**. Universidade Federal de Lavras, 2007. p.764–768.

BIANCHI, M.L.P.; ANTUNES, L.M.G. Free radicals and the main dietary antioxidants. **Revista de Nutrição**, v.12, n.2, p.123-130, 1999.

BOFFETTA P.; COUTO E.; WICHMANN J.; FERRARI P.; TRICHOPOULOS D.; BUENO-DE-MESQUITA H.B.; VAN DUIJNHOVEN F.J.; BÜCHNER F.L.; KEY T.; BOEING H.; NÖTHLINGS U.; LINSEISEN J.; GONZALEZ C.A.; OVERVAD K.; NIELSEN M.R.; TJØNNELAND A.; OLSEN A.; CLAVEL-CHAPELON F.; BOUTRON-RUAULT M.C.; MOROIS S.; LAGIOU P.; NASKA A.; BENETOU V.; KAAKS R.; ROHRMANN S.; PANICO S.; SIERI S.; VINEIS P.; PALLI D.; VAN GILS C.H.; PEETERS P.H.; LUND E.; BRUSTAD M.; ENGESET D.; HUERTA J.M.; RODRÍGUEZ L.; SÁNCHEZ M.J.; DORRONSORO M.; BARRICARTE A.; HALLMANS G.; JOHANSSON I.; MANJER J.; SONESTEDT E.; ALLEN N.E.; BINGHAM S.; KHAW K.T.; SLIMANI N.; JENAB M.; MOUW T.; NORAT T.; RIBOLI E.; TRICHOPOULOU A. Fruit and vegetable intake and overall cancer risk in the European Prospective investigation into cancer and nutrition (EPIC). **Journal of the National Cancer Institute**, v.102, n.8, p.529-537, 2010.

BRANDÃO, K. S. R.; NASCIMENTO, U. M.; SILVA, F. C.; SOUZA, A. G.; CONCEIÇÃO, M. M. **Avaliação da estabilidade térmica do óleo de pequi (*Caryocar coriaceum*)**. Poço de Caldas (MG): Associação Brasileira de Análise Térmica e Calorimetria (ABRATEC). 2006.

BRASIL. Companhia Nacional de Abastacimento. **Proposta de preços mínimos**: safras 2015/2016. Brasília: CONAB, 2015. v.2, p.110-114.

BROINIZI, P.R.B.; ANDRADE-WARTHA, E.R.S.; SILVA, A.M.O.; NOVOA, A.J.V.; TORRES, R.P.; AZEREDO, H.M.C.; ALVES, R.E.; MANCINI-FILHO, J. Avaliação da atividade antioxidante dos compostos fenólicos naturalmente presentes em

subprodutos do pseudofruto de caju (Anacardium occidentale L.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.27, n.4, p.902-908, 2007.

CARDONA, F.; ANDRÉS-LACUEVA, C.; TULIPANI, S.; TINAHONES, F.J.; QUEIPO-ORTUÑO, M.I. Benefits of polyphenols on gut microbiota and implications in human health. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v.24, n.8, p.1415-1422, 2013.

CARVALHO, J.C.S. **Desenvolvimento de chocolates ao leite com propriedades funcionais acrescido de folhas de *Brassica oleracea* (couve) e frutos de *Vitis vinífera* (uva)**. São Paulo, 2016. 145p. Dissertação de Mestrado - Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade de São Paulo,.

CERQUEIRA, F.M.; MEDEIROS, M.H.G.; AUGUSTO, O. Antioxidantes dietéticos: controvérsias e perspectivas. **Química Nova**, v.30, n.2, p.441-449, 2007.

CHISTÉ, R.C.; MERCADANTE, A. Z. Identification and quantification, by HPLC –DAD-MS/MS, of carotenoids and phenolic compouds from the Amazonia fruit Caryocar villosum. **Jornal of Agricultural and food chemistry**, v.60, p.p.5884–5892, 2012.

CLAY, J. W.; SAMPAIO, P. T. B.; CLEMENT, C. R. **Biodiversidade Amazônica**: exemplos e estratégias de utilização. Manaus: Programa de Desenvolvimento Empresarial e Tecnológicos, 2000. p.119-131.

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

COLOMBO, N.B.R.; RANGEL, M.P.; MARTINS, V.; HAGE, M.; GELAIN, D.P.; BARBEIRO, D.F.; GRISOLIA, C.K. PARRA, E.R.; CAPELOZZI, V.L. *Caryocar brasiliense camb* protects against genomic and oxidative damage in urethane-induced lung carcinogenesis. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 48, n.9, p. 852-862, 2015.

CORDEIRO, M. W. S.; CAVALLIERI, A. L. F. **Caracterização física e química de frutos de pequizeiro (*Caryocar brasiliense Camb*.) de diferentes regiões do estado de Mato Grosso**. Goiânia, 2012. 51p. Dissertação de Mestrado - Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos - Universidade Federal de Goiás.

CORNER, E. J. H. **The seeds of dicotiledons**. Cambridge: Universidade de Cambridge, 1976. v.1, p.89-90.

CUNHA, A. L. **Caracterização do amido da araruta tipos seta e redonda, visando utilização na indústria de alimentos**. Lavras, 2016. 112p. Dissertação de Mestrado – Universidade Federal de Lavras.

DAUMERIE, C. M.; WOOLLETT, L. A.; DIETSCHY, J. M. Fatty acids regulate hepatic low density lipoprotein receptor activity through redistribution of intracelular cholesterol pools. **Proceedings National Academy Sciences of the United States of America - PNAS**, v.89, n.22, p.10797-801, 1992.

DEAN, L.L.; KLEVORN, C.M.; HESS, B.J. Minimizing the negative flavor attributes and evaluating consumer acceptance of chocolate fortified with peanut skin extracts. **Journal of Food Science**, v.81, n.11, p. S2824–S2830, 2016.

DEGÁSPARI, C.H.; WASZCZYNSKYJ, N. Propriedades antioxidante de compostos fenólicos. **Visão acadêmica**, v.5, n.1, p.33-40, 2004.

DE LORGERIL, M.; SALEN, P. The mediterranean-style diet for the prevention of cardiovascular diseases. **Public Health Nutrition**, v.9, n.1A, p.118-123, 2006.

DEL RÍO, J.C.; EVARISTO, A.B.; MARQUES, G.; MARTÍN-RAMOS, P.; MARTÍN-GIL, J.; GUTIÉRREZ, A. Chemical composition and thermal behavior of the pulp and kernel oils from macaúba palm (*Acrocomia aculeata*) fruit. **Industrial crops and products**, v.84, p.294-304, 2016.

DEPARTMENT OF HEALTH. Nutritional aspects of cardiovascular disease: report of the Cardiovascular Review Group, Committee on Medical Aspects of Food Policy. London: HMSO, 1994, p. 186 (Report on Health and Social Subjects, n.46).

DEUS, T.N. **Extração e caracterização de óleo do pequi (*Caryocar brasiliensis Camb*.) para o uso sustentável em formulações cosméticas óleo/água (O/A)**. Goiânia, 2008. 78p. Dissertação de Mestrado - Universidade Católica de Goiás.

DIAS, T.; MELO, H.C.; ALVES, F.R.R.; CARVALHO, R.F.; CARNEIRO, K.S.; SOUSA, C.M. Compostos fenólicos e capacidade antioxidante em frutos de tomateiros

mutantes fotomorfogenéticos. **Ciência Rural, Santa Maria**, v.45, n.5, p.782-787, 2015.

DÍAZ, B.; GOMES, A.; FREITAS, M.; FERNANDES, E.; NOGUEIRA, D. R.; GONZÁLEZ, J.; LEVOSO, A.M.A.; VINARDELL, M.P.; MITJANS, M.; DOMÍNGUEZ, H.; PARAJÓ, J.C. Valuable polyphenolic antioxidants from wine vinasses. **Food and Bioprocess Technology**, v.5, n.7, p.2708-2716, 2012.

DIETSCHY, J.M. Dietary fatty acids and the regulation of plasma low density lipoprotein cholesterol concentrations. **Journal of Nutrition**, v. 128, p. 444-448,1998.

DONADIO, L.C.; MÔRO, F.V.; SERVIDONE A.A. **Frutas brasileiras**. Jabotical: Novos Talentos, 2002. p.228

DRAZENKA, K.; ULRICH, D.; LOVRIC, T. Characterization of odor-active compouds in croatian Rhine Riesling wine. **European Food Research and Technology**, v. 222, p. 5-6, 2005.

FARAH, A.; DONANGELO, C.M. Phenolic compounds in coffee. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v.18, n.1, 2006.

FARAGE, M.A.; MILLER, K.W.; ELSNER, P.; MAIBACH, H.I. Intrinsic and extrinsic factors in skin ageing: a review. **International Journal of Cosmetic Science**, v.30, p. 87-95, 2008.

FERNADEZ, M. L.; McNAMAR, D.J. Dietary fat-mediated changes im hepatic apoprotein B/E receptor in the guinea pig: effect of polyunsaturated, monounsaturated, and satureted fat. **Metabolism**, v.38, n.11, p.1094-1102, 1989.

FERNÁNDEZ-MURGA, L.; TARÍN, J.J.; GÁRCIA-PEREZ, M.A.; CANO, A. The impact of chocolate on cardiovascular health. **Maturitas**, v.69, p.312-321, 2011.

FERRARI, C.K.B.; TORRES, E.A.F.S. Novos compostos dietéticos com propriedades anticarcinogênicas. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v.48, n.3, p. 375-382, 2002.

FERREIRA, F.R.; BIANCO, S.; DURIGAN, J.F.; BELINGIERI, P.A. **Caracterização física e química de frutos maduros de pequi**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE

FRUTICULTURA, Campinas, 1988. **Anais**. Campinas: Sociedade Brasileira de Fruticultura, 1988. v.2, p.643-646.

FIGUEIRA, L.C. **Espectroscopia vibracional (no infravermelho e raman) e espectrofotometria de absorção uv-vis dos óleos de buriti (*Mauritia flexuosa*) e de patauá (*Oenocarpus bataua*)**. Santarém, 2012. 43p. Dissertação de Mestrado - Universidade Federal do Oeste do Pará.

FRANCO, G. **Tabela de composição química de alimentos**. 9.ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 1992. 307p.

FU, L.; XU, B.T.; XU, X.R.; GAN, R.Y.; XIA, E.Q.; LI, H.B. Antioxidant capacities and total phenolic contents of 62 fruits. **Food Chemistry**, v. 129, n.2, p. 345-350, 2011.

GALUPPO, S.C. **Documentação do uso e valorização do óleo de piquiá (*Caryocar villosum* (aubl) pers.) E do leite do amapá-doce (*Brosimum parinarioides* Ducke) para a comunidade de piquiatuba , floresta nacional do tapajós. Estudos físicos, químicos, fitoquímicos e farmacológicos**. Belém- PA. 2004. 85p. Dissertação mestrado em Ciências Florestais - Universidade Federal Rural da Amazônia.

GARCIA, C.C.; FRANCO, P.I.B.M.; ZUPPA, T.O.; ANTONIOSI, F.; LELES, M.I.G. Thermal stability studies of some cerrado plant oils. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v.87, n.3, p.645-648, 2007.

GENOVESE, M.I.; LANNES, S.C.S. Comparison of total phenolic content and antiradical capacity of powders and "chocolates" from cocoa and cupuassu. **Food Science and Technology**, v.29, n.4, p.810-814, 2010.

GEÖCZE, K.C. **Análise exploratória de carotenoides, óleos essenciais e triacilglicerídios do pequi (*Caryocar brasiliense Camb.*) de municípios brasileiros situados no bioma cerrado**. Viçosa, 2011. 201p. Tese de Doutorado - Universidade Federal de Viçosa.

GLICERINA, V.; BALESTRA, F.; ROSA, M. D.; ROMANI, S. Rheological, textural and calorimetric modifications of dark chocolate during process. **Journal of Food Engineering**, v. 119, p. 173-179, 2013.

GONÇALVES, G. A. S. **Qualidade dos frutos do pequizeiro (Caryocar brasiliense Camb.) submetidos aos processos de congelamento e cozimento**. Lavras, 2007. 146p. Dissertação de Mestrado - Universidade Federal de Lavras.

GÜLTEKIN-ÖZGÜVEN, M.; KARADAĞ, A.; DUMAN, S.; ÖZKAL, B.; ÖZÇELIK, B. Fortification of dark chocolate with spray dried black mulberry (*Morus nigra*) waste extract encapsulated in chitosan-coated liposomes and bioccessabilitity studies. **Food Chemistry**, v. 201, p. 205-212, 2016.

HAMROUNI-SELLAMI, I.; RAHALI, F.Z.; REBEY, I.B.; BOURGOU, S.; LIMAM, F.; MARZOUK, B. Total phenolics, flavonoids, and antioxidant activity of sage (*Salvia officinalis L*.) plants as affected by different drying methods. **Food and Bioprocess Technology**, v.6, n.3, p.806-817, 2013.

IMEH, U.; KHOKHAR, S. Distribution of conjugated and free phenols in fruits: antioxidant activity and cultivar variations. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p.6.301-6.306, 2002.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Procedimentos e determinações gerais. In: _____. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4.ed. São Paulo: IMESP, 2005. cap.IV, p.83-158.

INSTITUTO BRASILEIRO DE OPINIÃO PUBLICA E ESTATÍSTICA. Notícias. 75% dos brasileiros consomem chocolate. 2013. Disponível em: http://www.ibope.com.br. Acesso em: 03 ago. 2016.

KAMMEYER, A.; LUITEN, R.M. Oxidation events and skin aging. **Ageing Research Reviews**, v.21, p.16-29, 2015.

KATZ, D.L.; DOUGHTY, K.; ALI, A. Cocoa and chocolate in human health and disease (Review). **Antioxidants & Redox Signaling**, v.15, p.2779-2811, 2011.

KOMES, D.; BELŠČAK-CVITANOVIĆ, A.; ŠKRABAL, S.; VOJVODIĆ, A.; BUŠIĆ, A. The influence of dried fruits enrichment on sensory properties of bitter and milk chocolates and bioactive content of their extracts affected by different solvents. **LWT - Food Science and Technology**, v.53, n.1, p.360-369, 2013.

KONAR, N.; OZHAN, B.; ARTIK, N.; DALABASMAZ, S.; POYRAZOGLU, E. S. Rheological and phisical proprieties of inulin-containing milk chocolate prepared with different conditions. **CyTA-Journal of Food**, v. 12, n.1, p. 55-64, 2014.

LABAT-ROBERT, J.; ROBERT, L. Longevity and aging: role of free radicals and xanthine oxidase: a review. **Pathologie Biologie**, v.62, n.2, p.61-66, 2014.

LAMBERT, J.P. Nutrition and health aspects of chocolate. In: BECKETT, S.T., eds. **Industrial chocolate manufacture and use**. 4.ed. Chichester: Blackwell Publishing, 2009. p. 623-635.

LANNES, S.C.S. **Estudo das propriedades físico-químicas e de textura de chocolates**. São Paulo, 1997. 175p. Tese de Doutorado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo.

LANNES, S.C.S.; GIOIELLI, L.A. Uso de gorduras vegetais hidrogenadas na indústria de chocolates. **Óleos e Grãos**, v.8, n.43, p.44-46, 1998.

LANNES, S.C.S.; MEDEIROS, M.L.; AMARAL, R.L. Formulação de “chocolate” de cupuaçu e reologia do produto líquido. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.38, n.4, p.463-469, 2002.

LATTIERI-BARBATO, D.; VILLAÑO, D.; BEHEYDT, B.; GUADAGNI, F.; TROGH, I.; SERAFINI, M. Effect of ingestion of dark chocolates with similar lipid composition and different cocoa contente on antioxidante and lipid status in healthy humans. **Food Chemistry**, v.132, p.1305-1310, 2012.

LEE, S.J.; UMANO, K.; SHIBAMOTO, T.; LEE, K.G. Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidante properties. **Food Chemistry**, v. 91, n.1, p.131-137, 2005.

LI, W.; BETA, T. Evaluation of antioxidante capacity and aroma quality of anthograin liqueur. **Food Chemistry**, v. 127, n.3, p. 968-975, 2011.

LIPPI, D. Chocolate and medicine: dangerous liaisons? **Nutrition**, v.25, n.11/12, p.1100–1103, 2009.

LIPPI, D. Chocolate in health and disease. **Maturitas**, v.67, n.3, p.195–196, 2010.

LOTTENBERG, A. M. P. Importância da gordura alimentar na prevenção e no controle de distúrbios metabólicos e da doença cardiovascular. **Arquivos Brasileiros Endocrinologia Metabólica**, v.53, n.5, p. 595-607, 2009.

LUSHCHAK, V.I. Adaptive response to oxidative stress: bacteria, fungi, plants and animals. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v.153, p.175-190, 2011.

LUSHCHAK, V.I. Environmentally induced oxidative stress in aquatic animals. **Aquatic Toxicology**, v.101, p.13-30, 2011.

LUSHCHAK, V.I. Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stress and its classification. **Chemico-Biological Interactions**, v.224C, p.164-175, 2014.

MACHADO, M.T.C., MELLO, B.C.B.S., HUBINGER, M.D. Study of alcoholic and aqueous extraction of pequi (Caryocar brasiliense Camb.) natural antioxidants and extracts concentration by nanofiltration. **Journal of Food Engineering**, v.117, p.450–457, 2013.

MACHADO, M.T.C., MELLO, B.C.B.S., HUBINGER, M.D. Evaluation of pequi (Caryocar brasiliense Camb.) aqueous extract quality processed by membranes. **Food and Bioproducts Processing**, v. 95, p. 304-312, 2015.

MAIA, J.G.S.; ANDRADE, E.H.A.; SILVA, M.H.L. Aroma volatiles of pequi fruits (*Caryocar brasiliense*, Camb.). **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 21, p. 574–576, 2008.

MANGANARO, M.M. Nutrição aplicada a enfermagem. In: MURTA, G.F. **Saberes e práticas**: guia para ensino e aprendizado de enfermagem. 4.ed. São Caetano do Sul: Difusão, 2008. v.3.

MARX, F.; ANDRADE, E.H.A.; MAIA, J. G. Chemical composition of the fruit pulp of Caryocar villosum. **Food Research and Technology**, v. 204, p. 442-444. 1997.

MATSUURA, R.; MORIYAMA, H.; TAKEDA, N.; YAMAMOTO, K.; MORITA, Y.; SHIMAMURA, T.; UKEDA, H. Determination of antioxidante activity and characterization of antioxidant phenolics in the plum vinegar extract of cherry blossom

(*Prunus lannesiana*). **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.56, n.2, p. 544-549, 2008.

MARTIN, J. R. A. Chocolate. **Advances in Food Research**, v.31, p.211-342, 1987.

MEYER, J. M. **Teor e composição de ácidos graxos de óleos de frutos de palmeiras nativas**. São Paulo, 2013. 90p. Dissertação de Mestrado - Instituto de Biociências - Universidade de São Paulo.

MINIFIE, B.W. **Chocolate, cocoa and confectionery**: science and technology. 3.ed. New York: Van Nostrand Reinhold, 1989. 904p.

MOIO, L.; LANGLOIS, D.; ETIEVANT, P.; ADDEO, F. Powerful odorants in bovine, ovine, caprine and water buffalo milk determined by means of gas chromatography-olfactometry. **Journal of Dairy Research**, v. 60, p. 215-222, 1993.

MOLYNEUX, P. The use of the stable free radical diphenilpicrylhydrazil (DPPH) for estimating antioxidant activity. **Songklanakarin Journal of Science and Technology**, v.26, n.2, p.211-219, 2003.

MILINSK, M.C. MATSUSHITA, M.; VISENTAINER, J.V.; OLIVEIRA, C.C.; SOUZA, N.E. Comparative analysis of esterification methods in the quantitative determination of vegetable oils fatty acids methyl esters (FAME). **Journal of Brazil Chemistry Society**, v.19, n.8, p. 1475–1483, 2008.

MORETTI, C.L.; SARGENT, S.A.; HUBER, D.J.; CALBO, A.G.; PUSCHMANN, R. Chemical composition and physical properties of pericarp, locule and placental tissues of tomatoes with internal bruising. **Journal of the American Soiety for Horticulture Sci Science**, v. 123, n. 4, p. 656-660, 1998.

MOTTA, J.D. **Construção e avaliação do colorímetro para produtos agrícolas**. Campina Grande, 2010. 91f. Dissertação de Mestrado – Centro de Ciências e Tecnologia - Universidade Federal de Campina Grande.

NACZK, M.; SHAHIDI, F. Extraction and analysis of phenolics in food. **Journal of Chromatography A**, v. 1054, n.1/2, p. 95-111, 2004.

OLIVEIRA, L.R. **Avaliação dos compostos fenólicos e das propriedades antioxidantes da polpa do pequi (Caryocar spp) processado e *in natura***. São Paulo, 2010. 101p. Dissertação de Mestrado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade de São Paulo.

OLIVEIRA, W.L.; SCARIOT, A. **Boas práticas de manejo para o extrativismo sustentável do Pequi**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2010, 84p.

OLIVEIRA, D.M.; ONGARATTO, D.P.; FONTOURA, L.A.M.; NACIUK, F.F.; SANTOS, V.O.B.; KUNZ, J.D.; MARQUES, M.V.; SOUZA, A.O.; PEREIRA, M.P.; SAMIOS, D. Obtenção de biodiesel por transesterificação em dois estágios e sua caracterização por cromatografia gasosa: óleos e gorduras em laboratório de química orgânica. **Química Nova**, v.36, n.5, p.734-737, 2013.

OLIVEIRA, M.N.S.; MERCADANTE-SIMÕES, M.O.; LOPES, P.S.N.; RIBEIRO, L.M.; GUSMÃO, E. Estádios de maturação dos frutos e fatores relacionados aos aspectos nutritivos da polpa de pequi (Caryocar brasiliense Camb.). In: CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICOS DE MG, BA E ES, 55; ENCONTRO REGIONAL DE BOTÂNICOS DE MG, BA E ES, 26., 2004, Viçosa, 2004. **Livro de resumos**. Viçosa: SBB, 2004, p.380.

OLMEDILLA, B.; GRANADO, F.; BLANCO, I. **Carotenoides y salud humana**. Madrid: Fundación Española de Nutrición., 2001. p.13-15. (Serie Informes, n.11).

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

OROIAN, M.; ESCRICHE, I. Antioxidants: characterization, natural sources, extraction and analysis. **Food Research International**, v.74, p. 10-36, 2015.

PARDAUIL, J.J.R.; SOUZA, L.K.C.; ZAMIAN, J.R.; FILHO, G.N.R.; COSTA, C.E.F. Estudo da estabilidade térmica de óleos vegetais por termogravimetria. In: Congresso Brasileiro de Análise Térmica e Calorimetria (ABRATEC), 7, São Pedro (SP), 2010. São Pedro (SP), 2010. p.1-4.

PAZ, J. G.; PACHECO, P.; SILVA, C. O.; PASCOAL, G. B. Análise da composição nutricional e de parâmetros físico-químicos do pequi (*Caryocar brasiliense camb*) *in natura*. **Linkania**, v.1, p. 73-86, 2014.

PESCHAR, R.; POP, M.M.; DE RIDDER, D.J.A.; VAN MECHELEN, J.B.; DRIESSEN, R.A.J.; SCHENK, H. Crystal structures of 1,3-distearoyl-2-oleoylglycerol and cocoa butter in the β(V) phase reveal the driving force behind the occurrence of fat bloom on chocolate. **Journal of Physical Chemistry B**, v.108, n.40, p.15450–15453, 2004.

PEIXOTO, A.R. **Plantas oleaginosas arbóreas**. São Paulo: Nobel, 1973. p.284.

PESCE, C. **Oleaginosa da Amazônia**. Belém: Oficina Gráfica da Revista da Veterinária, 1941. 130p.

PESSOA, A.S.; PODESTÁ, R.; BLOCK, J.M.; FRANCESCHI, E.; DARIVA, C.; LANZA, M. Extraction of pequi (*Caryocar coriaceum*) pulp oil using subcritical propane: determination of process yield and fatty acid profile. **Journal of Supercritical Fluids**, v.101, p. 95–103, 2015.

PRANCE, G.T.; SILVA, M.F. Caryocaraceae. In: _____. **Flora neotropica monograph**. The New York Botanical Garden Press, New York, 1973. v.12, p.1-75.

PRAPAGDEE, S.; PIYATIRATITIVORAKUL, S.; PETSOM, A. Activation of cassava stem biochar by physico-chemical method for stimulating cadmium removal efficiency from aqueous solution. **Environment Asia**, v. 7, p. 60-69, 2014.

PULIDO, R.; BRAVO, L.; SAURA-CALIXTO, F. Antioxidant activity of dietary as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay. **Journal Agriculture and Food Chemistry**, v. 48, p. 3396-3402, 2000.

QIAN, M.; REINECCIUS, G. A. Quantification of aroma compounds in parmigiano reggiano cheese by a dynamic headspace gas chromatography-mass spectrometry technique and calculation of odor activity value. **Journal Dairy Science**, v. 86, p. 770-776, 2003.

QUANTOTEC. Produtos. **Colorimetria**. Disponível em: http://www.quantotec.com/sp/Colorimetria.htm. Acesso em: 20 nov. 2016.

QUIRINO, G.S.; LEITE, G. O.; REBELO, L. M.; TOMÉ, A. R.; COSTA, J. G.M.; CARDOSO, A. H.; CAMPOS, A. R. Healing potential of pequi (*Caryocar coriaceum* Wittm.) fruit pulp oil. **Phytochemistry Letters**, v. 2, p. 179-183, 2009.

RAMALHO, V.C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova**, v.29, n.4, p.755-760, 2007.

RAMOS, E. S.; OLIVEIRA, C. S.; COLMAN, M. D.; SOUZA, J. A.; COLMAN, A. D.; SCHNITZLER, E. Estudo termoanalítico do óleo de pequi (*Caryocar brasiliense*). In: SiAT – Simpósio de análise Térmica, 7, Bauru, 2015. **Livro de Resumos**. Bauru, 2015. p.359-362.

REOLON, E.M.; SANTOS, A.R.B.; MOREIRA, V.E.; NASCIMENTO, M.S. Pesquisa de enterobactérias em chocolates. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.71, n.1, p.40-43, 2012.

REZENDE, C. M.; FRAGA, S. R. G. Chemical and aroma determination of the pulp and seeds of murici (Byrsonima crassifolia L.). **Journal of Brazilian Chemical Society**, v. 14, p. 425-428, 2003.

RIBEIRO, M. C. **Óleo de pequi: qualidade físico-química, teor de carotenoides e uso em animais com carência de vitamin A**. Lavras, 2010. 85p. Dissertação de Mestrado - Universidade Federal de Lavras.

RIBEIRO, R. F. L. **Avaliação de tortas de oleaginosas com potencial para produção de biodiesel na obtenção de materiais adsorventes para remoção de metais em meio aquoso**. Belo Horizonte, 2012. 159p. Tese de Doutorado - Instituto de Ciências Exatas - Universidade Federal de Minas Gerais.

RICHTER, M.; LANNES, S.C.S. Bombom para dietas especiais: avaliação química e sensorial. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.27, n.1, p.193-200, 2007.

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

ROACH, S. Promovendo a saúde fisiológica. In: _____. **Enfermagem na saúde do idoso**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2009. 364p [Programa do livro texto, Anhanguera Educacional].

RODRIGUES, L. B. O. **Estudos reológicos e de textura dos géis de amido de araruta (*Maranta arundinaceae* L.) e dos géis adicionados de sacarose e concentrado proteico de soro**. Itapetinga, 2014. 65 f. Dissertação de Mestrado) - Faculdade de Engenharia de Alimentos - Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia.

ROESLER, R.; CATHARINO, R. R.; MALTA, I. G.; EBERLIN, M. N.; PASTORE, G. Antioxidant activity of Caryocar brasiliense (pequi) and characterization of components by electrospray ionization mass spectrometry. **Food Chemistry**, v. 110, p. 711-717, 2008.

RUFINO, M.S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C. G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. D. **Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pelo Método de Redução do Ferro (FRAP)**. Fortaleza, 2006, p.1-4 (Embrapa Comunicado Técnico *on line*, n125). Disponível em: https://www.embrapa.br/agroindustria-tropical/busca-de-publicacoes/-/publicacao/664098/metodologia-cientifica-determinacao-da-atividade-antioxidante-total-em-frutas-pelo-metodo-de-reducao-do-ferro-frap. Acesso em: 10 mar. 2016.

RUFINO, M.S.M.; ALVES, R.E.; BRITO, E.S.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F.; MANCINI-FILHO, J. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v.121, p.996-1002, 2010.

SÁNCHEZ-MORENO, C. Review: methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. **Food Science and Technology International**, v.8, n.3, p.121-137, 2002.

SANGEETHAPRIYA, M.; SIDDHURAJU, P. Health related functional characteristics and antioxidant potential of mucilage (dietary fiber) from *Zizyphus mauritiana* fruits. **Food Science and Human Wellness**, v. 3, p. 79-88, 2014.

SANTOS-SILVA, J.; BESSA, R. J. B.; SANTOS-SILVA, F. Effect of genotype, feeding system and slaughter weigt on the quality of light lambs. II. Fatty acid composition of meat. **Livestock Production Science**, v. 77, n. 2/3, p. 187-194, 2002.

SANTOS, A.F.; SILVA, M.V.; KWIATKOWSKI, A.; CLEMENTE, E.; ARAÚJO, J.H.B. Avaliação físico-química de óleo bruto de polpa de pequi. **Revista Brasileira de Pesquisa em Alimentos**, v. 1, n.2, p. 111-115, 2010.

SANTOS, O. V. **Estudo das potencialidades da castanha-do-Brasil**: produtos e subprodutos. São Paulo, 2012. 214p. Tese de Doutorado - Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade de São Paulo.

SANTOS, R.D.; GAGLIARDI, A.C.M.; XAVIER, H.T.; MAGNONI, C.D.; CASSANI, R.; LOTTENBERG, A.M.P; CASELLA, F.A.; ARAÚJO D.B.; CESENA, F.Y.; ALVES, R.J.; FENELON, G.; NISHIOKA, S.A.D.; FALUDI, A.A.; GELONEZE, B.; SCHERR, C.; KOVACS, C.; TOMAZZELA, C.; CARLA C.; BARRERA-ARELLANO, D.; CINTRA, D. QUINTÃO, E. NAKANDAKARE, E.R.; FONSECA, F.A.H.; PIMENTEL, I.; SANTOS, J.E.; BERTOLAMI, M.C.; ROGERO, M.; IZAR, M.C.O.; NAKASATO, M.; DAMASCENO, N.R.T.; MARANHÃO, R.; CASSANI, R.S.L.; PERIM, R.; RAMOS, S. Sociedade Brasileira de Cardiologia. I Diretriz sobre o consumo de Gorduras e Saúde Cardiovascular. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v.100, n.1, supl. 3, p. 1-40, 2013.

SANZ, C. OLIAS, J.M. PEREZ, A.G**. Aroma biochemistry of fruits and vegetables**: phytochemistry of fruit and vegetables. Oxford University Press, 1997. p.125-155.

SARAIVA, R. A.; ARARUNA, M. K. A.; OLIVEIRA, R. C.; MENEZES, K. D. P.; LEITE, G. O.; KERNTOPF, M. R.; COSTA, J. G. M.; ROCHA, J. B.T.; TOMÉ, A. R.; CAMPOS, A. R. MENEZES, I. R. A. Topical anti-inflammatory effect of Caryocar coriaceum Wittm. (Caryocaraceae) fruit pulp fixed oil on mice ear edema induced by different irritant agents. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 136, p. 504-510, 2011.

SCHANTZ, B.; ROHM, H. Influence of lecithin-PGPR blends on the rheological properties of chocolate. **L.W.T- Food Science and Technology**, v.38, p.41-45, 2005.

SCHENK, H.; PESCHAR, R. Understanding the structure of chocolate. **Radiation Physics and Chemistry**, v.71, n.3/4, p.829–835, 2004.

SHANLEY, P.; MEDINA, G. **Frutíferas e plantas úteis na vida Amazônica**. Belém: CIFOR & IMAZON, 2005. p.127–136.

SEVGI, K.; TEPE, B.; SARIKURKCU, C. Antioxidant and DNA damage protection potentials of selected phenolic acids. **Food and Chemical Toxicology**, v.77, p.12-21, 2015.

SERVIDDIO, G.; BELLANTI, F.; VENDEMIALE, G. Free radical biology for medicine: learning from nonalcoholic fatty liver disease, **Free Radical Biology and Medicine**, v.65, p.952-968, 2013.

SIKORA, E.; CIESLIK, E.; LESZCZYNSKA, T.; FILIPIAK-FLORKIWUACZ, A.; PISULEWSKI, P.M. The antioxidant activity of selected cruciferous vegetables subjected to aquathermal processing. **Food Chemistry**, v.107, p.50-55, 2008.

SINGLETON, V.L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTOS, R.M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-ciocalteu reagent. **Methods in Enzymology**, v.299, pt.A, p.152-178, 1999.

SKOOG, D.A.; HOLLER, F.J.; NEIEMAN, T.A. **Princípios de análise instrumental**. Porto Alegre: Bookman, 2002, 836p.

SKULACHEV, V.P. Mitochondrial-targeted antioxidants as promising drugs for treatment of age-related brain diseases. **Journal Alzheimers Disease**, v.28, p.283-289, 2012.

SOARES, S.E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**, v.15, n.1, p.71-81, 2002.

SILVA, M.N.S.; JESUS, D.M. Territorialidades do pequi: Montes Claros e o norte de Minas Gerais em questão. In: COLÓQUIO INTERNACIONAL: (des) envolvimentos contra a pobreza: mediações teóricas, técnicas e políticas, Montes Claros, 2008. **Anais**. Montes Claros, 2008, p.1-15.

SOUSA, C.M.M.; SILVA, H.R.; VIEIRA, J.G.M.; AYRES, M.C.C.; COSTA, C.L.S.; ARAÚJO, D.S.; CAVALCANTE, L.C.D.; BARROS, E.D.S.; ARAÚJO, P.B.M.; BRANDÃO, M.S.; CHAVES, M.H. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, v.30, n.2, p.351-355, 2007.

SOUZA, A.G.C.; SOUSA, N.R.; SILVA, M.E.L.; NUNES, C.D.M.; CANTO, A.C.; CRUZ, L.A.A. **Fruteiras da Amazônia**. Brasília: EMBRAPA-SPI, 1996. 204p.

SOMMERFELD, M. Trans unsaturated fatty acids in natural products and processed food. **Progress in Lipid Research**, v.22, n.3, p.221-233, 1983.

STATISTIC for Windows. Versão 7.0. United States of America: StatSoft, 1995.

STRATI, I. F.; OREOPOULOU, V. Effect of extraction parameters on the carotenoid recovery from tomato waste. **International Journal of Food Science & Technology**, v.46, n.1, p.23-29, 2011.

STUCHI, E.S.; SEMPIONATO, O.R.; SILVA, J.A.A. Influência dos porta-enxertos na qualidade dos frutos cítricos. **Laranja**, v.17, n.1, p.143-158, 1996.

TAKEOKA, G.R.; BUTTERY, R.G.; TURNBAUGH, J.G.; BENSON, M. Odour thresholds of various branched esters. **Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie**, v.28, p.153-156, 1995.

TORO-FUNES, N.; ODRIOZOLA-SERRANO, I.; BOSCH-FUSTÉ, J.; LATORRE-MORATALLA, M.L.; VECIANA-NOGUÉS, M.T., IZQUIERDO-PULIDO, M.; VIDAL-CAROU M.C. Fast simultaneous determination of free and conjugated isoflavones in soy milk by UHPLC-UV. **Food Chemistry**, v.135, n.4, p.2832-2838, 2012.

TRIPODI, A.; LORIA, P.; DILENGITE, M.A.; CARULLI, N. Effect of fish oil and coconut oil diet on the LDL receptor activity of rat liver plasma membranes. **Biochimica et Biophysica Acta**, v.1083, n.3, p.298-304, 1991.

ULBRICHT, T.L.V.; SOUTHGATE, D.A.T. Coronary heart disease: seven dietary factors. **Lancet**, v.338, n.8773, p.985-992, 1991.

VALKO, M.; LEIBFRITZ, D.; MONCOL, J.; CRONIC, MARK T.D.; MAZUR, M.; TELSER, J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. **International of Biochemistry & Cell Biology**, v.39, p.44-84, 2007.

VANDERZANT, C.; SPLITTSTOESSER, D. F., eds. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 3.ed. Washington: APHA, 1992. 1087p.

VILELA, M.A.L; PEREIRA, L.C.S.; GONÇALVES, C.A.; GRISOLIA, C.K. Pequi fruit (*Caryocar brasiliense* Camb.) pulp oil reduces exercise-induced inflammatory markers and blood pressure of male and female runners. **Nutrition Research**, v.29, p.850-858, 2009.

VILELA, M.A.L; AKIMOTO, A.K.; ALVES, P.C.Z.; PEREIRA, L.C.S.; KLAUTAU-GUIMARÃES, M.N.; GRISOLIA, C.K. Dietary carotenoid-rich oil supplementation improves exercise-induced anisocytosis in runners: influences of haptoglobin, MnSOD (Val9Ala), CAT (21A/T) and GPX1 (Pro198Leu) gene polymorphisms in dilutional pseudoanemia (“sports anemia”). **Genetics and Molecular Biology**, v.33, n.2, p.359-67, 2010.

VILELA, M.A.L.; PORTILHO, F.A.; ARAUJO, V.G.B.; ESTEVANATO, L.L.C.; MEZZOMO, B.P.; SANTOS, M.F.M.A.; LACAVA, Z.G.M. The protective effects of nutritional antioxidant therapy chosen: histology, genetoxicity and hematology evaluations. **Journal of Nutritional Biochesmistry**, v.22, p.1091-1098, 2011.

VILELA, M.A.L.; GRISOLIA, C.K.; LONGO, J.P.F.; PEIXOTO, R.C.A.; ALMEIDA, M.C.; ROLL, M.M.; PORTILHO, F.A.; ESTEVANATO, L.L.C.; BOCCA, A.L.; BÁO, S.N.; LACAVA, Z.G.M. Oil rich in carotenoids instead of vitamins C and E as a better option to reduce doxorubicin-induced damage to normal cells of Ehrlich tumor-bearing mice: hematological, toxicological and histopathological evaluations. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v.25, p.1161-1176, 2014.

VOLPE, C.A.; SCHÖFFEF, E.R.; BARBOSA, J.C. Influência da soma térmica e da chuva durante o desenvolvimento de laranjas ‘Valência’ e ‘Natal’ na relação entre sólidos solúveis e acidez e no índice tecnológico do suco. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.24, n.2, p.436-441, 2002.

WAYNICK, J.A. Characterization of biodiesel oxidation and oxidation products. Disponível em: http://biodiesel.org/reports/20050801_gen-366.pdf. Acesso em: 11 nov. 2016.

WOOD, J.D., ENSER, M. Factors influencing fatty acids in meat and the role of antioxidants in improving meat quality. **British Journal of Nutrition**, v.78, p.49, 1997.

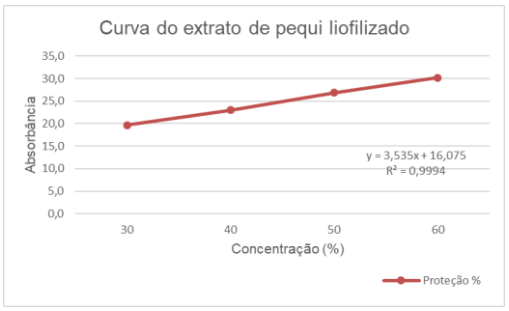
WILLIAMS, C.H. Dietary fatty acids and human health. **Annales Zootechnie**, v.49, p.165–180, 2000.

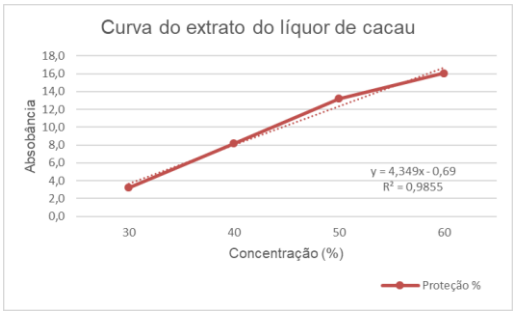
XAVIER, W.K.S. **Aproveitamento de recursos naturais da biodiversidade amapaense**: óleo fixo de pequi (*Caryocar villosum* (Aubl) Pers.) como anti-inflamatório tópico. Macapá, 2011. 93p. Dissertação de Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Tropical - Fundação Universidade Federal do Amapá.

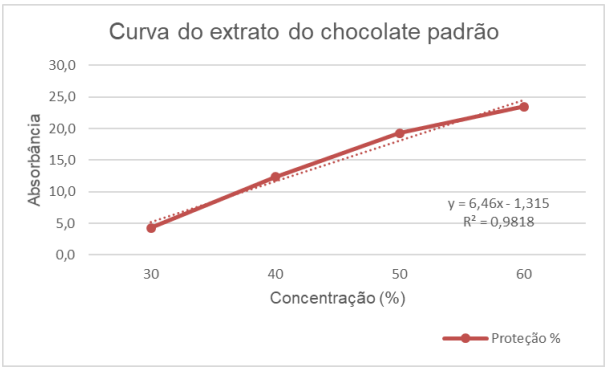
ZELMAN, K. The great fat debate: a closer look at the controversy-questioning the validity of age-old dietary guindance. **Journal of the American Dietetic Association**, v.111, n.5, p.655-658, 2011.

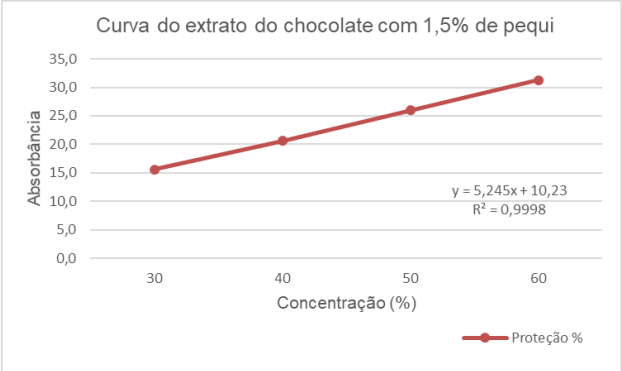
ZENG, Y.; BRAUN, P.; JACOB, J.; PIRHALLA, S. **Exothermal analysis of cocoa butter and cocoa liquor with MultiTherm TC™**. Buhler, Switzerland, s.d.

ANEXO A – Curvas dos extratos de DPPH com o radical DPPH.

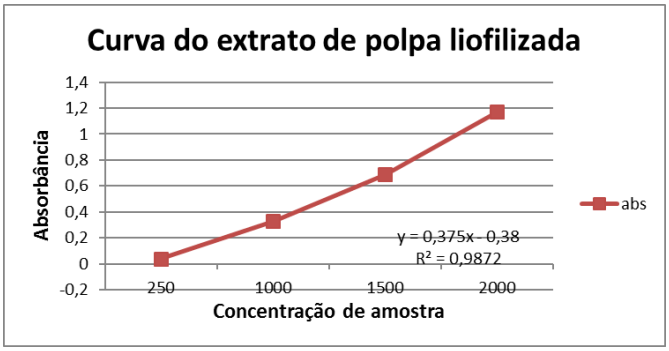


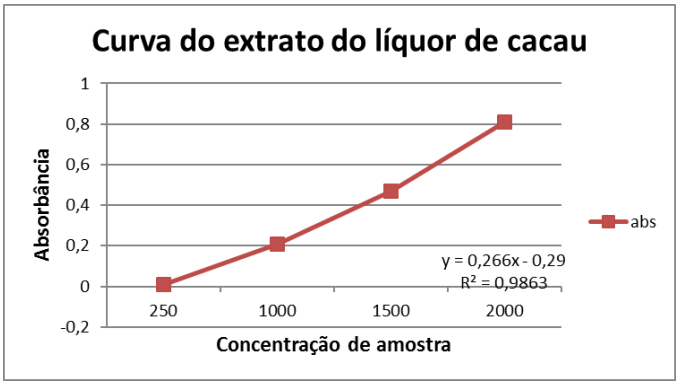


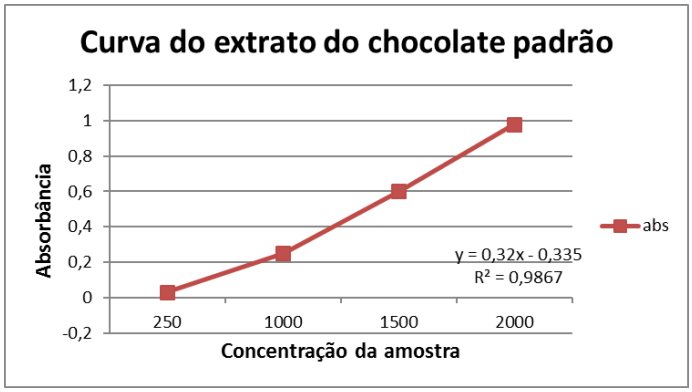


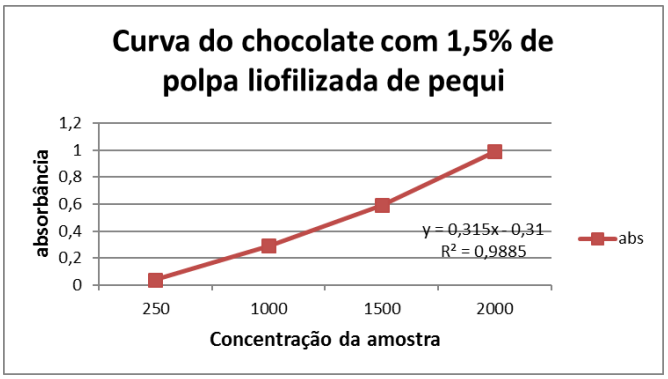


ANEXO B – Curvas dos extratos pelo Método de Redução do Ferro (FRAP)






Curva do extrato do chocolate padrão
1,2
1
0,8
0,6
0,4
0,2
0
-0,2
Absorbância
250
1000
1500
2000
Concentração da amostra
y = 0,32x - 0,335
R² = 0,9867
abs


Curva do chocolate com 1,5% de polpa liofilizada de pequi
1,2
1
0,8
0,6
0,4
0,2
0
absorbância
250
1000
1500
2000
Concentração da amostra
y = 0,315x - 0,31
R² = 0,9885
abs