



Universidade Federal do Rio Grande do Sul  
Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos  
Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos (PPGCTA)

## DESENVOLVIMENTO DE UM CHOCOLATE MEIO AMARGO COM MAIOR PERCENTUAL DE PROTEÍNA

Andrea Bordin Schumacher  
(Engenheira de Alimentos – Universidade Federal do Rio Grande do Sul)

Dissertação apresentada ao Curso de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos como um dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Dr<sup>a</sup>. Erna Vogt de Jong  
Co-orientador: Dr. Adriano Brandelli

Porto Alegre  
Fevereiro 2008

## CIP – CATALOGAÇÃO INTERNACIONAL NA PUBLICAÇÃO

S392d Schumacher, Andrea Bordin

Desenvolvimento de um chocolate meio amargo com maior percentual de proteína. / Andrea Bordin Schumacher. – Porto Alegre: UFRGS, 2008.

91 f.; il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Porto Alegre, RS – BR, 2008. Erna Vogt de Jong, Orient.; Adriano Brandelli, Co-orient.

1. *Chenopodium quinoa* 2. Chocolate meio amargo 3. Conchagem 4. Polifenóis 5. Proteína I. Jong, Erna Vogt de, Orient. II. Brandelli, Adriano III. Título

CDU: 664.

Andrea Bordin Schumacher  
(Engenheira de Alimentos – Universidade Federal do Rio Grande do Sul)

DESENVOLVIMENTO DE UM CHOCOLATE MEIO AMARGO COM MAIOR PERCENTUAL  
DE PROTEÍNA

Submetida como parte dos requisitos para obtenção do grau de

MESTRE EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS.

Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos (PPGCTA)  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul – Porto Alegre, RS, Brasil.

Aprovada em:

Pela Banca Examinadora:

Homologada por:

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. ERNA VOGT DE JONG  
Orientador – PPGCTA/UFRGS

Prof. Dr. ADRIANO BRANDELLI  
Co-orientador – PPGCTA/UFRGS

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. LIGIA DAMASCENO FERREIRA  
MARCZAK  
Banca – Eng. Química/UFRGS

Prof. Dr. JULIO ALBERTO NITZKE  
Banca – ICTA/UFRGS

Prof. Dr. CACIANO P. ZAPATA NOREÑA  
Banca – PPGCTA/UFRGS

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. ERNA VOGT DE JONG  
Coordenador do Programa de Pós  
Graduação em Ciência e Tecnologia de  
Alimentos (PPGCTA)

Prof. Dr. ADRIANO BRANDELLI  
Diretor do Instituto de Ciência e Tecnologia  
de Alimentos. ICTA/UFRGS

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a meu marido pelo amor e apoio irrestrito no meu desenvolvimento pessoal e profissional.

A meu pai Erwino Wulf Schumacher, colaborador essencial neste trabalho, que transformou algumas idéias utópicas em realidade.

A minha mãe e meus irmãos por terem acreditado no meu potencial e ao carinho dedicado principalmente durante os desafios de conclusão do trabalho.

Aos meus orientadores Erna e Adriano, sobretudo pelo exemplo, confiança e conhecimentos que me dedicaram. Vocês são muito especiais para mim.

Aos amigos: Roberval, Fernanda, Luiza, Tâmmila e Flávia pelo carinho com que auxiliaram neste trabalho.

À Florestal Alimentos S/A – Divisão Chocolates Neugebauer pela atenção ilimitada permitindo que parte do projeto fosse realizado nas instalações e pelo fornecimento da matéria-prima necessária para os testes. Agradecimentos especiais a Gisele, Fernanda, Cássio e a Géssica.

Agradeço também a aqueles que foram meus alunos no curto prazo em que fui professora substituta do ICTA, pois com eles meu aprendizado ultrapassou as barreiras da sala de aula.

## RESUMO

O chocolate tem apresentado crescente consumo, boa digestibilidade devido a sua composição e tem sido amplamente estudado por suas propriedades antioxidantes. Por outro lado, este alimento possui altos percentuais de carboidratos e gordura e baixo conteúdo de proteínas. Neste contexto, foram desenvolvidas formulações de chocolate meio amargo com objetivo de aumentar o valor protéico deste produto. Para isto foi utilizado o pseudocereal quinoa (*Chenopodium quinoa* Wild) como adição ao chocolate e caseína como parte da formulação da massa de chocolate. Foram elaboradas amostras com o pseudocereal nas proporções de 12%, 16% e 20%. A quinoa foi adicionada ao chocolate previamente derretido e temperado. O produto foi submetido a análises de composição centesimal e determinação de polifenóis. Para amostras de chocolate sem e com 20% de quinoa foi realizado aminograma e quantificação de vitamina E. A adição de quinoa reduziu a quantidade de polifenóis e aumentou, em 9%, a vitamina E do produto, não sendo esta diferença estatisticamente significativa. A amostra adicionada de 20% de quinoa aumentou em 36,8% a quantidade da proteína, quando comparada ao chocolate padrão, com elevação de todos os aminoácidos essenciais. As amostras foram analisadas sensorialmente obtendo-se, em todas, índice de aceitabilidade acima de 70% e a combinação destes ingredientes foi aprovada por 92% dos degustadores. O passo seguinte do trabalho foi desenvolver um chocolate com adição de caseína. Para esta etapa, foi necessário construir uma concha de laboratório, pois as demais etapas do processo podem ser realizadas em pequenas quantidades em escala industrial ou feitas manualmente. A concha foi construída com partes de máquinas desativadas. A conchagem é responsável pela redução da umidade e da acidez, desenvolvimento de textura e sabor do chocolate e isto ocorre devido à condição de mistura frente ao controle de tempo e temperatura. A máquina desenvolvida foi comparada ao processo industrial em relação à variação de umidade, acidez, quantidade de polifenóis e características sensoriais. A umidade obteve comportamento similar nos dois processos, a variação de acidez e de polifenóis também não mostrou diferença, mas alterações de sabor foram percebidas no produto produzido em escala de laboratório. Observando os resultados, foram elaboradas duas formulações com 3,2% (P1) e 6,6% de caseína (P2) para aumentar a fonte protéica do chocolate. A formulação com maior percentual de proteína foi utilizada na realização da análise sensorial obtendo-se índice de aceitabilidade acima de 70%, com aprovação de 64% dos degustadores. Quando foram apresentadas as tabelas nutricionais dos chocolates formulados com soro de leite ou caseína, 92% dos degustadores demonstraram maior interesse em adquirir a amostra com maior percentual de proteína.

Palavras-chave: *Chenopodium quinoa* Wild, Chocolate meio-amargo, Conchagem, Novos Produtos, Polifenóis, Proteína.

## ABSTRACT

Dark chocolate (40% cocoa) formulations had been developed with objective to increase the protein content of this product. For that, the pseudocereal quinoa (*Chenopodium quinoa* Wild) was added in to melted chocolate and casein was used as part of the formulation of the chocolate mass. Samples with quinoa had been elaborated by addition the quinoa to the previously melted and tempered chocolate in the ratios: 12%, 16% and 20%. Analyses of food composition and polyphenols had been carried through. For samples of chocolate without quinoa and chocolate with 20% of quinoa, amino acids composition and vitamin E quantification had been made. The addition of quinoa reduced the amount of polyphenols in the product, but without significant difference an increased in 9% the amount of vitamin E was observed. The sample with 20% of quinoa showed the biggest protein increase (36.8%) and an important percentile increase in all the essential amino acids. The samples had been analyzed sensorially getting an index of acceptability above 70% and the combination of chocolate with quinoa was approved by 92% of the sensory panel. To become possible to develop a small amount of chocolate with casein was necessary to build a laboratory conch. The conch was developed with parts of others machines. The conching is responsible for reduction of moisture and acidity, development of texture and flavor of the chocolate. The machine was compared with the industrial process in relation to the variation of humidity, acidity, polyphenols and sensorially. The moisture of the processes got the similar behavior in pilot and industrial scale, the variation of acidity and polyphenols did not reveal any significant during the process, but flavor alterations had been perceived in the product of laboratory scale conch. Being possible to elaborate a chocolate with casein two formulations had been produced: (P1) with 3.2% of casein e (P2) with 6.6% of casein. P2 showed a great protein content and was used in the sensorial analysis resulted an index of acceptance above 70% and was approved by 64% of the sensory panel. Moreover 92% of the sensory panel had demonstrated interest in buying a product with more protein when the nutritional tables had been compared.

Keywords: *Chenopodium quinoa* Wild, Dark Chocolate, Conching, New Products, Polyphenols, Protein.

## Índice de Figuras

Figura 1: Refinadeira de cinco rolos.....	15
Figura 2: Esquema de uma Concha Longitudinal.....	18
Figura 3: Concha Rotatória.....	18
Figura 4: Foto da concha piloto .....	82

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	9
1.1 Desenvolvimento de novos produtos .....	9
1.2 Alimentação equilibrada.....	9
1.2.1 Proteína nos alimentos .....	10
1.3 Chocolate .....	11
1.3.1 Benefícios à saúde.....	12
1.4 Etapas de processamento do chocolate .....	14
1.4.1 Conchagem .....	16
1.4.2 Parâmetros de qualidade do processo produtivo.....	18
1.5 Quinoa ( <i>Chenopodium quinoa</i> ).....	20
1.5 Caseína .....	21
1.6 Objetivos .....	23
2 ARTIGOS CIENTÍFICOS.....	24
Improvement of the nutritional quality of dark chocolate with the addition of quinoa ( <i>Chenopodium quinoa</i> Willd.) .....	25
Development and evaluation of a laboratory scale conch for chocolate production .....	43
Increase of the protein content in dark chocolate formulation with casein addition .....	63
3 DISCUSSÃO GERAL .....	80
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	86
5 REFERÊNCIAS .....	86



# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 Desenvolvimento de novos produtos

Desenvolver novos produtos é uma tarefa desafiadora da engenharia de alimentos. Melhorias nos processos e aumento nos rendimentos industriais podem implicar diretamente em alterações de ingredientes e modificações em produtos já existentes; por outro lado, lançar no mercado alimentos diferenciados que envolvam o consumidor em novas experiências sensoriais torna-se um desafio que deve ser amplamente estudado. Lampila e Lahteenmaki (2007) acreditam na aceitação de um produto inovador que tenha sido desenvolvido para aumentar benefícios para a saúde.

Weijzen *et al.* (2007) relatam que, estando com fome ou sede, o indivíduo reduz a atitude positiva de buscar alimentos saudáveis, pois estes sentimentos estimulam comportamentos impulsivos. Por isto, realizaram estudos buscando verificar os fatores decisivos na escolha de lanches saudáveis ou não. Mesmo não tendo chegado a conclusões decisivas sobre o assunto, afirmam que as indústrias devem desenvolver alimentos nutritivos e agradáveis para as pequenas e rápidas refeições durante o dia.

O chocolate é muito utilizado na elaboração de alimentos para adultos e crianças como bolos, biscoitos, pães, sorvetes, entre outros, e a quantidade de minerais presentes neste ingrediente tem grande importância nutricional (SILVA *et al.*, 2006). Este alimento tem efeito atrativo e boa digestibilidade devido aos ingredientes presentes em sua formulação (RICHTER; LANNES, 2007).

Existem muitas variáveis que afetam as propriedades e as características sensoriais do chocolate; desta forma, abrem-se muitas oportunidades de estudo de novas estratégias para a melhoria da qualidade e desenvolvimento de novos produtos (AFOAKWA *et al.*, 2007). Assim, todo componente adicionado aos chocolates deve manter estas características e ainda tornar este alimento nutricionalmente mais interessante (RICHTER; LANNES, 2007).

## 1.2 Alimentação equilibrada

A dieta deve ter como objetivo o aporte nutritivo necessário às necessidades do organismo, satisfazer o consumidor e contribuir de alguma forma para saúde (WOLLGAST; ANKLAN, 2000).

Barretto *et al.* (1998) reafirmaram o conceito de que uma alimentação adequada em relação ao aporte de energia e proteínas não implica, diretamente, na garantia de ingestão de todos os nutrientes indispensáveis ao organismo. Em decorrência das transformações ocorridas nos países em desenvolvimento, que teriam como principal causa a urbanização, com suas dimensões demográficas, econômicas e ambientais, passam a coexistir, simultaneamente, quadros de subnutrição e de ingestão desbalanceada de alimentos. Assim, consideram-se dois panoramas a serem percebidos: as anomalias deficitárias em nutrientes características da população de mais baixa renda e a incidência de doenças crônico-degenerativas peculiares aos países ocidentais desenvolvidos (MONTEIRO; CONDE, 2000).

Beckett (1994) relata que muitos aspectos relativos ao consumo de alimentos estão sendo revisados, e a área de doces e confeitos tem sido associada à obesidade e outros problemas de saúde; porém, a boa saúde dependerá do equilíbrio de nutrientes e da variedade de alimentos ingeridos.

### **1.2.1 Proteína nos alimentos**

As proteínas são componentes essenciais na alimentação e estão relacionadas com a fisiologia de todas as células vivas, pois têm influência na regeneração dos tecidos, atuam como catalisadores em reações químicas, são necessárias nas reações imunológicas e indispensáveis nos fenômenos de crescimento e reprodução.

Morin *et al.* (2005) relatam que as proteínas, juntamente com o cálcio, influenciam no desenvolvimento do esqueleto durante a infância e a adolescência, e contribuem ao longo da vida com a integridade dos ossos. Por isto, alimentação com reduzida quantidade de proteína foi estudada e evidenciou perda acelerada do osso e/ou fratura e considerou-se que a avaliação da quantidade de proteína na alimentação deve ser analisada por ser um fator de risco para desenvolvimento de osteoporose.

Na saúde dos idosos ressalta-se a importância da alimentação equilibrada com aporte protéico adequado, tendo em vista que, nesta fase, ocorre perda na massa magra do corpo atribuída à redução na síntese da proteína dos músculos (ROUSSET *et al.*, 2006). Pessoas fisicamente ativas, principalmente atletas de alta resistência, necessitam de um aporte protéico diário mais elevado do que pessoas sedentárias. A exigência mais elevada de proteína pelos atletas deve fornecer os aminoácidos adequados para o reparo dos danos no músculo causados pelos exercícios (CAMPBELL, GEIK, 2004; PETRIE *et al.*, 2004).

Para alimentação de atletas que apresentam massa muscular elevada, os níveis de proteína são aumentados com a utilização de suplementos que, em algumas circunstâncias,

são realmente benéficos ao organismo. Aos alimentos de esportistas são adicionados derivados da caseína, soja, trigo, proteínas do ovo entre outras (HENARES *et al.*, 2007).

A alimentação com quantidade suficiente de proteína de boa qualidade é importante para fornecer aminoácidos essenciais visando promover o crescimento, em especial para a manutenção e o desenvolvimento da massa magra do corpo. Além disso, o fornecimento adequado de energia também é crítico na manutenção da musculatura do corpo. O aporte energético baixo fará com que a proteína dos músculos seja usada como uma fonte de energia. Recomenda-se geralmente que os adultos obtenham no mínimo 12% a 15% de sua energia dietética de proteína e este percentual é também razoável para crianças e adolescentes que praticam esporte (PETRIE *et al.*, 2004).

As proteínas são componentes naturais dos alimentos, mas podem ser adicionadas aos produtos industrializados como ingredientes que possuam finalidades específicas. Em especial, a proteína do leite, reconhecida por ser completa e de boa qualidade (aporte de todos os aminoácidos essenciais em quantidade suficiente para cobrir a necessidade do organismo), traz contribuições relevantes no desenvolvimento de produtos devido a características como: solubilidade, dispersibilidade, capacidade de ligar-se com água e gordura, elasticidade, aderência, tensoatividade e textura, influenciando em propriedades emulsionantes, espumantes, reológicas e de geleificação (BECKETT, 1994).

Alimentos ricos em proteína são utilizados para aumentar o valor nutritivo de outros produtos. Chillo *et al.* (2008) relatam que diversos estudos foram realizados para melhorar o índice de proteína de massas e produtos de panificação pela adição de alimentos de fonte vegetal com relevante valor protéico.

### 1.3 Chocolate

O cacau foi cultivado pelos astecas muito antes da chegada dos europeus ao México; inicialmente era utilizado como ingrediente em uma bebida amarga e, posteriormente, na Europa acabou sendo industrializado, adicionado de açúcar e outros componentes tornando-se um alimento amplamente distribuído e aceito no mundo todo (BECKETT, 1994).

O chocolate é obtido pela mistura de derivados de cacau (*Theobroma cacao*), com outros ingredientes contendo minimamente 25% (g/100 g) de sólidos totais de cacau (RICHTER; LANNES, 2007; AFOAKWA *et al.*, 2007). Este alimento pode ser definido como uma suspensão de açúcar, sólidos de cacau com ou sem sólidos do leite em uma fase rica em gordura (SCHANTZ; ROHM, 2005; AFOAKWA *et al.*, 2007; DO *et al.*, 2007).

Consumido muito mais por prazer do que por nutrição, acredita-se que por isto o chocolate tenha alcançado extremo sucesso entre os consumidores (BOLENZ *et al.*, 2003), embora ainda seja considerado um alimento de luxo e apresente consumo mais intenso nos países com maior grau de desenvolvimento (CIDELL; ALBERTS, 2006). Cohen *et al.* (2004) afirmam que o Brasil é o quinto maior produtor de chocolate do mundo ficando atrás somente dos Estados Unidos da América, Alemanha, Reino Unido e França.

Richter *et al.* (2007) relatam que as formulações utilizadas para elaboração de chocolates são inúmeras e dependem de preferências regionais e legislação de cada país. Os mesmo autores afirmam que com o crescente consumo deste produto a indústria foi tornando-se mais mecanizada pela melhoria da tecnologia empregada nas fábricas (RICHTER; LANNES, 2007).

A qualidade dos chocolates está relacionada diretamente com as características dos ingredientes, tendências de consumo regional e tecnologia aplicada aos processos produtivos. Normalmente, as grandes indústrias mantêm em sigilo os detalhes que garantem a diferenciação dos seus produtos. Cada vez mais, a quantidade de sólidos de cacau tem sido relacionada com a qualidade do produto final tendo em vista inúmeros estudos sobre os benefícios à saúde que são associados aos compostos naturalmente presentes no liquor de cacau (CIDELL; ALBERTS, 2006; PIMENTEL, 2007).

### **1.3.1 Benefícios à saúde**

Pedro *et al.* (2006) descreveram o chocolate como uma fonte de energia altamente nutritiva de metabolismo rápido e boa digestibilidade devido à presença de cacau, leite e açúcar em sua composição, mas que infelizmente não é consumido pela maior parte da população brasileira.

O consumo de chocolate tem sido estimulado devido à presença de antioxidantes naturais que podem auxiliar na prevenção de doenças cardiovasculares. De acordo com Lee *et al.* (2003) o cacau, matéria-prima essencial na elaboração do chocolate, é a fonte com maior capacidade antioxidante quando comparado aos chás e ao vinho tinto. Pimentel (2007) considerou que chocolates que apresentem formulações com mais de 40% de cacau apresentam efeito benéfico na redução do colesterol em testes realizados em laboratório com animais.

O chocolate é um produto obtido de frações extraídas da semente de cacau que são: o liquor e a manteiga de cacau. Os frutos do *Theobroma cacao* são classificados como: Forastero, Criollo, Trinitario (híbrido) (AFOAKWA *et al.*, 2007). O tipo de cacau utilizado e as misturas entre diferentes tipos definem a particularidade para cada tipo de chocolate

produzido (RICHTER; LANNES, 2007). As sementes de cacau são ricas em polifenóis, particularmente catequinas e procianidinas que apresentam contribuição positiva como antioxidantes na nutrição humana (AFOAKWA *et al.*, 2007). O tipo de cacau, a localização geográfica e o clima influenciam no seu conteúdo de polifenóis, interferindo desta forma na quantidade destas substâncias no chocolate (GOTTI *et al.*, 2006).

Keogh *et al.* (2007) sugerem que os polifenóis são absorvidos no intestino e que, com consumo acima de 80g de chocolate amargo, há aumento de liberação destes compostos na urina. Blache *et al.* (2002) verificaram que diversos estudos documentam os efeitos protetores dos polifenóis e flavonóides presentes em plantas e derivados da dieta humana incluindo vegetais e frutas. Eles demonstraram que, a partir de dados de estudos *in vitro*, os polifenóis apresentaram funções antioxidantes capazes de inibir a oxidação de lipídios e do colesterol LDL. Estes compostos evitam os danos oxidativos causados por radicais livres que podem causar doenças como câncer, doenças cardíacas, doenças cerebrovasculares (LEE *et al.*, 2003). Os efeitos benéficos incluem também a melhoria nas funções endoteliais e na pressão sanguínea (ENGLER; ENGLER, 2004).

Além de conter polifenóis, o chocolate é uma emulsão complexa que ativa os centros do bem estar no cérebro humano (AFOAKWA *et al.*, 2007) provavelmente, por possuir, em cada 100g, 5mg de metilxantina, 160mg de teobromina, fitoquímicos com efeito estimulante semelhante ao da cafeína, e 600 mg de feniletilamina um estimulante parecido com a dopamina e a epinefrina produzidos pelo organismo (RICHTER; LANNES, 2007).

A manteiga de cacau possui ácidos graxos saturados, principalmente palmítico (27%) e esteárico (34%), e o oléico monoinsaturado (34%) (AFOAKWA *et al.*, 2007). Richter e Lannes (2007) afirmam que, apesar de muitos estudos indicarem ser o consumo de gordura saturada um fator de aumento do colesterol, a ingestão regular de chocolate vem negando este fato e as pesquisas demonstram que, provavelmente, o ácido esteárico tenha um efeito neutro sobre o metabolismo do colesterol, enquanto o ácido oléico tenha efeito na redução do colesterol médio.

Além da gordura e dos carboidratos simples presentes no chocolate, o cacau é rico em inúmeros minerais essenciais, como magnésio, cobre, potássio e manganês (RICHTER; LANNES, 2007). Afoakwa *et al.* (2007) relatam que, além dos minerais citados, o chocolate possui também ferro em sua composição.

Silva *et al.* (2006) relatam que o zinco e o manganês são elementos minerais importantes para o organismo sendo que o último é essencial para o metabolismo dos aminoácidos, colesterol e carboidratos podendo ser um ativador enzimático, enquanto o zinco é um componente nutricional importante para atividade de mais de 300 enzimas no metabolismo humano, apresentando funções estruturais, enzimáticas e regulatórias. Os autores encontraram no chocolate em pó conteúdos de 42,8 a 52,7 $\mu\text{g g}^{-1}$  de manganês e

88,6 a 102,4  $\mu\text{g g}^{-1}$  de zinco, considerando que o consumo de manganês recomendado é de 2 a 11 mg/dia dependendo da idade e de zinco de 3 a 5 mg/dia para crianças dependendo da idade.

#### 1.4 Etapas de processamento do chocolate

Após a colheita e rompimento do fruto, as sementes e a polpa do cacau passam por fermentação enzimática e microbiológica por um período de 5 a 7 dias, quando precursores de sabor e cor desenvolvem-se através de reações com polifenóis, proteínas e açúcares (AFOAKWA *et al.*, 2007).

Após a fermentação, os grãos são secos e transportados à indústria de beneficiamento do cacau onde as impurezas são retiradas, os grãos são tostados, quebrados, as cascas das sementes são eliminadas, é feita a moagem dos grãos transformando-os em uma pasta que será fracionada por sistema de prensas, as frações são beneficiadas e dão origem à manteiga e ao liquor de cacau (BECKETT, 1994). Estes ingredientes serão misturados novamente ao longo do processo produtivo em proporções diferente dependendo do tipo de produto a ser confeccionado.

O processamento usual de chocolate segue a seguinte seqüência de operações unitárias: mistura de ingredientes, refino, conchagem, temperagem seguida da cristalização da massa (ALAMPRESE *et al.*, 2007; BECKETT, 1994; COHEN *et al.*, 2004).

A mistura inicial, segundo Cohen *et al.* (2004), tem a função de homogeneizar os ingredientes nas proporções da formulação até a obtenção de uma massa uniforme. A massa deve ter consistência adequada para aderir ao sistema de rolos que normalmente compõe as máquinas responsáveis pela redução da granulometria, as chamadas refinadeiras (BECKETT, 1994).

Segundo Alamprese *et al.* (2007) o padrão para tamanho de partículas vai depender do tipo de chocolate a ser elaborado e dos ingredientes. As refinadeiras mais utilizadas possuem cinco rolos em que a massa passa como um fino filme por entre eles. A regulagem da distancia entre os rolos e as velocidades de rotação podem definir o tamanho médio das partículas do refinado. A temperatura entre os rolos deve ser controlada para permitir a formação de uma película contínua entre eles. No rolo de alimentação e no seguinte a temperatura deve ser mantida entre 26 e 35°C, no terceiro entre 29 e 40°C, no quarto entre 38 e 49°C e no último novamente entre 26 e 35°C (MINIFIE, 1989). A Figura 1, mostra o esquema de uma refinadeira.

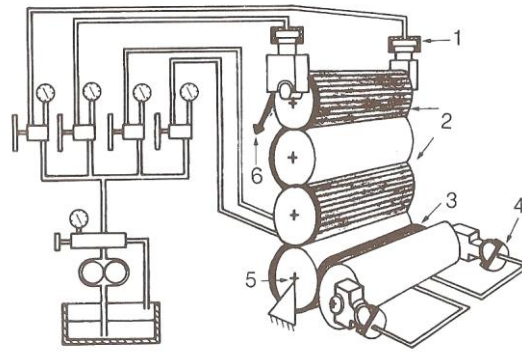


Figura 1: Refinadeira de cinco rolos.

Pontos de controle: (1) pressão entre os rolos; (2) película de chocolate; (3) alimentação da massa de chocolate; (4) pressão entre os rolos de alimentação; (5) rolo fixo; (6) chocolate refinado separado pelo raspador.

Fonte: Beckett (1994).

Afoakwa *et al.* (2008) consideram que os chocolates com partículas finas apresentam granulometria de 18 a 25 $\mu$ m e os com partículas mais grossas possuem de 35 a 50 $\mu$ m. A granulometria juntamente com os ingredientes da formulação são definitivos na percepção sensorial de gosto durante a avaliação de um chocolate (AFOAKWA *et al.*, 2007).

O produto refinado é colocado dentro de máquinas chamadas conchas. O processo de conchagem consiste na mistura intensa de ingredientes com adição de parte da manteiga de cacau da formulação mediante aquecimento. A conchagem tem a função de remover umidade e voláteis indesejáveis desenvolvendo ao longo do processo sabores desejáveis. Nesta etapa as inúmeras superfícies expostas durante o refino são recobertas por gordura melhorando a fluidez da massa (ALAMPRESE *et al.*, 2007).

Durante a produção de chocolate, tanto o refino como a conchagem têm efeito sobre o tamanho de partícula e sobre a consistência da suspensão e viscosidade, influenciando no desenvolvimento da textura e nas qualidades sensoriais (AFOAKWA *et al.*, 2008). Existem máquinas com rolos que podem fazer o refino e a conchagem do chocolate ao mesmo tempo, mas produzem menores quantidades de massa ao final do processo (ALAMPRESE *et al.*, 2007).

Na última etapa da conchagem são adicionados emulsificantes que, além de afetar significativamente a reologia das massas, influenciam também na sensibilidade do produto à luz e à temperatura, solidificação, migração de gordura e oxidação dos chocolates (SCHANTZ ; ROHM, 2005).

A lecitina de soja é o emulsificante mais aplicado na manufatura do chocolate e sua utilização pode reduzir em 10 vezes a quantidade de manteiga de cacau nas formulações com o objetivo de reduzir a viscosidade, diminuindo os custos produtivos gerais pela economia em manteiga de cacau (SCHANTZ; ROHM, 2005). A lecitina atua na interface entre sólidos e a gordura reduzindo a tensão superficial e assim melhorando a dispersão dos sólidos na fase gordurosa, atingindo propriedades reológicas importantes para a produção e aceitação sensorial (DHONSI, STAPLEY, 2006; RICHTER; LANNES, 2007). O polirricinoleato de poliglicerol (PGPR) também é chamado de lecitina sintética, sua adição ao chocolate derretido melhora a fluidez do produto, permite que as massas sejam trabalhadas a temperaturas mais baixas, favorece a remoção de bolhas de ar das massas e permite a formação de casquinhas mais finas de chocolate (SCHANTZ; ROHM, 2005).

Controlados os parâmetros de granulometria e viscosidade a massa segue para as temperadeiras. A manteiga de cacau apresenta diversas formas de cristalização com características físicas diferente como ponto de fusão e estabilidade relativa (SCHENK; PESCHAR, 2004). A temperagem do chocolate garante que, mesmo sendo a manteiga de cacau um constituinte polimórfico, ocorra a formação de sementes de cristais mais estáveis predominantemente, viabilizando assim a etapa de moldagem (DHONSI; STAPLEY, 2006; ALAMPRESE *et al.* 2007). O Chocolate derretido é resfriado à temperatura em que inicia a nucleação das sementes de cristais tipo  $\beta$  e depois a massa é aquecida em poucos graus para que somente os cristais menos estáveis sejam destruídos (DHONSI; STAPLEY, 2006). A cristalização do chocolate é a fase crítica ao final da produção, pois a inadequada formação de cristais pode resultar na migração de gordura para superfície -“*fat bloom*” (SCHENK; PESCHAR, 2004).

Para chocolates moldados o produto que passou por uma temperadeira passará por um sistema composto com bicos dosadores, esteira vibratória para retiradas de bolhas de ar, túnel de resfriamento e esteira para alimentação das máquinas de embalagem (RICHTER; LANNES, 2007).

### **1.4.1 Conchagem**

Na conchagem, alterações químicas e físicas transformam um produto em pó em uma suspensão fluida com as características de textura e sabor apreciadas pelos consumidores (BECKETT, 1994).

Sokmen e Gunes (2006) descrevem a quantidade de gordura, tamanho de partícula, quantidade de umidade, emulsificantes usados, tempo de conchagem e temperatura como



fatores que afetam diretamente a reologia do produto e os custos de produção. Todos estes itens estão diretamente envolvidos com a conchagem.

Cohen *et al.* (2004) relatam que, na conchagem, um produto refinado adequadamente, com 90% de partículas com 20µm de tamanho, é levado ao equipamento onde, durante várias horas de agitação e cisalhamento, sob temperaturas controladas, reduzirá umidade, acidez, viscosidade e desenvolverá sabor.

A conchagem normalmente é constituída de 3 fases, sendo a primeira denominada de fase seca, que ocorre em mais altas temperaturas e tem objetivo de eliminar voláteis, onde a umidade da massa final é considerada aceitável com valores próximos a 0,4 e 0,6% (BOLENZ *et al.*, 2005).

A fase intermediária, fase pastosa, mantém a função de liberar água e ácidos residuais, intensifica a homogeneização (BECKETT, 1994). Geralmente é adicionado nesta fase a quantidade final de manteiga de cacau que compõe a formulação.

Na fase final, fase líquida, as partículas sólidas devem estar cobertas de gordura de forma homogênea e devem ser tomados cuidados com a temperatura para adição de emulsificantes (BOLENZ *et al.*, 2005). Schantz e Rohm (2005) relatam que os emulsificantes são usados para modificar as propriedades de fluidez das massas de chocolate devido à estrutura das moléculas que abaixam a tensão na interface entre os sólidos e a fase contínua formada por manteiga de cacau e gordura do leite, quando contiver.

O desenvolvimento de sabor característico ocorre ao longo das 3 etapas. A mistura e o equilíbrio de mais de 400 compostos contribuem para o sabor definitivo do chocolate, pois este alimento evidencia uma complexidade química de formação de sabor quando se estima os numerosos fatores que influenciam na sua formação (BECKETT, 1994). Devido ao aquecimento pode ocorrer o desenvolvimento de aroma caramelo, e este é considerado indesejável (BOLENZ *et al.*, 2005).

Beckett (1994) relatou os principais tipos de conchas utilizados nos processos produtivos. As Longitudinais têm capacidade próxima a 1000 kg, promovem o refino e conchagem através da rotação de rolos de granito, podem necessitar de 96h de processo para garantia da qualidade do produto final. Um esquema deste equipamento pode ser visto na Figura 2.

As conchas Rotatórias têm capacidade de 2000 a 3000 kg de produto, são amplamente utilizadas, possuem 2 eixos internos com pás que se cruzam propiciando adequada mistura, cisalhamento e aeração da massa, são aquecidas por sistemas encamisados com circulação de água. Uma concha rotatória pode ser vista na Figura 3. Existem outros tipos de conchas desenvolvidas baseando-se no modelo rotatório, incluindo equipamentos que permitem processos contínuos.

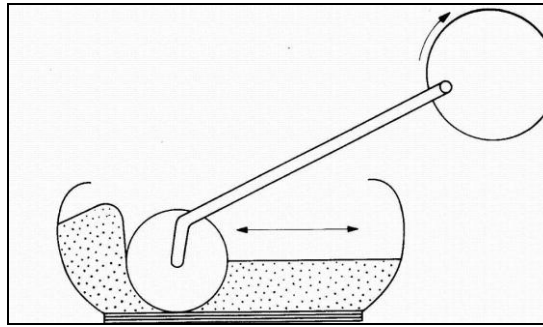


Figura 2: Esquema de uma Concha Longitudinal

Fonte: Beckett (1994)

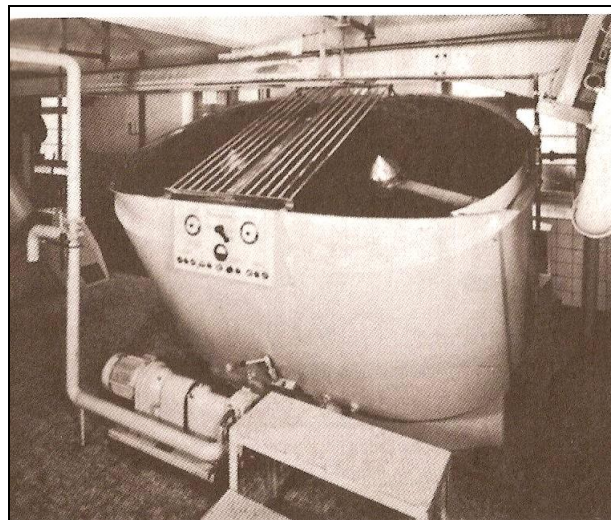


Figura 3: Concha Rotatória

Fonte: Beckett (1994)

#### 1.4.2 Parâmetros de qualidade do processo produtivo

A demanda de chocolates está aumentando nos supermercados do mundo e entender os fatores que influenciam na textura e na aparência tem grande valor para a garantia da qualidade (AFOAKWA *et al.*, 2008). O sucesso ou fracasso de um produto pode ser influenciado diretamente pelo tipo e quantidade de produtos de chocolate utilizados (RICHTER, LANNES, 2007).

Pontos centrais de avaliação da qualidade do chocolate são: ser sólido a temperatura ambiente, derreter rapidamente na boca, ter granulometria padronizada, pois estes itens influenciam na textura e nas características reológicas do alimento afetando as percepções sensoriais (AFOAKWA *et al.*, 2008).

As propriedades reológicas são importantes no processo produtivo obtendo produtos de alta qualidade e texturas bem definidas, por exemplo: chocolates com altos valores de viscosidade têm textura mais pastosa e menor suavidade na boca (AFOAKWA *et al.*, 2008).

A umidade do chocolate precisa ser removida, pois a presença de água causa aumento da viscosidade prejudicando todas as etapas de manufatura e no produto acabado, gerando migração de açúcar para superfície. A migração de açúcar - “*sugar bloom*” - ocorre pela solubilização através da água presente que, por difusão, alcança a superfície do produto desestruturando a complexa dispersão de sólidos em gordura característica do chocolate.

Para obtenção de textura adequada, sabor e de cristais estáveis do chocolate é preciso que as etapas de mistura dos ingredientes, refino, conchagem, temperagem e resfriamento sejam realizados com controles específicos ao longo do processo. Estas etapas são responsáveis pela compactação, brilho, derretimento na boca, prevenção de “*fat bloom*” principalmente nos chocolates amargos (ROSSEAU, 2006). O *fat bloom* é um grande problema do processamento de chocolate, pois ocorre a formação de uma película esbranquiçada na superfície do produto prejudicando a aparência, sabor e textura do produto final (SCHENK; PESCHAR, 2004).

Este problema pode ser causado pela composição, processo ou estocagem inadequada e é explicado pela migração de gordura líquida para superfície através da difusão ou por mecanismo de capilaridade, pois o chocolate apresenta estrutura porosa que depende da qualidade da temperagem realizada (ROSSEAU, 2006).

O brilho é um importante atributo de qualidade, decisivo na aceitação do produto e também depende da adequada formação e compactação de cristais estáveis (BRIONES *et al.*, 2006). Assim como o brilho, a coloração final dos produtos de chocolate desencadeia expectativas de paladar (RICHTER *et al.*, 2007). Por exemplo, não se espera de um chocolate branco a presença de pontos escuros causado por super aquecimento da massa, característica esperada de um chocolate rico em cacau.

A seleção de aditivos, principalmente aromas e emulsificantes empregados na indústria de chocolates para o desenvolvimento de novas formulações, tem grande impacto na qualidade final do produto.

As vantagens da utilização de PGPR podem ser aumentadas combinando com lecitina e a otimização da proporção dos dois emulsificante pode ter grande impacto na melhoria das propriedades reológicas e na redução de custos produtivos (SCHANTZ; ROHM, 2005).

Decisões como definir percentual de liquor utilizado na fórmula gera impactos diretos na quantidade de polifenóis bem como no sabor amargo do produto; definir o tipo de liquor

(marca, origem) também influenciará diretamente nestes parâmetros. Outra questão relevante é a decisão de usar somente manteiga de cacau como fonte de gordura, ou utilizar substituintes que apresentem custos menores. Richter e Lannes (2007) afirmam que existe grande flutuação dos preços de produtos obtidos do grão de cacau, e a manteiga apresenta valores altos que interferem no custo geral de produtos de chocolate. Desta forma, muitos substituintes da manteiga de cacau são desenvolvidos e legislações locais limitam a utilização. Os mesmos autores acrescentam que, quando uma gordura de composição diferente é adicionada à manteiga de cacau, a forma cristalina da gordura resultante é geralmente alterada, produzindo alteração no perfil de fusão da gordura denominado *incompatibilidade*, para substituí-la de maneira total ou parcial, a indústria e pesquisadores têm trabalhado produzindo gorduras com características que atendam às exigências da indústria e dos consumidores.

Os fatores determinantes para a aceitação e percepção de diferenças dos produtos alimentícios são a aparência (coloração, forma e embalagem), seguido pelo aroma, sabor e textura. A análise sensorial trabalha de forma sincronizada com estes atributos sensoriais, buscando atender às necessidades dos consumidores e dos produtores. Portanto, o produto deve apresentar atributos sensoriais que agradem ao consumidor (CORÓ; PEDRÃO, 1999). Esses atributos podem ser medidos, analisados e interpretados através da aplicação de testes de análise sensorial (CHAVES, 1993). No desenvolvimento de novos chocolates, na alteração de ingredientes ou de processo a análise sensorial é uma ferramenta decisiva.

## **1.5 Quinoa (*Chenopodium quinoa*)**

Nsimba *et al.* (2008) relatam que o consumo de grãos tem sido associado à redução de risco de doenças degenerativas causadas por estresse oxidativo como aterosclerose, câncer, diabetes e Alzheimer devido à presença de antioxidantes que freiam a ação de radicais livres.

A quinoa é originada da América do Sul (GELY; SANTALLA, 2007), e extensamente cultivado no Peru e na Bolívia com atenção mundial voltada ao percentual elevado de proteína de alta qualidade (NSIMBA *et al.*, 2008). Colômbia, Equador, Chile e Argentina também são produtores e nos Estados Unidos, a produção comercial de quinoa foi bem sucedida (COMAI *et al.*, 2007). Brady *et al.* (2007) relatam que a quinoa é considerada um pseudocereal, pois a colheita é similar a dos cereais e suas sementes podem ser moídas e transformadas em farinha.

A quinoa recebeu a atenção considerável, como uma colheita alternativa em todo o mundo, devido a seu valor nutritivo elevado; assim agrônomos estão investigando o seu plantio em áreas apropriadas dos EUA e da Europa, como um novo recurso alimentar (COMAI *et al.*, 2007).

A farinha de quinoa tem pouco glúten e, além da alta quantidade de proteína, possui importante conteúdo de gordura e fibra quando comparada com outros cereais convencionais (GELY; SANTALLA, 2007). Devido ao balanço adequado de aminoácidos, a proteína (14 e 16%) tem sido comparada à do leite também pela boa digestibilidade apresentada (COMAI *et al.*, 2007). Além disso, estudos relatam igualmente um aporte significativo de minerais especialmente de cálcio e sódio (NSIMBA *et al.*, 2008).

Comai *et al.* (2007) concluíram em seus estudos que a quinoa tem concentração elevada de triptofano, geralmente o segundo aminoácido limitante em cereais, parte essencial da nutrição diária. Além disso, apresentou índice elevado de triptofano não protéico, mais facilmente absorvido, podendo ter o efeito de aumentar a disponibilidade deste aminoácido no cérebro e assim influenciar na síntese do neurotransmissor serotonina.

A quinoa recebe tratamentos prévios de lavagem e/ou aquecimento antes de ser usada como alimento, pois possui saponinas que devem ser removidas para retirar o sabor amargo, e a quantidade de saponina varia entre as espécies podendo chegar a níveis muito baixos (COMAI *et al.* 2007).

Este pseudocereal tem sido usado como importante ingrediente em pães, massas, comidas de crianças (NSIMBA *et al.*, 2008) com o objetivo de utilizar o potencial do grão para melhorar a qualidade nutricional de outros alimentos.

## 1.5 Caseína

A caseína comercial, produzida por meio da precipitação ácida, é uma das principais proteínas com funcionalidade tecnológica em alimentos (ROMAN, SGARBIERI, 2005). “Entende-se por caseína alimentar o produto separado por ação enzimática ou por precipitação mediante acidificação do leite desnatado a pH 4,6 - 4,7, lavado e desidratado por processos tecnologicamente adequados” (BRASIL, 1996).

Caseínas e caseinatos são comumente utilizados na formulação de produtos cárneos, produtos lácteos, produtos de panificação, chocolates e confeitos, entre outros (ROMAN, SGARBIERI, 2005).

Pires *et al.* (2006) estudaram proteínas de origem animal, incluindo a caseína comercial, e nenhuma delas apresentou aminoácidos limitantes, verificando assim, o alto valor nutricional e a capacidade dietética de suprir o organismo humano com níveis adequados de aminoácidos essenciais. Além do elevado valor nutritivo, as proteínas do leite

conferem aos produtos formulados melhor aparência e melhores propriedades sensoriais, em virtude de suas propriedades funcionais (KRÜGER *et al.*, 2003)

A caseína é um aporte de energia e de aminoácidos essenciais para o organismo e, segundo Su *et al.*(2008), a caseína é uma fonte de peptídeos bioativos que podem contribuir ao organismo como: anti-hipertensivo, antioxidante, antimicrobiano, anti-carcinogênico.

## 1.6 Objetivos

Este trabalho teve o objetivo de tornar o chocolate meio amargo um alimento nutricionalmente mais equilibrado pela adição de proteína de origem vegetal (quinoa) e origem animal (caseína). A seguir, são apresentados dois artigos científicos que relatam o desenvolvimento de propostas de chocolate com percentual maior de proteína, quer seja por adição de quinoa na etapa final do processo quer pela inserção de caseína na formulação passando por todas as etapas do processo de obtenção de chocolate. Os artigos tratam dos benefícios agregados aos produtos e relaciona-os com a manutenção de algumas das qualidades naturalmente presentes no chocolate. Também será apresentado um artigo científico com a descrição do projeto de uma concha de escala laboratorial que permitiu o desenvolvimento do chocolate meio amargo com caseína.

## 2 ARTIGOS CIENTÍFICOS

2.1 Improvement of the nutritional quality of dark chocolate with the addition of quinoa. Será submetido à Revista *International Journal of Food Science and Technology*

2.2 Elaboration and evaluation of a laboratory scale conch for production of chocolate. Será submetido à Revista *Food Technology*

2.3 Increase of the protein content in dark chocolate formulation with casein addition. Será submetido à Revista *International Journal of Food Science and Technology*



Improvement of the nutritional quality of dark chocolate with the addition of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.)

Andrea B. Schumacher, Adriano Brandelli\*, Fernanda C. Macedo, Luiza Pieta, Tâmmila V. Klug, Erna V. de Jong

Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Av. Bento Gonçalves 9500, 91501-970 Porto Alegre, Brazil.

\*Corresponding author: fax: +5551 3308 7048; e-mail: [abrand@ufrgs.br](mailto:abrand@ufrgs.br)

**Running head:** addition of quinoa to dark chocolate

**Abstract**

In this work a chocolate with addition of quinoa (*Chenopodium quinoa* Wild) was developed. Quinoa was added aiming to improve the percentage of protein of chocolate. Three formulae were developed with different percentage of quinoa: 12%, 16% and 20% in dark chocolate (40% cocoa). The protein content of toasted quinoa was 10.5% (semi-micro-Kjeldahl). Data were submitted to variance analysis (ANOVA) and when there was significant difference among the averages, the Tukey test was applied. The percentage of protein of the chocolate samples increased as the amount of quinoa increases. The addition of quinoa reduced the quantity of chocolate polyphenols and increased the concentration of vitamin E to 9% without significant difference. The maximum protein content was obtained with 20% of quinoa. It was observed an increased of total protein (36.8%) and all essential amino acids. Samples were evaluated by sensory analysis. It was verified that chocolate with quinoa was approved by 92% of the sensory panel. All the formulae showed an index of acceptance above 70%.

**Keywords:** Amino acid, *Chenopodium quinoa*, dark chocolate, vitamin E, polyphenols, protein.

## Introduction

In the development of new foods is important to consider the benefits for the human health, using ingredients with excellent nutritional contribution, and fast acquisition, looking for the acceptance and consumption of the customers.

The consumption of chocolate with high levels of cocoa has been studied because this food is a good source of magnesium and polyphenols, which are beneficial to human health (Nebesny et al. 2007). It has been reported that cocoa and dark chocolate, which have high amounts of antioxidants, are important to reduce cardiovascular disease risk (Keogh et al. 2007).

In the same way, quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) an Andean grain crop has gained worldwide attention (Bhargava et al. 2006a). This grain is a good source of minerals, vitamins and natural antioxidants as the vitamin E. The most important appreciated characteristic of this pseudocereal is the high quality and amount of its protein (Bhargava et al. 2007). Studies have been conducted to investigate the use of quinoa as a food ingredient to increase the amount of protein and to improve the taste (Ng *et al.*, 2007).

Schoenlechner et al. (2007) developed a comparative study about pseudocereals and cereals. They had verified that quinoa and amaranth had higher amounts of dietary and crude fiber and contained about four times more folic acid than the studied cereals (five varieties of wheat, barley, and buckwheat). The same authors, reported that one alternative to improve the nutritional quality of food, as an example, the increase of folic acid, is to produce blends of cereal flours with pseudocereal. Quinoa has revealed a good alternative when compared with traditional cereal products mainly as an ingredient collaborating in diets with good sources of functional substances (Berti et al. 2005).

In this work a chocolate (40% cocoa) with addition of quinoa was developed. The aim of this addition was to improve the percentage of protein in chocolate and also to verify amino acid composition, the amount of polyphenols and vitamin E of the samples, and the acceptance of this combination by sensory analysis.

## **Materials and methods**

### *Preparation of quinoa*

Quinoa seeds used in this investigation was obtained at a local supermarket (Porto Alegre, Brazil) and was toasted at 100°C during 3h to reduce the moisture. The quinoa was mixed in intervals of each 20 min. The roasting process also reduced the saponin residue (Brady et al. 2007).

### *Dark chocolate samples with quinoa*

Dark chocolate (40% cocoa) was provided by Chocolates Neugebauer (Florestal Alimentos S/A, Porto Alegre, Brazil). Three dark chocolate formulae were developed with different percentage of quinoa, 12%, 16% and 20%. The chocolate was melted, tempered and then toasted quinoa was added at the indicated percentages. Immediately after that, the mixture was distributed in molds and crystallized in refrigerator.

### *Composition analyses*

The analysis was carried out in duplicate, and the values were averaged. Protein concentration was determined by semi micro-Kjeldahl method (AACC 2000) and nitrogen to protein conversion factor of 5.75 was used. The quantity of fat, fiber, ashes and moisture were measured following standard procedures (AOAC 1990). Total carbohydrates were

determined as the difference between 100 and the sum of the other components (proteins, lipids, ashes, fiber and moisture).

#### *Determination of polyphenol concentration*

The method described by Vinson et al. (1998) with minor modifications was used for preparation of samples. Analyses were carried out in triplicates. The samples were weighed (100 mg), grinded and defatted by three sequential extractions with hexane. Samples were dried and 50 mg were mixed with 5 ml of  $1.2 \text{ mol l}^{-1}$  HCl in 50% (v/v) methanol and heated for 2h at  $90^{\circ}\text{C}$  and were mixed every 30 min. An aliquot (100  $\mu\text{l}$ ) of chocolate extract was reacted with 1 ml of Folin Ciocalteu's reagent diluted 1:9 (v/v) with distilled water (Vinson et al. 2001). After 20 minutes the color was measured at 750 nm using a Shimadzu UV mini1240 spectrophotometer (Shimadzu, Tokyo, Japan). A standard curve was prepared with 1000  $\mu\text{M}$  stock solution of pirocatechin (Vetec, Rio de Janeiro, Brazil).

#### *Amino acid composition*

Determination of amino acid composition of quinoa, chocolate and chocolate with 20% quinoa was performed in Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (UNESP, Ribeirão Preto, Brazil). Amino acid analysis was performed by ion-exchange chromatography. The amino acids were obtained by peptide hydrolysis with 6 M HCl at  $110 \pm 1^{\circ}\text{C}$  for 22 h and purified with Amberlite IR-120. Tryptophan was determined separately after hydrolysis was carried out using 4M LiOH at  $110 \pm 1^{\circ}\text{C}$  for 24 h ( Penke et al. 1974).

#### *Vitamin E concentration*

The vitamin E quantification chocolate and chocolate with 20% quinoa was performed by HPLC analysis in Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos (CEPPA, Curitiba,

Brazil). The parameters of the natural Vitamin E method ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ , and  $\delta$ - tocopherols) was in accordance with standard protocols (Manz et al. 1988).

### *Sensory analysis*

Twenty five non-trained panelists evaluated the chocolate samples, using a 9 points hedonic scale. One end corresponded to the qualification “dislike extremely,” the center to “neither like nor dislike” and the opposite end to “like extremely”. The Index of Acceptance (IA) was calculated using the following equation:

$$IA = M \times 100 / 9 \quad \text{Eq. (1)}$$

where M indicates the average of the evaluations carried through for sensory panel.

### *Statistical analysis*

Statistical significance between the samples was performed using one-way-ANOVA and comparisons between means were performed by Tukey’s test. Results were considered different with the level of 99 % significance ( $P < 0.01$ ).

## **Results and discussion**

In this work, toasted quinoa showed 10% protein. Repo-Carrasco et al. (2003) reported that the seed of quinoa presents 14.4% protein, whereas the English wheat and rice presents, 10.5% and 9.1% protein, respectively. Bhargava et al. (2006b) describe that the protein amount in grains usually range from 7.5 to 22.1%.

Quinoa was added to chocolate formulations and the protein amount was determined. The results of samples without quinoa and those containing 12%, 16% and 20% of this grain show that protein concentration of the chocolate increased with quinoa addition. Results of the composition of chocolate samples and toasted quinoa are shown in Table 1. The maximal

protein amount was observed in the sample with 20% of quinoa, an increase of 36.8% occurred in the protein quantity. This result has relevance because the seed of quinoa presents not only high levels of protein but also a balanced amino-acid composition with high lysine (5.1–6.4%) and methionine (0.4–1.0%) concentrations (Bhargava et al. 2006b).

Ghosh et al. (2005) had described that all the solids in chocolate mass are covered by a continuous lipid phase. When this product presents higher moisture, it is absorbed by the sugar causing a white crystal migration for surface of the chocolate. The addition of toasted quinoa did not generate a great increase in the percentage of moisture (Table 1). In the same way, sugar migration to the surface of the samples was not verified.

It was evidenced that the amount of fibers may be increased with the addition of quinoa (Repo-Carrasco et al. 2003; Schoenlechner et al. 2007). For the Codex Alimentarius Commission (2007) the claim "source of fiber" corresponds to a quantity of 3g/100g, but this value was not reached in the toasted quinoa (Table 1).

The fat concentration of chocolate samples was not significantly reduced by quinoa addition (Table 1). The contribution of quinoa as ingredient is that it has an elevated amount of unsaturated fatty acids. In addition, the oil is stable due to its high amounts of vitamin E, which helps to prevent lipid oxidation (Ng et al. 2007).

The results observed of amino-acids distribution in quinoa was similar to that described by Van Etten et al. (1963), reaffirming the description of Bhargava et al. (2006b) about the balanced amino acid composition of this seed, showing elevated levels of lysine, histidine and methionine. A great increase on the amount of certain amino acids was verified by the addition of quinoa (Table 2). Especially for some essential amino acids an increase above 24% was observed in chocolate with quinoa addition. For the essential amino acids tryptophan, lysine, threonine, isoleucine, leucine, a significant increase with the addition of quinoa to the chocolate was observed (Table 2).

Table 3 was developed using the data from Table 2 and recommended amino acid requirements (WHO 1981), to verify the distribution of the essential amino acids. It can be observed that although the chocolate with quinoa presents a greater amount of protein, the relative amount of essential amino acids is similar to the chocolate without quinoa addition. It is also verified that the distribution of amino acids of these products is adequate to supply the daily necessity of men, women and children. Moreover the chocolate presented in this study have a maximum protein of 4.76%, which is in close agreement with the human necessity.

The maintenance of the antioxidant potential is important when developing new products with cocoa. Lee et al. (2003) had suggested that cocoa is more beneficial to health than teas and red wine in terms of its higher antioxidant capacity. Results of the amount of polyphenols in the toasted quinoa, chocolate and chocolate samples with quinoa can be visualized in Fig. 1. A significant decrease in the amount of polyphenols (around 25%) was observed when quinoa was added at 16% and 20%, as compared with chocolate without quinoa. However, it is necessary to point out that quinoa is rich in  $\alpha$ -tocopherol and  $\gamma$ -tocopherol being a potential antioxidant source (Bhargava et al. 2006a; Ng et al. 2007).

Studies had found 5.3 mg of  $\alpha$ -tocopherol and 2.6 mg  $\gamma$ -tocopherol in 100g of quinoa seeds (Bhargava et al. 2003b). In this work, the addition of 20% of quinoa caused an increase of 9% in the content of vitamin E. Dark chocolate showed E vitamin content of  $3.12 \pm 0.06$  mg/100g, while chocolate with 20% quinoa has  $3.47 \pm 0.10$  mg/100g, being this difference not significant ( $P > 0.01$ ).

Lešková et al. (2005) had argued the important vitamin instability during food processing, and especially in relation to tocopherols, referring retention of 88% during vegetable baking and 60% in the soy processing. The same authors emphasized that is very complex to determine the processing that generates greater loss of vitamin E, however it is well known that vitamin E is unstable in the presence of oxygen, light, and peroxides. In



addition, vitamin E degradation depends on specific parameters during the cooking process: temperature, moisture, pH, and length of exposure (Lešková et al. 2005). In this regard, quinoa was toasted at 100°C during three hours and the high temperature could be responsible for the partial degradation of vitamin E.

It is interesting to make some considerations on the process of chocolate manufacture. In this work the chocolate bar was melted reaching the temperature of 45°C, however, during its previous industrial production it was warmed during 10 h reaching the maximum temperature of 75°C and maintaining an amount of 3.12 mg of vitamin E/100g.

The formulations were submitted to sensory analysis. Results are shown in Table 5. This study evaluated if the sensory panelists had liked the combination of quinoa and chocolate in the same food, showing that 92% of them had approved the new product. The preference of the panelists for the samples with different percentage of quinoa showed no significant differences. All the formulae showed an index of acceptance above 70%.

#### **4. Conclusion**

Toasted quinoa presented an elevated percentage of protein, high levels of essential amino acids and the use of this grain in the elaboration of chocolates generated a significant increase in the protein value of the samples. The amount of polyphenols was not significantly reduced only when 12% of quinoa was added. With the addition of 20% of quinoa an increase of 9% vitamin E was observed in chocolate samples. All samples were accepted by the taste panelists, indicating that quinoa could be used in the chocolate at the levels evaluated in this study, adding the nutritional potential of this pseudocereal to the dark chocolate.

**Acknowledgements**

Authors thank the financial support received from Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES, Brazil) and Florestal Alimentos S/A that supplied the chocolate used in this study. A.B. is research awardees of National Research Council (CNPq, Brazil).

## References

- American Association of Cereal Chemists (2000). Crude protein-micro Kjeldhal method (method 46-13). *Approved methods of the AACC*, 10<sup>th</sup> ed. AACC International: St. Paul..
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC). (1990). Fat in cacao products: Soxhlet extraction method (963.15). *Official Methods of Analysis*. 15<sup>th</sup> ed. AOAC: Washington.
- Bhargava A, Shukla S, Rajan S, Ohri D. 2006a. Genetic diversity for morphological and quality traits in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) germplasm. *Gen Resour Crop Evol* 54:167-173.
- Bhargava A, Shukla S, Ohri D. 2006b. *Chenopodium quinoa* - An Indian perspective. *Ind Crops Prod* 23:73-87.
- Bhargava A, Shukla S, Ohri D. 2007. Genetic variability and interrelationship among various morphological and quality traits in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). *Field Crops Res* 101:104-116.
- Berti C, Riso P, Brusamolino A, Porrini M. 2005. Effect on appetite control of minor cereal and pseudocereal products. *Br J Nutr* 94:850-858.
- Brady K, Ho C, Rosen RT, Sang S, Karwe MV. 2007. Effects of processing on the nutraceutical profile of quinoa. *Food Chem* 100:1209-1216.
- Codex Alimentarius Commission. 2007. Guidelines for the use of nutrition claims: draft table of conditions for nutrient contents. Part b. dietary fibre. Food and Agriculture Organization: Rome.
- Ghosh V, Ziegler GR, Anantheswaran RC. 2005. Moisture migration through chocolate-flavored confectionery coatings. *J Food Eng* 66:177-186.
- FAO/ WHO/UNU Expert Consultation on Energy and Protein Requirements (1981). Amino acid scoring patterns. Food and Agriculture Organization: Rome.

- Keogh JB, McInerney J, Clifton PM. 2007. The Effect of milk protein on the bioavailability of cocoa polyphenols. *J Food Sci* 72:S230-S233.
- Lee KW, Kim YJ, Lee HJ, Lee CY. 2003. Cocoa has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine. *J Agric Food Chem* 51:7292- 7295.
- Lešková E, Kubíková J, Kováčiková E, Košická M, Porubská J, Holčíková K. 2006. Vitamin losses: retention during heat treatment and continual changes expressed by mathematical models. *J Food Comp Anal* 19:252-276.
- Manz U, Philipp K. 1988. Determination of vitamin A in complete foods and premixes with HPLC. In: Keller HE (ed.) *Analytical methods for vitamins and carotenoids in food*. Hoffmann-La Roche: Basel, pp 12-16.
- Nebesny E, Zyzelewicz D, Motyl I, Libudzisz Z. 2007. Dark chocolates supplemented with *Lactobacillus* strains. *Eur Food Res Technol* 225:33-42.
- Ng S, Anderson A, Coker J, Ondrus M. 2007. Characterization of lipid oxidation products in quinoa (*Chenopodium quinoa*). *Food Chem* 101:185-192.
- Penke B, Ferenczi R, Kovacs K. 1974. A new acid hydrolysis method for determining tryptophan in peptides and proteins. *Anal Biochem* 60:45-50.
- Repo-Carrasco R, Espinoza C, Jacobsen SE. 2003. Nutritional value and use of the Andean crops quinoa (*Chenopodium quinoa*) and kaniwa (*Chenopodium pallidicaule*). *Food Rev Int* 19:179-189.
- Schoenlechner R, Tomoskozi S, Nadosi M, Kersztény N, Kazlauskaite A, Salgo A, Berghofer E. 2007. Comparison of selected cereals and pseudocereals regarding health promoting compounds. In: *Annals of Conferencia Latinoamericana ICC 2007*. Rosário, Argentina.
- Van Etten CH, Miller RW, Wolff IA, Jones Q. 1963. Amino acid composition of seeds from 200 angiosperm plants. *J Agric Food Chem* 11:399-410.

Vinson JA, Hao Y, Su X, Zubik L. 1998. Phenol antioxidant quantity and quality in foods: vegetables. *J Agric Food Chem* 46:3630-3634.

Vinson JA, Proch J, Bose P. 2001. Determination of quantity of polyphenol antioxidants in foods and beverages. *Meth Enzymol* 335:103-114.

Table 1. Composition of toasted quinoa and chocolate samples.

	Toasted Quinoa	Chocolate	12% Quinoa	16% Quinoa	20% Quinoa
Protein	10.48±0.28	3.48±0.013 <sup>a</sup>	4.29±0.019 <sup>b</sup>	4.56±0.03 <sup>c</sup>	4.76±0.01 <sup>d</sup>
Fat	6.65±0.24	26.06±1.63 <sup>a</sup>	23.27±2.09 <sup>a</sup>	21.74±0.02 <sup>a</sup>	22.65±0.43 <sup>a</sup>
Moisture	5.13±0.02	0.78±0.04 <sup>a</sup>	1.09±0.23 <sup>a</sup>	1.30±0.02 <sup>a</sup>	1.19±0.01 <sup>a</sup>
Ash	2.10±0.04	1.37±0.15 <sup>a</sup>	1.38±0.23 <sup>a</sup>	1.37±0.08 <sup>a</sup>	1.47±0.21 <sup>a</sup>
Fiber	1.46±0.11	0 <sup>a</sup>	0.18±0.01 <sup>b</sup>	0.23±0.02 <sup>c</sup>	0.29±0.02 <sup>d</sup>
Carbohydrate	72.18±0.57	68.31±1.63 <sup>a</sup>	69.79±2.56 <sup>a</sup>	70.80±0.11 <sup>a</sup>	69.64±0.02 <sup>a</sup>

Values followed by different letters in the same row differ significantly ( $P<0.01$ ), comparisons only for chocolate samples.

Table 2. Essential amino acid composition of quinoa, chocolate and chocolate with quinoa.

	mg%		
	Toasted quinoa	Chocolate	Chocolate 20% quinoa
Trp *	0.27 ± 0.003	0.08 ± 0.001 <sup>a</sup>	0.12 ± 0.001 <sup>b</sup>
Lys *	0.79 ± 0.013	0.16 ± 0.001 <sup>a</sup>	0.26 ± 0.001 <sup>b</sup>
Thr*	0.40 ± 0.001	0.15 ± 0.001 <sup>a</sup>	0.20 ± 0.001 <sup>b</sup>
Cys	0.12 ± 0.001	0.03 ± 0.001 <sup>a</sup>	0.06 ± 0.003 <sup>a</sup>
Val*	0.48 ± 0.007	0.20 ± 0.001 <sup>a</sup>	0.25 ± 0.003 <sup>a</sup>
Met*	0.21 ± 0.007	0.04 ± 0.001 <sup>a</sup>	0.07 ± 0.003 <sup>a</sup>
Ile *	0.40 ± 0.001	0.13 ± 0.001 <sup>a</sup>	0.20 ± 0.001 <sup>b</sup>
Leu *	0.66 ± 0.001	0.22 ± 0.005 <sup>a</sup>	0.33 ± 0.003 <sup>b</sup>
Tyr	0.25 ± 0.013	0.07 ± 0.001 <sup>a</sup>	0.12 ± 0.001 <sup>b</sup>
Phe *	0.42 ± 0.001	0.15 ± 0.003 <sup>a</sup>	0.22 ± 0.001 <sup>a</sup>

\*essential amino acids

Values followed by different letters in the same row differ significantly ( $P < 0.01$ ).

Table 3. Necessary intake of amino acids for feeding compared with the distribution of amino acids of the chocolates.

	% of total of essential amino acids				
	Requirements*			Samples	
	Men	Women	Children (10-12 years old)	Chocolate	Chocolate 20% quinoa
Trp	4 (250)	4 (160)	2 (120)	7	6
Lys	13 (800)	16 (700)	21 (1600)	14	14
Tre	8 (500)	9 (375)	13 (1000)	12	11
Val	13 (800)	15 (650)	12 (900)	15	14
Met	-	-	10 (800)	3	4
Met + Cys	17 (1100)	13 (550)	-	6	7
Ile	11 (700)	10 (450)	13 (1000)	10	11
Leu	17 (1100)	17 (710)	19 (1500)	18	18
Phe	-	-	10 (800)	12	12
Phe + Tyr	17 (1100)	16 (700)	-	18	18

\* Values in the parenthesis indicate the estimated amino acid requirements ( $\text{mg day}^{-1}$ ) for adults and children (10-12 years) by FAO/WHO/UNU Expert Consultation on Energy and Protein Requirements (1981).



Table 4. Results of the sensorial analysis of the chocolate samples.

	12% quinoa	16% quinoa	20% quinoa
Index of acceptance	82.91	80.34	77.35
Preference	28%	36%	28%
Mean average	7.46 $\pm$ 0.99 <sup>a</sup>	7.23 $\pm$ 1.58 <sup>a</sup>	6.96 $\pm$ 1.46 <sup>a</sup>

Values followed by different letters differ significantly ( $P < 0.01$ ).

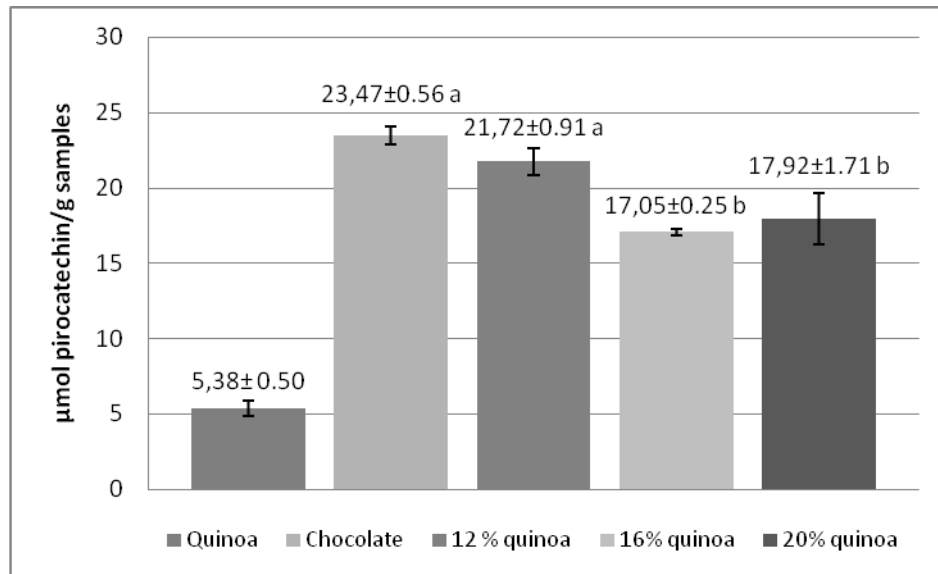


Figure 1. Polyphenol content of toasted quinoa and chocolate samples. Values followed by different letters differ significantly ( $P < 0.01$ ).

Development and evaluation of a laboratory scale conch for chocolate production

Andrea Bordin Schumacher\*, Adriano Brandelli, Erwino Wulf Schumacher, Fernanda Carrion Macedo, Luiza Pieta, Tâmmila Venzke Klug, Erna Vogt de Jong

Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Av. Bento Gonçalves 9500, 91501-970 Porto Alegre, Brasil.

\*Corresponding author: fax: +5551 3308 7048; E-mail: [andrea.b.schumacher@hotmail.com](mailto:andrea.b.schumacher@hotmail.com)

**Abstract**

In this study a laboratory scale conch was developed with the intention of testing formulations using small amounts of chocolate mass. The equipment was built with working parts of other machines and the chocolate manufactured with the conch was evaluated in relation to the parameters: moisture, acidity and polyphenol concentration. The resulting chocolate was tempered and then evaluated by a sensory panel. The material used in the assays was dark chocolate (40% cocoa). The results were always compared with an industrial conching process. Data were submitted to variance analysis (ANOVA) and when there was significant difference among the averages, the Tukey's test was applied. It was verified that the reduction of moisture and viscosity of the mass in the laboratory scale was similar to industrial scale. The parameters acidity and polyphenols showed no significant alterations comparing both process scales. However, in the sensory analysis a flavor difference between the processing scales was perceptible.

*Keywords:* Conch, Dark Chocolate, Moisture, Polyphenols.

## INTRODUCTION

Chocolate production basically consists of five stages: mixture of ingredients, refining, conching, tempering, and final crystallization. For production of high quality chocolate, not only the quality of the ingredients defines the final product, but there is also a great influence of the productive process, the employed formulation, and the regional expectations in relation to this product (Cidell and Alberts, 2006).

The initial mixture has the objective to gather the solid ingredients with part of the cocoa butter to produce a mass with the adjusted consistency to be refined. The refining process must result in the correct particle size (Bolenz *et al.*, 2003). Thus, the main target of this stage is to reduce sugar crystals and solids of the cocoa to the size which it cannot be detected in the mouth during product degustation (Lucisano *et al.*, 2006). Reaching the standardized particle size, the mass that became a fine powder is placed inside a conch.

Initially, the conch was attributed the function of reducing particles sizes and guarantee the fluidity of the mass, however after the development of refine machines this function started to be secondary, then flavor modification is credited to conching (Beckett, 1994). In the conch the undesirable flavors are removed and the pleasant ones are produced, generating the typical flavor of the chocolate, passing from a refined heterogeneous mass to a homogeneous particle suspension in fat (Lucisano *et al.*, 2006).

Conching influences the development of flavor and the flow properties, being a process that occurs in three steps. In the dry phase, the refined product is warmed, blended and aerated, to evaporate the water and some acids originated from the liquor of the cacao (residues of the fermentation). In the pasty phase, where some melted cacao butter is added, some flavor precursors are produced to generate the typical flavor of chocolate. In the final liquid phase, all the particles are covered with a thin layer of fat that will result in a decrease of viscosity, which is very important for sensory characteristics of the chocolate. Lecithin is added in the liquid phase finishing the conching process (Bolenz *et al.*, 2003; Beckett, 1994).

The Lindt Company invented the conching process using heating and movement of granite coils to break sugar crystals and to develop the expected texture (Cidell and Alberts, 2006). Many models of industrial conches with different capacities exist for example, endowed round and rotatory machines with heating system, mixer type racket have capacities for 2 to 3 tons (Beckett, 1994).

Mainly for dark chocolates the time of conching influences in the flavor development and still today the majority of milk chocolates and dark ones are processed during 5 - 12h (Bolenz *et al.*, 2003). Imperfections in the conching process may result in inadequate distribution of the fat on solid particles, generating a heterogeneous chocolate, migration of fat and sugar, acid flavor and absence of desirable flavors. Thus, the conching time can be an indicative of chocolate quality and in Swiss that the chocolate must be conched during 72h (Cidell and Alberts, 2006).

After to get a uniform mass, it is necessary to temper the chocolate, furthering the steady crystal formation that is obtained by cooling the mass through the use of thermal and mechanical treatments, adjusted with the purpose to assure the fast solidification and appropriate organization of the triacylglycerides. This will result in proper sensory characteristics to the product (Cohen *et al.*, 2004).

Chocolate production requires diverse controls for each unit operation. For testing new ingredients, optimizing processes or developing new products, some stages can be performed in an industrial scale or manually, but not the conching process. In an industrial refining machine it is possible to refine small amounts of products and the tempering of the chocolate at the end of the process can be carried out manually in cold surfaces. For the conching of small amount of mass is necessary to have an equipment with size adjusted in relation the amount to be produced. In this study a laboratory scale conch was developed to test new formulations using small amounts of chocolate mass. The equipment was assembled with

working parts of others machines. The product elaborated in the laboratory conch was evaluated chemically and sensorially.

## **MATERIALS AND METHODS**

### **Elaboration of a laboratory scale conch**

The laboratory scale conch was built based on an industrial conch (Seco, Hamburg, Germany) using equipment and parts of other machines. The laboratory conch was planned in three parts (Fig. 1). First a thermostatic bath used to melt chocolate was adapted. This equipment was composed of an external aluminum recipient, a resistance, a thermostat (Tonini, Sao Paulo, Brazil) with regulation ranging for 20°C - 120°C and a stainless steel recipient in the internal part. The fluid used for heating was soybean oil. The second part was to build a mixer. A structure composed by an induction motor (General Electric, Santo André, Brazil) was fixed in a metallic support, a speed dropbox, a pulley with 34 cm I.D., a belt Goodyear A57, two belts Goodyear ZX785 and a support with mandril for setting tool (withdrawn from a bench drill). In the third stage, a set of impellers (were elaborated to be connected in the support with mandril). Two steel impellers were developed: the first was a yoke-type and the second a propeller-type (Fig. 1). The thermostatic bath was fixed under of the mixer and the impellers are used in agreement the phase of the conching process. To define the heating procedure of laboratory scale conch was made an accompaniment of the temperature of soy oil in different temperatures of the thermostat.

### **Conching process**

Both laboratory and industrial scale conching were composed by 3 phases: (1) dry phase lasted 6 h searching to reach temperatures of 70-75°C; (2) pasty phase lasted 5h diminishing

the temperature (75°C to 60°C); (3) final phase lasted 1h with temperature of 60°C to 45°C. Conching initiated with refine mass and the same additions (cocoa butter, emulsifiers and flavor) had been made proportionally during the process. To evaluate quality parameters, size distribution of chocolate particles was determined using a micrometer (Mitutoyo, Tokyo, Japan). The viscosity of the chocolate mass ( $40 \pm 0.1^\circ\text{C}$ ) was measured through a rotational viscometer (Brookfield Engineering Laboratories Inc Stoughton, USA) with spindle 4 and rotation 4.

### **Evaluation of laboratory scale conch**

Four conching experiments had been made. Each experiment was carried out at the same day in pilot and industrial scales, with the same previously refined product. Samples of chocolate mass had been collected in the following intervals: 0 h (refined product), 5h, 6h, 8.5h, 11h and 12h.

The first experiment (EXP 01) was performed to verify the necessities of modifications in the laboratory conch and to obtain a preliminary set of results.

The second and third experiments (EXP 02 and EXP 03) had performed to evaluate the conching process. The last experiment (EXP 04) had the purpose to get sample for sensory analysis.

### **Composition analysis**

Moisture content of each sample was determined by a vacuum drying RVT 220 (Hereaus, Hanau, Germany) at 70°C and 50 mmHg, (Kim *et al.*, 1999; Bolenz *et al.*, 2005) until constant weight at least 7 hours. Total acidity was measured by the titrimetrical method (AOAC, 1984).



The protein concentration was determined by semi micro-Kjeldahl method (AACC, 2000) and nitrogen to protein conversion factor of 5.75 was used. Fat content was measured by Soxhlet extraction, following acid hydrolysis (AOAC, 1990). Ash content was determined by calcination at 550°C in an oven upon modification of the AOAC method 31.013 (AOAC, 1984). Total carbohydrates were determined as the difference between 100% and the sum of the other components (proteins, lipids, ashes, fiber and moisture). The analyses were carried out in duplicate, and the values were averaged.

### **Determination of polyphenol concentration**

The method described for Vinson *et al.* (1998) with minor modifications was used for preparation of samples and the analysis was carried out in triplicates. The samples were weighed (100 mg), grinded and defatted by three sequential extractions with hexane. Samples were dried and 50 mg were mixed with 5 ml of 1.2 mol l<sup>-1</sup> HCl in 50% (v/v) methanol and heated for 2h at 90°C. Samples were mixed every 30 min.

An aliquot (100 µl) of chocolate extract was reacted with 1 ml of Folin Ciocalteau's reagent diluted 1:9 (v/v) with distilled water (Vinson *et al.*, 2001). After 20 minutes the color was measured at 750 nm using a Shimadzu UV mini1240 spectrophotometer (Shimadzu, Tokyo, Japan). A standard curve was prepared with 1000 µM stock solution of pirocatechin (Vetec, Rio de Janeiro, Brazil).

### **Sensory analysis**

After conching, in the following day the masses of chocolates of the different processes had been melted, tempered and molded. Twenty six nontreined panelists evaluated the samples, using a Triangle Test. Half of the group received two samples proceeding from laboratory scale conch and one sample of the industrial scale conch and the others received the opposite.

### **Statistical analysis**

Statistical significance between the samples was performed using one-way-ANOVA and comparisons between means were performed by Tukey's test. Results were considered different the level of 99 % significance ( $P < 0.01$ ).

## **RESULTS AND DISCUSSION**

Conching process made in laboratory could be compared with others made in industry and the procedures must to be similar. For this intend, the procedure was to maintain the thermostat at 90°C in the dry phase (mass at 70±10°C); in pasty phase 90°C, besides changing in the 10<sup>th</sup> hour to 60°C (mass at 50±10°C) until the final phase. In the industrial equipment the mass cooled from 75°C to 60°C during five hours of pasty phase. In laboratory scale conch the cooling was speed up, considering the small capacity of the equipment. For this, pasty phase had the temperature of the thermostat maintained at 90°C for more time.

It was possible to conch 1.2 kg chocolate in the laboratory scale without product loss. Industrial conching used in this study processed 3 tons of chocolate mass. The project of laboratory machine is demonstrated in the Fig. 1.

The constructed impellers to adapt in the laboratory conch mixer can be seen in Fig. 1. The propeller-type is similar the industrial conch mixer, but it was verified that this type did not promote a suitable mixture during the two first phases. In the dry phase the yoke-type functioned very well. The mass showed similar visual aspect to the industrial product in this phase. In the pasty phase the two kinds of impellers had gotten reasonable result for the mixture. It was observed that the yoke-type impeller had better performance in the beginning and the propeller-type in the ending of phase. The propeller-type had better performance how much less is the viscosity of the mass.

The mixer of the industrial conch was carried out with agitation at 20 rpm, but the laboratory conch axle turn at 33 rpm. To reduce this agitation it was necessary to place a pulley with I.D. bigger than 34 cm.

The moisture reduction in the EXP01 for both industrial and laboratory processes is illustrated in Fig. 2A. Excepting at 12 h, no significant differences were observed in the moisture values between the different processes. Bolenz *et al.* (2005) describes as acceptable the values of 0.4-0.6% moisture in the conching end. Indeed, in industrial conch the loss of water occurred earlier, but later in equilibrium with the air humidity the chocolate will increase this value. The water enters in the product through the empty spaces of fat crystals, when the moisture reaches the sugar or solids of the cocoa. Because of this the water is absorbed (Gosh *et al.*, 2005). High amount of water can cause migration of these ingredients to the chocolate surface. For this reason the control of this parameter is very important in the chocolate processing.

The product from the laboratory conch showed higher viscosity (19,000 Cp versus 11,600 Cp for industrial product), which can be associated with the higher humidity at the end of the process. This occurs because the rheological properties of chocolate depend on water content (Bolenz *et al.*, 2005, Sokmen and Gunes, 2006). On the other hand, the high viscosity to the end of the laboratory scale process may be caused for the slipping of the belt ZX785 during the rotations of the machine (EXP 01). This fact generated the necessity of manual contact in the impellers and manipulation of the mass with spatulas. After this verification, it was considered necessary to add a second belt ZX785. So, the problems with the use a single belt may have negatively influence in the viscosity. Therefore, the correct particle covering by fat depends on the vigor of the mixture in the conch. Servais *et al.* (2004) describes that all vibrations of the chocolate mass influences in viscosity together with the amount of moisture, temperature, as well as the all operations of chocolate processing.

Particle size above 35 $\mu\text{m}$  often results the mouthfeel coarse, changing for each region the acceptance interval of quality of this parameter (Sokmen and Gunes, 2006). Normally values around 20  $\mu\text{m}$  are more used as standard (Cohen *et al.*, 2004), which corresponded to the particle size obtained in the EXP01 for both industrial and laboratory product (data not shown). In this case, the homogeneity of the refine flakes is a relevant factor, thus the same particles size did not interfere with viscosity. Therefore in accordance with Sokmen and Gunes (2006), as much as lesser the particle size is, larger will be the plastic viscosity, because it increases the contact with the cocoa butter.

The values of acidity in EXP01 can be observed in Fig. 2B. The values of acidity were similar among the different time and still did not have significant differences between the final values of acidity of the two processes.

Beckett (1994) reported that the concentration of phenolic compounds diminishes after 24h of conching and it is well known that polyphenols, through oxidation and enzymatic mechanisms form complexes with amino acids, peptides and proteins (Friedman, 1996). The values of polyphenol concentration in EXP01 were determined resulting in no significant differences among the different time and processes (Fig. 2C).

The values of chocolate composition of the samples can be observed in Table 1. Differences were not significant. It is important to give attention for the increase of the moisture in the two products after they had been melted, tempered, molded and directed to analyses.

For the EXP02, EXP03 and EXP04 was defined that the yoke-type impeller was used during the nine first hours. It corresponds to all dry phase and the beginning of pasty phase in the laboratory scale conch. Another impeller was used until the end of the process. Second leather strap ZX785 was placed so that the viscosity of the mass was not affected by stops in the mixture.

In the Table 2 it can be verified the moisture variation of EXP02 and EXP03. The differences in the moisture values between the different processes, in each analyzed interval, and each one of the experiments were not significant at  $P < 0.01$ . In the industrial scale of the EXP03 an interesting moisture reduction can be observed at 5 hours, 6 hours and 8.5 hours followed of significant increase in the posterior points. That is possible to explain this fact because the industrial pasty phase started the reduction of the temperature but the great amount of mass keeps the height temperature reducing slowly until the 11<sup>th</sup> hours.

It was verified that particle size and viscosity had very close values indicating the similarity of the laboratory and industrial processes (Table 3). During the operation of laboratory scale conch it was verified that the presence of a second leather strap ZX785 improved the quality of the mixture. The control of viscosity allows the control of process parameters as weight, quality of molding, quality of covering formation in the industry process (Servais *et al.*, 2004).

It was expected that conching can reduce the acidity of the mass during the process. Bolenz *et al.* (2005) describes that nowadays the improvement of the cocoa liquor results ingredients of high quality and low acidity. The acidity values of the EXP02 and EXP03 can be seen in the Table 4. Acidity diminished during the conching, although in the industrial process the differences were not significant. Evaluating the laboratory conch, significant decrease in the values of acidity was observed during the process in both EXP02 and EXP03 (Table 4). No significant differences in acidity values were observed between EXP 02 and EXP03 in laboratory and industrial scale at 12<sup>th</sup> hour.

The polyphenol concentration of the chocolate mass obtained in EXP02 and EXP03 was determined, demonstrating that a reduction in the amount of polyphenols occurred during the conching, although significant differences were not observed (Table 5). The processing of food containing high amount of cacao is susceptible to the reduction of the amount of

polyphenols and this must be prevented due to their potential beneficial health effects, mainly in relation in cardiovascular diseases (Barbean *et al.*, 2007; Lee *et al.*, 2003; Engler and Engler, 2004).

An additional experiment (EXP04) was developed aiming the sensory evaluation of the chocolate produced by both processes. Particle size was determined as 20  $\mu\text{m}$  in both industrial and laboratory mass. It was also verified that viscosity remained similar in fully acceptable values for production of dark chocolate. The values were 9,200 Cp and 10,800 Cp for industrial and laboratory products, respectively.

Significant sensory difference was verified between the samples produced in the laboratory conch and industrial conch. Amongst the panelists that had perceived difference, some part observed difference in flavor; however most did not describe this difference. Of the complete sensory panel, 64% preferred the sample elaborated in the industrial conch. The alteration in the flavor of the sample produced in pilot scale could be related with two factors: (a) oscillation of thermostat temperature ( $\pm 10^\circ\text{C}$ ), and (b) the small amount of product in the laboratory conch. Both factors may have contributed for caramel flavor development in the product. The caramel flavor is not desired in the chocolate (Bolenz *et al.*, 2005). Beckett (1994) argues that in the pasty phase it is relevant to avoid large variations in the temperature, therefore this generates important alterations in the flavor. Heat transfer in a laboratory scale conch is bigger than on an industrial scale and this occurs because the decreased relative heating surface in larges conches (Bolenz *et al.* 2005).

Sample composition (EXP04) had been determined to guarantee similarity of both products. The values can be seen in the Table 6.

## CONCLUSION

The laboratory scale conch resulted in a product with similar characteristics to that obtained in the industrial conch. However, some limitations had been identified, as the large variation

of the temperature in the thermostat, being able to generate overheating, which directly modify the flavor of the chocolate.

With the heating procedure used in this work tests that involve modifications in texture and formulae of dark chocolate would be carried out in this laboratory scale conch. As for example tests with different emulsifiers searching to improve values of viscosity or income of process. It will be necessary to improve de quality of heating process if will make tests with flavor evaluations.

### **ACKNOWLEDGEMENTS**

Authors would like to thank Tatiana Pereira Dias de Castro for Figure 1 illustration and Florestal Alimentos S/A that supplied the chocolate used in this study. This work was supported by CAPES, Brazil. A.B. is research awardees of CNPq, Brazil.

**REFERENCES**

- American Association of Cereal Chemists (2000). Crude protein-micro Kjeldhal method. In: Approved methods of the AACC, 10<sup>th</sup> Ed. AACC method 46-13.
- Association of Official Analytical Chemists (1990). Official methods of analysis, 15<sup>th</sup> Ed. Fat in cacao products: Soxhlet extraction method (963.15). Washington: AOAC.
- Barberán, F.A.T., Jovellanos, E.C., Marín, A., Muguerza, B., Izquierdo, A.G., Cerdá, B., Zafrilla, P., Morillas, J., Mulero, J., Ibarra, A., Pasamar, M.A., Ramón, D. & Espín, J.C. (2007). A New Process To Develop a Cocoa Powder with Higher Flavonoid Monomer Content and Enhanced Bioavailability in Healthy Humans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 3926-3935.
- Beckett, S.T. (1994). *Fabricación y Utilización Industrial del Chocolate*. pp.121-157. Zaragoza: Editorial Acribia.
- Bolenz, S., Thiessenhusen, T. & Schape, R. (2003). Fast conching for milk chocolate. *European Food Research and Technology*, 218, 62-67.
- Bolenz, S., Amtsberg, K. & Lipp, E. (2005). New concept for fast continuous conching of milk chocolate. *European Food Research and Technology*, 220, 47-54.
- Cidell, J.L. & Alberts, H.C. (2006). Constructing quality: The multinational histories of chocolate. *Geoforum*, 37, 999-1007.
- Cohen, K.O., Luccas, V. & Jackix, M.N.H. (2003). Review: Tempering or precrystallization of chocolate. *Brazilian Journal of Food Technology*, 7, 23-29.
- Engler, M.B. & Engler, M.M. (2004). The vasculoprotective effects of flavonoid-rich cocoa and chocolate. *Nutrition Research*, 24, 695-706.
- Friedman, M. (1996). Food browning and its prevention: An overview. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44, 631-652.



- Ghosh, V., Ziegler, G.R. & Anantheswaran, R.C. (2005). Moisture migration through chocolate-flavored confectionery coatings. *Journal of Food Engineering*, 66, 177–186.
- Kim, S.S., Kim, S.Y., Kim, D.W, Shin, S.G. & Chang. K.S. (1999). Moisture sorption characteristics of composite foods filled with chocolate. *Journal of Food Science*, 64, 300-302.
- Lee, K.W., Kim, Y.J., Lee, H.J. & Lee, C.Y. (2003). Cocoa has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 7292-7295.
- Lucisano, M., Casiraghi, E. & Mariotti, M. (2006). Influence of formulation and processing variables on ball mill refining of milk chocolate. *European Food Research and Technology*, 223, 797–802.
- Servais, C., Ranc, H. & Roberts, I.D. (2004). Determination of chocolate viscosity. *Journal of Texture Studies*, 34, 467-497.
- Sokmen, A. & Gunes, G. (2006). Influence of some bulk sweeteners on rheological properties of chocolate. *LWT Food Science and Technology*, 39, 1053-1058.
- Vinson, J.A., Hao, Y., Su, X. & Zubik, L. (1998). Phenol Antioxidant quantity and quality in foods: vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 3630-3634.
- Vinson, J.A., Proch, J. & Bose, P. (2001). Determination of quantity of polyphenol antioxidants in foods and beverages. *Methods in Enzymology*, 335, 103-114.

Table X. Quality parameters EXP01

	Industrial	Laboratory
Particle size ( $\mu\text{m}$ )	20	20
Viscosity (Cp)	11600	19000

**Table 1.** Chocolate composition EXP01

	Industrial 1	Laboratory 1
Fat	26.06 $\pm$ 1.626 <sup>a</sup>	27.82 $\pm$ 1.039 <sup>a</sup>
Ashes	1.361 $\pm$ 0.073 <sup>a</sup>	1.37 $\pm$ 0.015 <sup>a</sup>
Protein	3.48 $\pm$ 0.013 <sup>a</sup>	3.45 $\pm$ 0.013 <sup>a</sup>
Moisture	0.80 $\pm$ 0.007 <sup>a</sup>	0.67 $\pm$ 0.064 <sup>a</sup>
Carbohydrate	68.30 $\pm$ 1.693 <sup>a</sup>	66.70 $\pm$ 1.101 <sup>a</sup>

Values followed in the same line by different letters differ significantly ( $P < 0.01$ ).

**Table 2.** Moisture in the EXP02 (A) and EXP03 (B).

Conching time	EXP02		EXP03	
	Industrial 2	Laboratory 2	Industrial 3	Laboratory 3
0h	0.44 $\pm$ 0.09 <sup>a</sup>	0.31 $\pm$ 0.07 <sup>a</sup>	0.63 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>	0.20 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>
1h	0.37 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>	0.13 $\pm$ 0.09 <sup>a</sup>	0.39 $\pm$ 0.01 <sup>ab</sup>	0.22 $\pm$ 0.13 <sup>a</sup>
5h	0.17 $\pm$ 0.08 <sup>a</sup>	0.08 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>	0.11 $\pm$ 0.06 <sup>b</sup>	0.21 $\pm$ 0 <sup>a</sup>
6h	0.15 $\pm$ 0.07 <sup>a</sup>	0.08 $\pm$ 0.09 <sup>a</sup>	0.18 $\pm$ 0.03 <sup>b</sup>	0.07 $\pm$ 0.06 <sup>a</sup>
8.5h	0.25 $\pm$ 0.10 <sup>a</sup>	0.07 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>	0.23 $\pm$ 0.03 <sup>b</sup>	0.05 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>
11h	0.24 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>	0.04 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	0.25 $\pm$ 0.05 <sup>ab</sup>	0.20 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>
12h	0.25 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>	0.14 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup>	0.36 $\pm$ 0.15 <sup>ab</sup>	0.19 $\pm$ 0.06 <sup>a</sup>

Values followed in the same column by different letters differ significantly ( $P < 0.01$ ).

**Table 3.** Quality parameters EXP02 and EXP03

	Industrial 2	Laboratory 2	Industrial 3	Laboratory 3
Particle size ( $\mu\text{m}$ )	20	21	19	18
Viscosidade Cp	10000	10200	9000	11400

**Table 4.** Variation of the acidity in the EXP02 and EXP03

mL NaOH/g	Industrial 2	Laboratory 2	Industrial 3	Laboratory 3
0h	1.72 $\pm$ 0.08 <sup>a</sup>	2.03 $\pm$ 0.107 <sup>a</sup>	0.90 $\pm$ 0 <sup>a</sup>	0.98 $\pm$ 0.106 <sup>a</sup>
6h	1.50 $\pm$ 0.004 <sup>a</sup>	1.73 $\pm$ 0.106 <sup>b</sup>	0.75 $\pm$ 0 <sup>a</sup>	0.75 $\pm$ 0 <sup>b</sup>
12h	1.43 $\pm$ 0.107 <sup>a</sup>	1.43 $\pm$ 0.106 <sup>c</sup>	0.75 $\pm$ 0 <sup>a</sup>	0.68 $\pm$ 0.107 <sup>b</sup>

Values followed in the same column by different letters differ significantly ( $P < 0.01$ ).

**Table 5.** Variation of the polyphenols in the EXP02 and EXP03

$\mu\text{mol}$ pirocatechin/g samples degrease	Industrial 2	Laboratory 2	Industrial 3	Laboratory 3
0h	36.49 $\pm$ 1.997 <sup>a</sup>	39.97 $\pm$ 0.441 <sup>a</sup>	32.42 $\pm$ 3.145 <sup>a</sup>	37.18 $\pm$ 1.444 <sup>a</sup>
6h	33.04 $\pm$ 3.901 <sup>a</sup>	40.88 $\pm$ 0.438 <sup>a</sup>	29.98 $\pm$ 2.274 <sup>a</sup>	29.68 $\pm$ 0.169 <sup>b</sup>
12h	28.63 $\pm$ 1.215 <sup>a</sup>	37.52 $\pm$ 3.246 <sup>a</sup>	28.63 $\pm$ 1.215 <sup>a</sup>	30.67 $\pm$ 2.644 <sup>ab</sup>

Values followed in the same column by different letters differ significantly ( $P < 0.01$ ).

**Table 6.** Food composition EXP04

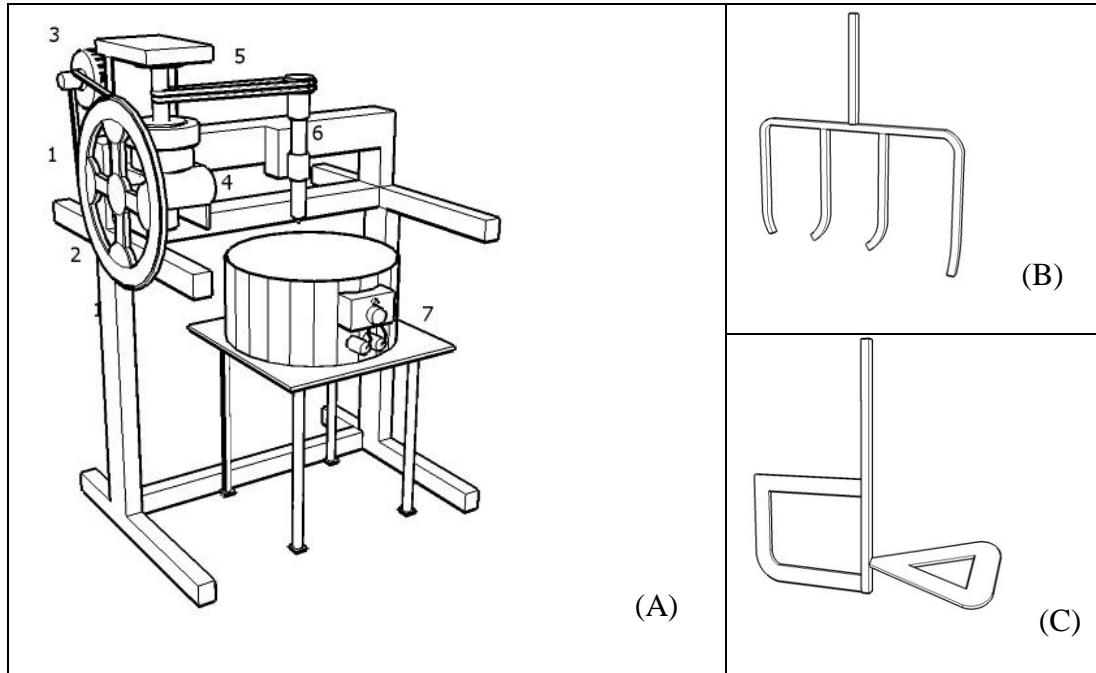
EXP 04	Industrial 4	Laboratory 4
Fat	27.95 $\pm$ 0.990 <sup>a</sup>	28.11 $\pm$ 0.134 <sup>a</sup>
Ashes	1.21 $\pm$ 0.042 <sup>a</sup>	1.20 $\pm$ 0.127 <sup>a</sup>
Protein	3.51 $\pm$ 0.039 <sup>a</sup>	3.65 $\pm$ 0.0151 <sup>a</sup>
Moisture	1.00 $\pm$ 0.050 <sup>a</sup>	0.97 $\pm$ 0.120 <sup>a</sup>
Carbohydrate	66.34 $\pm$ 0.130 <sup>a</sup>	66.08 $\pm$ 0.142 <sup>a</sup>

Values followed in the same line by different letters differ significantly ( $P < 0.01$ ).

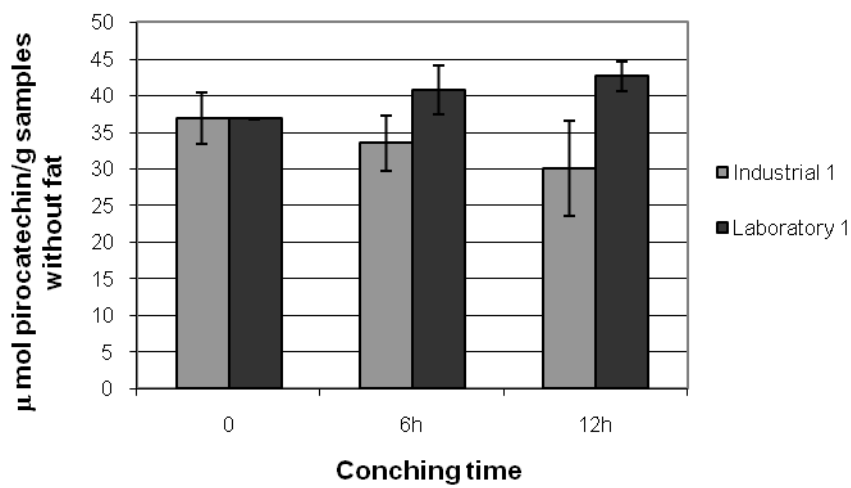
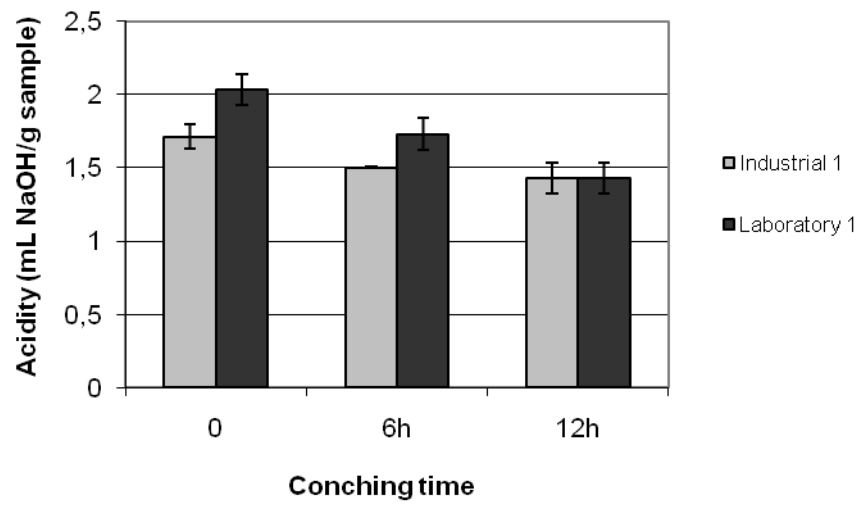
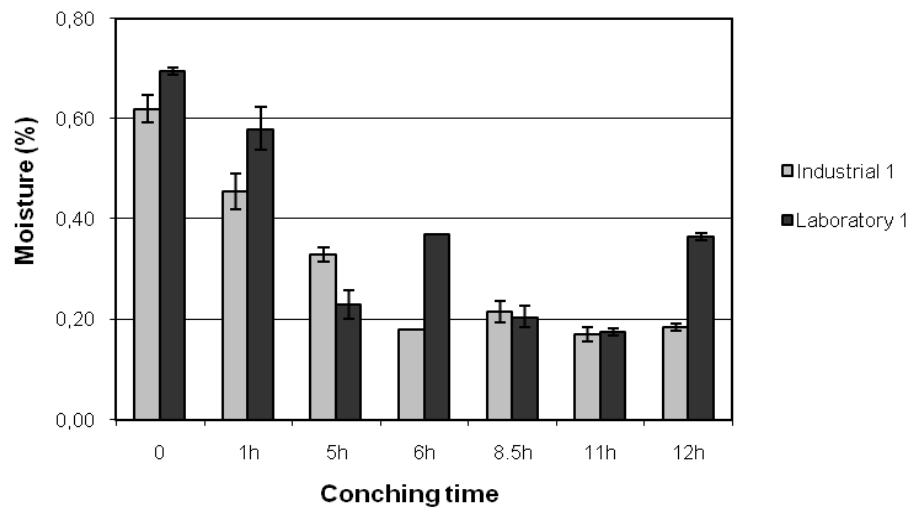
## FIGURE LEGENDS

**Fig. 1.** The laboratory scale conch project. (A) General scheme of the equipment showing seven principal parts: (1) leather strap A57, (2) pulley, (3) induction motor, (4) speed dropbox, (5) leather straps ZX785, (6) axle with mandril and (7) thermostatic bath. (B) yoke-type impeller (C) propeller-type impeller.

**Fig. 2.** Variation of the moisture (A), acidity (B) and polyphenol concentration (C) in the EXP01, comparing industrial (gray bars) and laboratory (black bars) scale processes. Data are means of duplicate assays.



Schumacher et al., Fig. 1



Schumacher et al., Fig. 2

Increase of the protein content in dark chocolate formulation with casein  
addition

Andrea Bordin Schumacher\*, Adriano Brandelli, Fernanda Carrion Macedo, Luiza Pieta,  
Tâmmila Venzke Klug, Erna Vogt de Jong

Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul  
(UFRGS), Av. Bento Gonçalves 9500, 91501-970 Porto Alegre, Brazil.

\* Corresponding author: fax: +5551 3308 7048; e-mail: [andrea.b.schumacher@hotmail.com](mailto:andrea.b.schumacher@hotmail.com)

**Abstract**

The beneficial proprieties of polyphenols in chocolates had been evidenced in the whole world in the same way the medicine and nutrition give attention to health problems caused by the unbalanced feeding. The objective of this work was to become dark chocolate a more nutritional and balanced food by increase the protein value. This was made by including casein in a standard formula. Two formulae were developed with different amounts of casein, 3.2% and 6.6%. The sample with more content of protein was analyzed sensorially. The protein content (semi-micro-Kjeldahl) in these new products was compared with commercial dark chocolate. Polyphenol amount was determined to verify the relationship with protein content. Data were submitted to variance analysis (ANOVA) and when there was significant difference among the averages, the Tukey's test was applied. The commercial samples showed more protein than the standard one and the samples with casein demonstrated much more protein than the others. All the studied commercial chocolates presented different amounts of protein, but only one showed a high amount of polyphenols. The products with casein had the lowest values of polyphenols, but the different amount of casein did not generate a significantly difference between these values. The casein addition has caused an extreme increase in the viscosity of chocolate mass. It was verified that the chocolate with addition of 6.6% of casein was approved by 64% of the sensory panel and the chocolate with more protein content showed an index of acceptance above 70%.

*Keywords:* Dark chocolate, casein, new food products, polyphenols, protein.



## 1. Introduction

The dark chocolate consumption has been stimulated due to natural antioxidants substances presence that can assist in the prevention of cardiovascular diseases (Keogh *et al.*, 2007). In accordance with Lee *et al.* (2003) the cocoa, essential ingredient in the elaboration of the chocolate, is a source with bigger antioxidant capacity when compared with teas and red wine.

Besides being rich in polyphenols, chocolate is a source of magnesium and other biologically active substances beneficial to humans, such as tocopherols (Nebesny *et al.*, 2007). Chocolate is a dispersion of sugar, cocoa and milk solids in a fat continuous phase, mainly cocoa butter (Do *et al.*, 2007). Chocolate has high percentages of fat and carbohydrates and a reduced amount of protein.

Korhonen and Pihlanto (2006) affirm that dietary proteins beyond to supply energy and essential amino acids, can contribute for improvements in the physicochemical and sensory properties of protein-rich foods. Particularly the milk proteins have nutritional, functional and biological activities being food ingredients capable to benefit the consumer's health (Korhonen and Pihlanto, 2006). These authors attribute many beneficial functions due to the presence of peptides which are activated during gastrointestinal digestion. Caseins have flexible structures, showing great capacity of binding with water and fat, and act as emulsifiers, which are important to stabilize systems of multiple phases (Beckett, 1994).

If a food development increases the general health benefits of the product and if it is an innovation, these can promote the acceptance of the new product (Lampila and Lahteenmaki, 2007). This work has the intention to develop a dark chocolate that presents a higher percentage of protein becoming a more complete food of the nutritional point. Casein was used in the elaboration of this chocolate to generate increase of the protein ratio in this new product being substituted of whey powder used in the standard formula.

## **2. Materials and methods**

### *2.1. Formulae development*

Two formulae of dark chocolate were developed with different percentage of casein (Synth, Diadema, Brazil). The casein was added to the product in the proportions: 3.2% (P1) and 6.6% (P2). The new products were developed replacing the whey powder in a standard formula (P<sub>0</sub>) that contains sugar, cocoa liquor, cocoa butter, whey powder, soybean lecithin, polyglycerol polyricinoleate (PGPR) and flavor.

### *2.2. Chocolate process*

The initial mixture of ingredients was made manually with fast heating in microwave oven. After that, the refine process was made in the industrial refine machine (Buhler, Uzwil, Switzerland) with only 5 kg of mass. The laboratory scale conch (LSC) used was developed for the same authors of this work using equipment and parts of other machines with capacity of 1.2 kg. Conching was composed by 3 phases: (1) dry phase, (2) pasty phase and (3) liquid phase. The mass was maintained at  $70 \pm 10^{\circ}\text{C}$  during 10 hours (end of pasty phase) after that the temperature was changed to  $50 \pm 10^{\circ}\text{C}$  until the final phase. The mass was tempered manually in a cold surface and after it was distributed in forms and crystallized in a refrigerator.

Size distribution of chocolate particles was determined using a micrometer (Mitutoyo, Tokio, Japan). The viscosity of the chocolate mass ( $40 \pm 0.1^{\circ}\text{C}$ ) was measured in a rotational viscosimeter (Brookfield Engineering Laboratories Inc., Stoughton, USA) with spindle 4 and rotation 4.

### 2.3. *Composition analysis*

The analysis were carried out in duplicate, and the values were averaged. Protein concentration was determined by semi micro-Kjeldahl method (AACC, 2000) and nitrogen to protein conversion factor of 5.75 was used. The quantity of fat, fiber and ashes were measured following standard procedures (AOAC, 1990). Moisture content of each sample was determined by vacuum drying RVT 220 (Heraeus, Hanau, Germany) at 70°C and 50 mmHg, (Kim *et al.*, 1999; Bolenz *et al.*, 2005) until constant weight at least 7 hours. Total carbohydrates were determined by difference between 100% and the total of the other components (proteins, lipids, ashes, fiber and moisture).

### 2.4. *Comparison with commercial chocolates*

Three commercial marks of dark chocolate used in this investigation were obtained at a local supermarket (Porto Alegre, Brazil) and were analyzed for protein and polyphenols content. They were codified: MA, MB and MC. All the chocolates analyzed in this work, called in Brazil “semi-dark”, because have not higher content of cocoa liquor when compared to darks one, but the amount of cocoa solids is higher when compared to milk chocolate. The ingredients listed in the packing of the chocolates samples are: (MA) sugar, cocoa mass, vegetable fat, cocoa butter, whole milk powder, soybean lecithin, PGPR and flavor; (MB) sugar, cocoa, vegetable fat, cocoa butter, whole milk powder, soybean lecithin, PGPR and flavouring; (MC) sugar, cocoa mass, vegetable fat, cocoa butter, whole milk powder, soybean lecithin, PGPR and flavor.

### 2.5. *Determination of polyphenol concentration*

The method described for Vinson *et al.* (1998) with minor modifications was used for preparation of samples and the analysis was carried out in triplicates. The samples were

weighed (100 mg), grinded and defatted by three sequential extractions with hexane. Samples were dried and 50 mg were mixed with 5 ml of 1.2 mol l<sup>-1</sup> HCl in 50% (v/v) methanol and heated for 2h at 90°C. Samples were mixed every 30 min.

An aliquot (100 µl) of chocolate extract was reacted with 1 ml of Folin Ciocalteu's reagent diluted 1:9 (v/v) with distilled water (Vinson *et al.*, 2001). After 20 minutes the color was measured at 750 nm using a Shimadzu UV mini1240 spectrophotometer (Shimadzu, Tokyo, Japan). A standard curve was prepared with 1000 µM stock solution of pirocatechin (Vetec, Rio de Janeiro, Brazil).

## 2.6. Sensory analysis

Twenty five non-trained panelists, students of the Food Engineering course of Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) valued the chocolate sample with more protein content, using a 9 points hedonic scale. One end corresponded to the qualification “dislike extremely,” the center to “neither like nor dislike” and the opposite end to “like extremely”. The Index of Acceptance (IA) was calculated using the following equation (Meilgaard *et al.*, 1989):

$$IA = M \times 100 / 9 \quad \text{Eq. (1)}$$

where M indicates the average of the evaluations carried through by the sensory panel.

After this analysis the panelists were submitted to another form with two nutritional tables: (A) the product contained 1g of protein in 25g of chocolate and showed whey powder in the list of ingredients, (B) the product contained 2,1g of protein in 25g of chocolate and showed casein in the list of ingredients. The question in the end of the form was about which sample they would buy in supermarket and why.

### 2.7. Statistical analysis

Statistical significance between the samples was performed using one-way-ANOVA and comparisons between means were performed by Tukey's test. Results were considered different at the level of 99 % significance ( $P < 0.01$ ).

## 3. Results and discussion

Product 1 (P1) and Product 2 (P2) were developed with the objective of to become the chocolate into a more nutritional food by increasing the protein content. Initially, P1 formula was produced. Sokmen and Gunes (2006) reported that acceptance of particle sizes above 22 $\mu\text{m}$  were less than 20%, because above 35 $\mu\text{m}$  the chocolate becomes gritty in the mouth. At P1 the particle size was 90 $\mu\text{m}$ . This problem may be caused by two reasons: (1) the small amount of mass placed in the industrial refine machine bringing problems of equipment regulation or (2) bad distribution of the fat in the previous phase to refining process. Although an excessively particle size was observed, the test was continued. The conching process was conducted normally, but at the liquid phase the texture of the mass was more viscous than the standard chocolate usually produced in the LSC. Schantz and Rohm (2005) found that emulsifier ratios of 1:1 (lecithin: PGPR) had more reduced viscosity in dark chocolate. In P1 formula the ratio initially used was 3.3:1, in accordance with P<sub>0</sub> formula, but more PGPR was added until the ratio 1.8:1. The increase in the percentage of PGPR has the main function to act in the draining limit also assisting in the reduction of viscosity (Manzo, 2006). The measured value of viscosity was 15000 Cp. The usually viscosity average of P<sub>0</sub> formulae in the LSC was 10800  $\pm$  848.5 Cp.

The P2 formula was developed and after refining process the measured value of particle size was 28 $\mu$ . Maximum values between 15 and 35 micrometers are required to guarantee good texture, flavor and fluidity of the chocolate (Beckett, 1994). In the

laboratorial conch process the highest viscose texture increased the problems in the mixture of P2 mass. At the end of conching it was not possible to measure viscosity, although proceeding the same increase in the PGPR ratio as in P1, therefore the value was greater than the limits of viscosimeter. After this, the product was tempered, molded and analyzed.

Thus different particle size could generate very different viscosities (Sokmen and Gunes, 2006), that may have resulted in P1 and P2. Therefore, the lesser would be the particle size, the bigger will be the viscosity (Do *et al.*, 2007). But this would be a relevant but modest reason considering the increase of 106% more casein in P2 when compared with P1 and the unmeasured value of viscosity. The usually particle size of the products tested in the LSC of P0 formula was around 20 $\mu$ m.

Devi *et al.* (2007) added caseinophosphopeptides in milk chocolate and verified an increase in hardness and cohesiveness when compared with a control. Beckett (1994) affirms that the casein is considered stable; temperatures above of 75°C could induce Maillard reactions in chocolates with milkproteins.

The protein denaturation followed of Maillard reactions can cause agglomeration effects in the conching process and these processes have not yet been completely examined (Nováková *et al.*, 2002). Chocolate was an excellent candidate for the Maillard reaction, due to its good concentration of reducing sugars and amino acids and during this process the action of temperature, time, pH, water activity of the system were relevant (Patzold and Brucker, 2006). Nováková *et al.* (2002) reported analysis of isolated agglomerates in chocolate showing that they contained a slightly lower amount of lactose and a slightly higher amount of protein, what is important because are formed very hard structure of sugars crystals and soft structure of milkprotein. These agglomerates probably increase the viscosity which is a quality parameter in chocolate production because in accordance with Do *et al.* (2007) the increase leads to difficulties in tempering, molding and others operations. If this

problem was caused by the higher temperature in the conch maybe has another possibility to conch since Beckett (1994) wrote about “cold conching” the dark chocolate mass can remain at 45 - 55°C.

In the other hand, Strecker reactions suggest that during the conching the formation of free amino acids occurs. Free amino acids together with reducing sugars by means of the Maillard reactions are the precursors of the waited flavor developed during the heating process (Beckett, 1994). The question maybe is the biggest amount of available protein in P2.

The Maillard reaction can be beneficial too, because is possible to synthesize fructose-tryptophan, which has an antioxidant function as showed in others studies to be a potent inhibitor of lipid oxidation (Friedman, 1996). The chocolate is a food rich in fat and presents the problem of lipid oxidation, which emphasizes study of the relation between more protein, products of Maillard reaction and antioxidant potential.

When the protein content of commercial samples and P<sub>0</sub>, P<sub>1</sub> and P<sub>2</sub> were measured and compared, the results showed a significant difference in relations to all products, as is demonstrated in the Fig. 1. The chocolate quality depends on the added ingredients (Beckett, 1994). MA, MB and MC showed more protein content when compared with P<sub>0</sub>, what is possible because they have whole milk powder while P<sub>0</sub> has whey powder. Padovani *et al.* (2007) compared data of food composition tables (US and Brazil) of 19 foods; whole dry milk presented 25.42% of protein in Brazilian tables and 26.32% in USDA tables. Ji *et al.* (2003) found 15.11% of protein in whey powder (ultrafiltered, spray-dried and without lactose separation) and related other authors that describe whey powder with 16–24% of protein.

Polyphenols, for oxidation and enzymatic mechanisms, form complexes with amino acids, peptides and proteins (Beckett, 1994). Keogh *et al.* (2007) had studied works that describe that the milk addition in the polyphenols rich drinks reduces the antioxidant action.

On the other hand other works describe no effects in this activity in tea, coffee, or cocoa beverages. The authors had described that this can occur therefore some proteins to bind phenolic polymers.

The polyphenols content of the samples are in the Fig. 2. Among the samples that possess milk in the ingredients list, the highest amount of polyphenols was found in sample MC wich presented minor amount of protein. This can indicate three possibilities: (1) formula has more cocoa liquor, (2) the used liquor has greater amount of polyphenols, (3) the more protein is in formula bigger the possibility of binding polyphenols become bigger. When the amount of these antioxidants in the P<sub>0</sub>, P<sub>1</sub> and P<sub>2</sub> was compared, it was perceived that the addition of casein in the product can reduce antioxidant concentration. The amount of casein added was not important to this value, therefore P<sub>1</sub> and P<sub>2</sub> did not differ significantly (Graph 2). That is not so simple, the cocoa blends used in the industry can cause serious variations in the flavor composites of chocolates (Beckett, 1994) and this can also be to polyphenols content.

P<sub>2</sub> samples were submitted to sensory analysis. This study evaluated if the sensory panelists had liked the chocolate with more protein, showing that 64% of them would buy this new chocolate. The formula showed an index of acceptance of 71% and a mean average  $6.4 \pm 1.9$ . Seven panelists described differences when compared P<sub>2</sub> with their expectation to the commercial chocolates: residual and different flavor, soft liquor flavor, porous texture, did not melt in the mouth. When the panelists received the nutritional tables 92% of them would buy the chocolate with more protein.

In the Table 1 the increase of protein (P<sub>2</sub>) did not cause a significant difference in fat, moisture, ashes and carbohydrate content when P<sub>2</sub> was compared to P<sub>0</sub>, although an increase of 113% has occurred in the protein value. About the fat, is relevant to describe that the cocoa butter reduction in chocolate mass increased the viscosity (Do *et al.*, 2007). P<sub>2</sub> mass showed



an extreme viscosity value, of course that was not caused by the reduction (without significant difference) of the amount of fat, but it may have some contribution.

#### **4. Conclusion**

In this work was possible to turn dark chocolate in to a more nutritional food adding casein in a standard formula, but to produce it in the industry it is necessary to improve the viscosity of the mass. That is possible by the addition of more PGPR or by changing the ratio of emulsifiers. In the conching process is probable that the temperature could not exceed 75°C, to prevent the intense denaturation of protein and posterior agglomerations of composites.

With 6.6% of casein addition was obtained 8.22% of protein in chocolate. The addition of two different amounts of casein did not show alterations in the polyphenols contents. The analyzed commercial marks demonstrated significant variation in protein content, but only one presented high amount of polyphenols.

#### **Acknowledgements**

Authors thank the financial support received from Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES, Brazil) and Florestal Alimentos S/A that supplied the chocolate used in this study.

## References

- AACC (2000). Crude protein -micro Kjeldhal method (46-13). Approved Methods of the AACC, 10<sup>th</sup> ed. American Association of Cereal Chemists, Washington.
- AOAC (1990). Fat in cacao products: Soxlet extraction method (963.15). Official Methods of Analysis, 15<sup>th</sup> ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington.
- Beckett, S.T. (1994). Fabricación y Utilización Industrial del Chocolate. Editorial Acribia, Zaragoza.
- Bolenz, S., Amtsberg, K., & Lipp, E. (2005). New concept for fast continuous conching of milk chocolate. *European Food Research and Technology*, 220, 47-54.
- Devi, S.K., Hiremath, J.P., & Bhat, G.S. (2007). Influence of caseinophosphopeptides on sensory and textural characteristics of confections. *Journal of Food Science and Technology–Mysore*, 44, 615-618.
- Do T-A.L., Hargreaves, J.M., Wolf, B., Hort, J., & Mitchell, J.R. (2007). Impact of particle size distribution on rheological and textural properties of chocolate models with reduced fat content. *Journal of Food Science*, 72, E541-E552.
- Friedman, M. (1996). Food browning and its prevention: An overview. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44, 631 -652.
- Ji, T., & Haque, Z.U. (2003). Cheddar whey processing and source: I. Effect on composition and functional properties of whey protein concentrates. *International Journal of Food Science and Technology*, 38, 453–461.
- Keogh, J.B., McInerney, J., & Clifton, P.M. (2007). The effect of milk protein on the bioavailability of cocoa polyphenols. *Journal of Food Science*, 72, 230-233.
- Manzo, D. (2006). Admul Wol 1408 and Admul Wol 1403 and PGPR competitors performance evaluation on compounds and chocolate bases, 2<sup>nd</sup> ed. Kerry do Brasil, Campinas.
- Kim, S.S., Kim, S.Y., Kim, D.W., Shin, S.G., & Chang, K.S. (1999). Moisture sorption characteristics of composite foods filled with chocolate. *Journal of Food Science*, 64, 300-302.
- Korhonen, H., & Pihlanto, A. (2006). Review - Bioactive peptides: production and functionality. *International Dairy Journal*, 16, 945-960.

- Lampila, P., & Lahteenmaki, L. (2007). Consumers' attitudes towards high pressure freezing of food. *British Food Journal*, *109*, 838-851.
- Lee, K.W., Kim, Y.J., Lee, H.J., & Lee, C.Y. (2003). Cocoa has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *51*, 7292-7295.
- Meilegaard, M., Civille, G.V., & Carr, B.T. (1989). *Sensory Evaluation Techniques*. CRC Press, Boca Raton.
- Nebesny, E., Zyzelewicz, D., Motyl, I., & Libudzisz Z. (2007). Dark chocolates supplemented with *Lactobacillus* strains. *European Food Research Technology*, *225*, 33-42.
- Novakova, H., Copikova, J., Maixner, J., & Maryska, M. (2002). The production of clusters in milk chocolate. *International Journal of Food Science and Technology*, *37*, 485-495.
- Padovani, R.M., Lima, D.M, Colugnati, F.A.B., & Rodriguez-Amaya, D.B. (2007). Comparison of proximate, mineral and vitamin composition of common Brazilian and US foods. *Journal of Food Composition and Analysis*, *20*, 733-738.
- Patzold, R., & Bruckner, H. (2006). Gas chromatographic determination and mechanism of formation of D-amino acids occurring in fermented and roasted cocoa beans, cocoa powder, chocolate and cocoa shell. *Amino Acids*, *31*, 63-72.
- Schantz, B., & Rohm, H. (2005). Influence of lecithin-PGPR blends on the rheological properties of chocolate. *LWT-Food Science and Technology*, *38*, 41-45.
- Sokmen, A., & Gunes, G. (2006). Influence of some bulk sweeteners on rheological properties of chocolate. *LWT-Food Science and Technology*, *39*, 1053-1058.
- Vinson, J.A., Hao, Y., Su, X., & Zubik, L. (1998). Phenol antioxidant quantity and quality in foods: vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *46*, 3630-3634.
- Vinson, J. A., Proch, J., & Bose, P. (2001). Determination of quantity of polyphenol antioxidants in foods and beverages. *Methods in Enzymology*. *335*, 103-114.

**Table 1.** Food composition of products P0 and P2.

%	P0	P2
Fat	27.95 ± 0.10 <sup>a</sup>	24.39 ± 0.19 <sup>a</sup>
Moisture	1,0 ± 0,01 <sup>a</sup>	0.84 ± 0.05 <sup>a</sup>
Ash	1.2 ± 0.13 <sup>a</sup>	0.89 ± 0.04 <sup>a</sup>
Carbohydrate	66.01 ± 0.11 <sup>a</sup>	65.65 ± 0.21 <sup>a</sup>

Values followed by different letters in the same line differ significantly at  $P < 0.01$ .

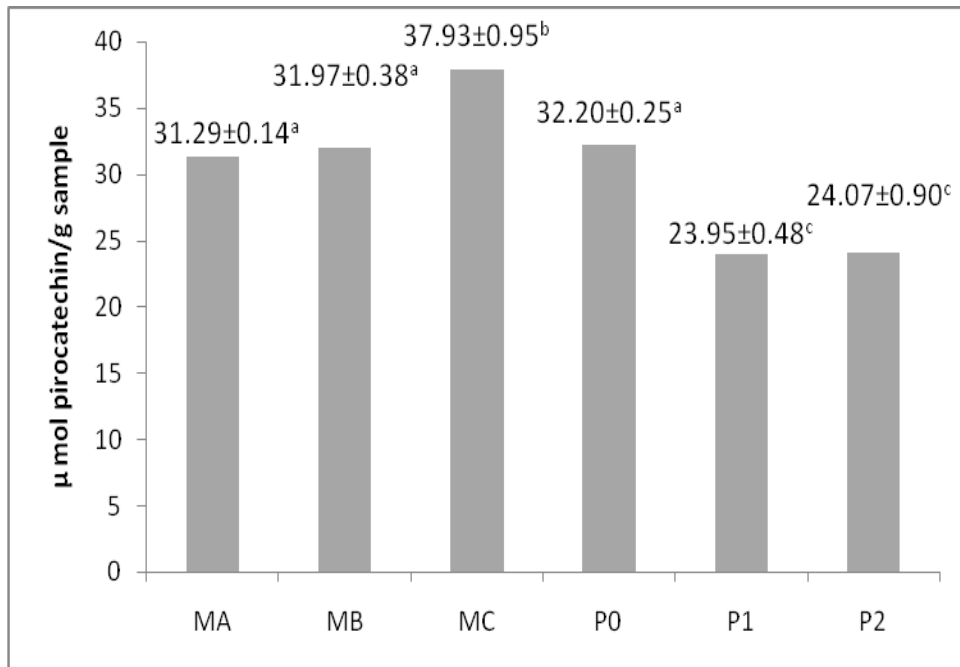
**Figure legends**

**Fig. 1.** Amount of protein in the analyzed chocolates. Values followed by different letters differ significantly ( $P<0.01$ ).

**Fig. 2.** Polyphenols concentration in the analyzed chocolates. Values followed by different letters differ significantly ( $P<0.01$ ).



Schumacher et al., Fig. 1



Schumacher et al., Fig. 2

### 3 DISCUSSÃO GERAL

O foco deste trabalho foi tornar o chocolate meio amargo com 40% de cacau um produto com maior percentual de proteína avaliando a manutenção da quantidade de polifenóis. De acordo com Afoakwa *et al.* (2007) o chocolate amargo possui 5% de proteína enquanto os chocolates ao leite e branco possuem 7,7% e 8%, respectivamente. Verifica-se que o chocolate amargo pode apresentar 35% menos proteína do que os outros chocolates. O chocolate branco, apesar do alto teor de proteína, possui menos polifenóis, pois a maior quantidade destes antioxidantes encontra-se no liquor de cacau presente nos chocolates escuros e isto diferencia inclusive a vida de prateleiras dos produtos (AFOAKWA *et al.*, 2007). Pimentel (2007) comprovou esta afirmação, pois encontrou valores significativamente maiores no teor de polifenóis e flavonóides do chocolate meio amargo (40% de liquor) quando comparado aos chocolates ao leite e branco.

Nos mercados podem-se encontrar tabletes de chocolates puros ou chocolates com adição de cereais, biscoito ou frutas secas (BECKETT, 1994). Neste trabalho o aumento de proteína foi realizado por adição dos grãos tostados de quinoa, sendo colocada após a finalização do processo industrial, e por adição de caseína como parte da formulação do chocolate, passando por todas as etapas do processamento.

A quinoa, adquirida em um supermercado em Porto Alegre, foi tostada para reduzir a umidade que poderia migrar para superfície do produto gerando os efeitos de “*sugar bloom*” e “*fat bloom*”. O produto tostado apresentou apenas 10,48% de proteína, mas León e Rosell (2007) relataram intervalos de 7,47 a 22,08% de proteína nos grãos de quinoa.

Os produtos obtidos aumentaram o conteúdo protéico atingindo máximo de 36,78% quando 20% de quinoa foram adicionados ao chocolate (Tabela 1 – Artigo 2.1). Chillo *et al.* (2008) obtiveram 27,8% de aumento no percentual protéico quando adicionaram 10,7% de quinoa em uma formulação de massa tipo espaguete, quando comparada a uma massa somente com semolina. Confirmando que este grão tem potencial para melhorar a qualidade nutricional de outros alimentos.

A quantidade e a qualidade da proteína da quinoa provocaram aumentos equilibrados e significativos na quantidade de aminoácidos essenciais do produto desenvolvido (20% quinoa) (Tabela 2 – Artigo 2.1). O chocolate utilizado nestes testes, embora contendo apenas 3,48% de proteína, apresentou, assim como a quinoa, bom balanço de aminoácidos essenciais (Tabela 3 – Artigo 2.1) que pode ser comparado aos percentuais relativos à necessidade diária humana.

Ao avaliar a quantidade de polifenóis, somente o chocolate com 12% de quinoa apresentou valor similar ao da amostra padrão, as adições de 16% e 20% reduziram com



significância estatística o conteúdo de polifenóis. Uma possibilidade de avaliação seria entender que o potencial antioxidante da quinoa poderia estar mais relacionado à presença de vitamina E do que especificamente em relação ao conteúdo de compostos fenólicos. Porém, os resultados da quantificação de vitamina E não demonstraram diferença estatisticamente significativa entre o chocolate puro e o chocolate com 20% de quinoa. O chocolate sem adição estudado neste experimento demonstrou a complexidade da sua composição por apresentar 3,12 mg de vitamina E em 100g de produto.

Nsimba *et al.* (2008) estudaram duas variedades de quinoa e relataram existir apenas fraca correlação entre a concentração dos compostos fenólicos e o potencial antioxidante, podendo supor que compostos antioxidantes principais em sementes estudadas podiam ser não fenólicos. Os autores relataram que além dos tocoferóis, componentes como ácido ascórbico, ácido fitico, esteróis, carotenóides, saponinas podem ser os contribuintes mais prováveis à atividade antioxidante das amostras de quinoa estudadas por eles.

A análise sensorial indicou aceitação do chocolate com quinoa para todas as proporções estudadas inclusive com aprovação de 92% dos degustadores para a combinação dos dois ingredientes (Tabela 5 – Artigo 2.1).

O grande desafio da elaboração do chocolate com caseína foi estabelecer o processo de manufatura tendo em vista que a conchagem não pode ser realizada manualmente nem em pequenas quantidades em escala industrial. Existem equipamentos capazes de realizar a conchagem em pequenas quantidades, porém o alto custo deste tipo de máquinas inviabilizou esta possibilidade. A proposta foi montar um equipamento baseado nos princípios básicos da conchagem: homogeneização e aquecimento, a partir de peças de máquinas e equipamentos que não estavam mais sendo utilizados. Considerou-se a possibilidade de um equipamento de baixa complexidade e com apenas um eixo pudesse realizar esta etapa determinante do processo.

Para isto foi utilizado um motor de indução, ligado a uma roldana com diâmetro grande o suficiente para que fosse possível aproximar-se da velocidade de rotação da concha industrial, 20 rpm. A roldana foi ligada ao motor por uma correia, e conectada diretamente a uma caixa de redução de velocidade. Entre o eixo da caixa de redução e o eixo de um fixador de furação, foram colocadas duas correias. O suporte de furação possui um mandril onde podem ser encaixadas as pás elaboradas em ferro para este trabalho. A pá tipo hélice foi criada buscando semelhança com as pás idênticas dos dois eixos da concha rotatória industrial. Inicialmente considerou-se que somente esta pá seria suficiente para correta homogeneização da massa. Nos primeiros testes percebeu-se que com um eixo só, a concha piloto teria problemas diante da elevada viscosidade da massa nas fases seca e pastosa. Foi preciso desenvolver uma pá com menor contato da massa, mas que garantisse

a mistura. Neste contexto a pá tipo garfo foi construída. Um esquema de toda a máquina e das pás pode ser visto na Figura 1- Artigo 2.2. Na figura 4 apresenta-se uma foto da concha piloto desenvolvida neste trabalho.



Figura 4: Foto da concha piloto

O aquecimento foi provido pela utilização de um banho-maria utilizando óleo de soja, no lugar da água, de forma a evitar que a redução de umidade obtida na conchagem não fosse prejudicada por desprendimento de vapor de água. O banho-maria, um equipamento simples utilizado para derretimento caseiro de chocolates, foi adaptado em baixo do mexedor previamente descrito, e apresentou grandes variações de temperatura (20°C) dificultando a padronização do procedimento de aquecimento da concha piloto. Assim, impondo riscos de aquecimento variável em que baixas temperaturas poderiam não gerar desprendimento de umidade e de ácidos, e altas temperaturas poderiam queimar ou prejudicar o sabor do produto.

Muitas expectativas ocorrem em relação à conchagem: redução de umidade e acidez, desenvolvimento de sabor e possibilidade de redução de polifenóis. Durante o desenvolvimento do trabalho experimental observou-se que nem sempre ocorreu redução significativa da umidade após a 6ª hora de conchagem tanto na escala industrial quanto no piloto (Tabela 3 – Artigo 2.2). Quando a redução significativa da umidade ocorreu (Industrial 3), esta não foi mantida até o final do processo, isto é, em equilíbrio com a umidade do ar e a uma temperatura mais baixa a umidade da massa aumentou a valores estatisticamente iguais ao encontrado até a 6ª hora. Como a acidez também não apresentou redução significativa ao longo do processo industrial, estes fatos pode significar que, se não alterar o sabor e a textura, o tempo de conchagem poderá ser diminuído.

Cabe lembrar que ao longo da conchagem são realizadas adições de manteiga de cacau ao produto para completar a formulação e a sensível variação de umidade e acidez

pode indicar apenas diluição de massa. A redução do tempo pode significar, para o processo industrial, que as fases seca e pastosa podem ocorrer nas 6 primeiras horas e na 7ª hora a finalização da fase líquida, assim reduzindo assim em 5 horas esta longa etapa, significando economia de 41,7% no tempo desta operação unitária.

Em relação à validação do equipamento piloto não houve diferença estatística entre os valores finais de umidade e acidez para os experimentos (EXP02 e EXP03), estes valores podem ser vistos nas Tabelas 5 e 6 - Artigo 2.2, respectivamente.

A análise de polifenóis ao longo da conchagem demonstrou que ocorreu redução destes antioxidantes, mas sem significância estatística (Tabela 6 – Artigo 2.2). Engler e Engler (2004) relatam perdas de 25 a 50% do total de flavonóides (uma das principais classes de polifenóis) durante o processamento. Ressalta-se a diferença entre os valores iniciais de polifenóis do processo piloto e industrial, pois ambos partiram do mesmo produto refinado, que foi coletado gradualmente durante o refino para formar a amostra posteriormente direcionada ao teste em escala piloto. Três hipóteses podem ser levantadas: (1) inadequada mistura inicial previa ao refino, (2) coleta mal distribuída para o produto da concha piloto e (3) refinado exposto ao ambiente industrial mais quente aguardando processamento, pois nos dois experimentos de validação os menores valores encontrados foram para o processo industrial.

Mesmo que a concha piloto tenha demonstrado ser adequada em relação às análises físico-químicas realizadas, ocorreram problemas com desenvolvimento do sabor e 64% dos degustadores preferiram a amostra industrial em um teste triangular. Desde a elaboração da máquina, a grande variação de temperatura do termostato foi motivo de preocupação, devido à intensa expectativa de desenvolvimento de sabor na operação de conchagem. Pelas descrições dos degustadores, a caramelização do açúcar causada pelas altas temperaturas, foi o possível fator de diferenciação do produto. Acredita-se que a substituição por um termostato regulado possa ser definitiva para elaboração de um produto similar ao industrial. Da forma como está a máquina poderá ser usada para testes que não envolvam diretamente avaliação de sabor.

Schmitz (2007) utilizou a concha piloto, elaborada neste trabalho, para otimizar a proporção de emulsificantes, lecitina e PGPR, nas massas de chocolate meio amargo e branco produzidas na Florestal Alimentos S/A – Divisão Chocolates Neugebauer. O autor concluiu que, reduzindo o percentual relativo de lecitina e aumentando o de PGPR, poderia obter maior atuação dos emulsificantes na redução da viscosidade, confirmando os resultados referenciados por Schantz e Rohm (2005). Este autor propôs redução de 15% do total de emulsificantes utilizados, modificando a proporção entre eles. Como resultado eles obtiveram relevante benefício nas propostas de diminuição de custos e melhoria de processo.

A adição de caseína na formulação melhorou significativamente o conteúdo de proteína nas amostras (Gráfico 1 – Artigo 2.3). A fórmula com 3,2% de caseína (P1) apresentou aumento de proteína, mas considerado ainda baixo em relação às marcas analisadas. O produto obteve viscosidade mensurável e próxima aos valores usuais de processo após a adição de maior quantidade de PGPR do que a utilizada na formulação padrão. Embora a formulação com 6,6% de caseína (P2) tenha atingido 8,22% de proteína, a viscosidade ultrapassou os limites de medida do viscosímetro, mesmo após adição da mesma quantidade de PGPR utilizada em P1. Provavelmente a alta granulometria (90 $\mu$ m) de P1 tenha influenciando na viscosidade, não prevendo claramente os problemas que poderiam ocorrer com a adição aumentada de caseína.

Quanto maior a granulometria menor a área de superfície a ser recoberta por gordura, logo menor a viscosidade produzida. Por outro lado quanto mais finas as partículas, maiores as superfícies para a mesma quantidade de manteiga de cacau, conseqüentemente maior a viscosidade. A granulometria e a composição influenciam nas propriedades reológicas, mas seus efeitos na textura e aparência não foram plenamente esclarecidos e causam grandes impactos nos melhoramentos de processo e no desenvolvimento de novos produtos na indústria de chocolates (AFOAKWA *et al.*, 2008).

Acredita-se que a granulometria da amostra P1 tenha somente disfarçado o efeito de formação de aglomerados explicado por Nováková *et al.* (2002). Os autores relatam que a desnaturação de proteínas seguida das reações de Maillard pode causar aglomerados no processo de conchagem, mas que estes efeitos ainda não estão bem estabelecidos. O chocolate é um forte candidato à reação de Maillard, pois apresenta açúcares redutores, aminoácidos e ação de temperatura, tempo, pH, atividade de água (PATZOLD; BRUCKNER, 2006).

A amostra P2 apresentou menor quantidade de gordura quando comparada a formulação padrão (P0), embora sem significância estatística (Tabela 1 – Artigo 2.3). Reduzir a quantidade de gordura causa aumento significativo na viscosidade do chocolate, dificultando o processo de produção e ainda, exibindo propriedades sensoriais pobres como dureza, demora no derretimento da boca e dificuldades em engolir (DO *et al.*, 2007). Assim, acredita-se que a granulometria alta de P1 não previu claramente o aumento de viscosidade por adição de caseína e que a menor quantidade de gordura de P2 comprada a P0 tenha contribuído para o aumento da viscosidade.

Para produzir um chocolate meio amargo com relevante aumento de proteína fez-se um estudo comparativo com outras 3 marcas (MA, MB e MC) e P0 disponíveis nos mercados locais. Verificou-se que as marcas elaboradas com leite em pó apresentaram maior quantidade de proteína quando comparadas às formulações com soro de leite na composição (Gráfico 1 – Artigo 2.3). De acordo com Richter e Lannes (2007) o leite em pó

além de melhorar o valor nutritivo de alimentos contribui para redução da umidade e aumento da vida útil do produto.

A quantidade de polifenóis mostrou-se similar às marcas compradas no mercado, exceto para uma delas, a que apresentava menor quantidade de proteína, indicando a possível relação entre proteína e conteúdo de polifenóis, como descrito por Keogh *et al.* (2007). As amostras de chocolate elaboradas com caseína apresentaram menor conteúdo de polifenóis, mas o diferente percentual usado não interferiu no conteúdo destes compostos (Gráfico 2 – Artigo 2.3).

Foi demonstrado, através de testes de análise sensorial, que 64% dos degustadores comprariam a amostra com mais caseína, com índice de aceitabilidade maior do que 70%, indicado a aprovação do novo produto. Os degustadores também mostraram interesse em relação a um chocolate com maior quantidade de proteína quando avaliaram as tabelas de composição centesimal das amostras. Lampila e Lahteenmaki (2007) afirmam que boas características sensoriais e qualidade nutritiva podem ser conseguidas por tecnologias novas e assim fornecer benefícios aos consumidores. Aceitação do produto (P2) e da inovação a ele atribuída mostra aspectos vantajosos de produção deste alimento.

Existe no mercado grande variedade de alimentos complexos compostos por ingredientes nutritivos e não nutritivos (WOLGAST; ANKLAN, 2000). Neste trabalho o chocolate meio amargo, doce em crescente consumo, apresentou-se como um alimento descrito por autores como de boa digestibilidade, rico em nutrientes essenciais ao organismo, e, conforme demonstrado neste trabalho, com bom perfil de aminoácidos, relevante quantidade de vitamina E e como provedor de aporte de polifenóis ao organismo. Verificou-se que é viável aumentar o conteúdo de proteínas do chocolate amargo quer por adição de quinoa ou caseína. Em relação à quinoa, maiores estudos devem ser feitos para averiguar quais são os fitoquímicos responsáveis pela atividade antioxidante e determinar a quantidade e atividade destes isoladamente e em combinação com o chocolate para garantir que a adição do pseudocereal tornaria o chocolate um alimento com potencial ainda mais nutritivo. Em relação ao chocolate com caseína deve-se melhorar a compreensão sobre a formação de aglomerados, proporção de gordura e outras reações que possibilitem o aumento da viscosidade, para que conhecendo e controlando estes parâmetros seja possível desenvolver o produto em escala industrial.

## 4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este trabalho indicou a possibilidade de equilibrar nutricionalmente um alimento, que apresenta grande aceitação junto a consumidor de todas as idades, mas teve o cuidado de não estimular o consumo exagerado de chocolate, pois segundo Gomes *et al.* (2007), o balanço calórico positivo é a principal causa de obesidade em indivíduos saudáveis, causando predisposição a doenças cardiovasculares e ao aparecimento de diabetes do tipo 2.

Atingir o aumento do percentual protéico pela adição de quinoa e caseína em laboratório juntamente com a aceitação destes produtos em análise sensorial indica a possibilidade de implementação destes produtos em linha industrial. Para isto, estudos específicos dos parâmetros de processo como: viscosidade, percentuais de adição, tempo e temperatura de processamento, deverão ser mais detalhados.

Perspectivas de que o tempo de conchagem possa ser reduzido se forem estudados os parâmetros de aquecimento seguidos de análises: bromatológicas, sensoriais e de vida de prateleira, torna-se um ponto relevante deste projeto. A concha piloto desenvolvida é uma estratégia simples para que pequenas empresas produtoras de chocolate vislumbrem a possibilidade de efetuar testes em escala piloto com baixo custo, desenvolvendo novos produtos, melhorando processos e evitando desperdícios industriais.

## 5 REFERÊNCIAS

AFOAKWA, E.O. PATERSON, A. FOWLER, M. Factors influencing rheological and textural qualities in chocolate - a review. **Trends in Food Science & Technology**, Cambridge, v. 18, p.290-298, 2007.

AFOAKWA, E.O. PATERSON, A. FOWLER, M. VIEIRA, J. Particle size distribution and compositional effects on textural properties and appearance of dark chocolates. **Journal of Food Engineering**, Oxford, v. 87, p. 181–190, 2008.

ALAMPRESE, C. DATEI, L. SEMERARO, Q. Optimization of processing parameters of a ball mill refiner for chocolate. **Journal of Food Engineering**. Oxford, v.83, p.629–636, 2007.

BARRETTO, S.A.J. CYRILLO, D.C. COZZOLINO, S.M. Análise nutricional e complementação alimentar de cesta básica derivada do consumo. **Revista de Saúde Pública**. São Paulo, v. 32, n.1, p.29-35, 1998.

BECKETT, S.T. *Fabricación y Utilización Industrial del Chocolate*. ed., Zaragoza, Espanha: Acribia, 1994. 432 p.

BLACHE, D. DURAN, P. PROST, M. LOREAU, N. (+)-Catechin inhibits platelet Hyperactivity induced by an acute iron load *in vivo*. **Free Radical Biology & Medicine**, New York, v.33 n.12, p. 1670-1680, 2002.

BOLENZ, S. THIESSENHUSEN, T. SCHÄPE, R. Fast conching for milk chocolate. **Eur Food Res Technol**, Berlin, v.218, p. 62–67, 2003.

BOLENZ, S. AMTSBERG, K. LIPP, E. New concept for fast continuous conching of Milk chocolate. **Eur Food Res Technol**, Berlin, v.220, p.47-54, 2005.

BRIONES, V. AGUILERA, J.M. BROWN, C. Effect of surface topography on color and gloss of chocolate samples. **Journal of Food Engineering**, Oxford, v. 77, p.776–783, 2006.

BRADY, K. HO, C. ROSEN, R.T. SANG, S. KARWE, M.V. Effects of processing on the nutraceutical profile of quinoa. **Food Chemistry**, London, v.100, p. 1209–1216, 2007.

BRASIL. Ministério da Agricultura do Abastecimento e da Reforma Agrária. Regulamento técnico de identidade e qualidade da caseína alimentar. Portaria n.146 de 07 de março de 1996. Disponível em: <[http://www.agais.com/normas/leite/caseina\\_alimentar.htm](http://www.agais.com/normas/leite/caseina_alimentar.htm)>. Acesso em: 5 julho 2006.

CAMPBELL, W.W. GEIK, R.A. Nutritional Considerations for the older athlete. **Nutrition**. New York, v. 20, n.7/8, p. 603-608, 2004.

CHAVES, J.B.P. **Métodos de diferença em avaliação sensorial de alimentos e bebidas**. Viçosa: Imprensa Universitária, 1993. 91p.

CHILLO, S. LAVERSE, J. FALCONE, P.M. DEL NOBILE, M.A. Quality of spaghetti in base amaranthus wholemeal flour added with quinoa, broad bean and chick pea. **Journal of Food Engineering**, Oxford, v. 84, p. 101–107, 2008.

CIDELL, J.L. ALBERTS, H.C. Constructing quality: The multinational histories of chocolate. **Geoforum**, London, v.37, p. 999-1007, 2006.

COHEN, K.O. LUCAS, V. JACKIX, M.N.H. Review: Tempering or precrystallization of chocolate. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v.7, n.1, p.23-29, 2004.

CORÓ, F. A. G. PEDRÃO, M. R. **Análise sensorial e sua importância na pesquisa de alimentos**. UNOPAR.Londrina, v.1, n.1, p. 85-89, out. 1999. Disponível em: <[http://www2.unopar.br/pesq\\_arq/revista/BIOLOGIA/00000276.pdf](http://www2.unopar.br/pesq_arq/revista/BIOLOGIA/00000276.pdf)>. Acesso em: 26 jun. 2006.

COMAI, S. BERTAZZO, A. BAILONI, L. ZANCATO, M. COSTA, C.V.L. ALLEGRI, G. The content of proteic and nonproteic (free and protein-bound) tryptophan in quinoa and cereal flours **Food Chemistry**, London, v. 100, p.1350–1355, 2007.

DHONSI, D. STAPLEY, A.G.F. The effect of shear rate, temperature, sugar and emulsifier on the tempering of cocoa butter. **Journal of Food Engineering**, Oxford, v.77, p. 936–942, 2006.

DO, T. HARGREAVES, J.M. WOLF, B. HORT, J. MITCHELL, J.R. Impact of particle size distribution on rheological and textural properties of chocolate models with reduced fat content. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 72, n.9, p. E541-552, 2007.

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

GELY, M. C. SANTALLA, E. M. Moisture diffusivity in quinoa (*Chenopodium quinoa* Wild.) seeds: Effect of air temperature and initial moisture content of seeds. **Journal of Food Engineering**, Davis, v. 78, p. 1029–1033, 2007.

GOMES, C.R. VISSOTTO, F.Z. FADINI, A.L. FARIA, E.V. LUIZ, A.M. Influência de diferentes agentes de corpo nas características reológicas e sensoriais de chocolates diet em sacarose e light em calorias. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.27, n.3, p.614-623, 2007.



GOTTI, R. FURLANETTO, S. PINZAUTI, S. CAVRINI, V. Analysis of catechins in *Theobroma cacao* beans by cyclodextrin-modified micellar electrokinetic chromatography. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v.1112, p.345–352, 2006.

HENARES, J.A.R. ANDRADE, C.D. PÉREZ, S.J. MORALES, F.J. Assessing nutritional quality of milk-based sport supplements as determined by furosine. **Food Chemistry**, London, v.101, p.573-578, 2007.

KEOGH J.B. MCINERNEY J. LIFTON, P.M. The Effect of Milk Protein on the Bioavailability of Cocoa Polyphenols. **Journal of Food Science**, Chicago, v.72, n.3 , p.S230–S233, 2007.

KRÜGER, C.C.H. COMASSETTO, M.C.G CÂNDIDO, L.M.B. BALDINI, V.L.S. SANTTUCCI, M.C. SGARBIERI, V.C. Biscoitos tipo "cookie" e "snack" enriquecidos, respectivamente com caseína obtida por coagulação enzimática e caseinato de sódio. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.23, n.1, p.81-86, 2003.

LAMPILA, P. LAHTEENMAKI, L. Consumers' attitudes towards high pressure freezing of food. **British Food Journal**, Cardiff, v.109, n.10, p. 838-851, 2007.

LEE, K. W. KIM, Y. J. LEE, H. J. LEE, C. Y. Cocoa has More Phenolic Phytochemicals and a Higher Antioxidant Capacity than Teas and Red Wine. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. Easton, v.51, 7292 – 7295, 2003.

LEÓN, Alberto Edel et al. De tales harinas, tales panes – Granos, harinas y productos de panificación en Iberoamérica. 1. ed. Córdoba, Argentina: Hugo Báez Editor, 2007. 473p.

MINIFIE, BERNANRD W. **Chocolate, Cocoa, and Confectionery: Science and technology**. 3. ed. New Cork: Van Nostrand Reinhold, 1989. p.904

MONTEIRO, C.A. CONDE, W.L. Secular trends in malnutrition and obesity among children in S. Paulo city, Brazil. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo v.34, n.6, p. 1974-1996, 2000.

MORIN, P. HERRMANN, F. AMMANN, P. UEBELHART, B. RIZZOLI, R. A rapid self-administered food frequency questionnaire for the evaluation of dietary protein intake. **Clinical Nutrition**, Amsterdam, v. 24, p. 768-774, 2005.

NOVAKOVA, H. ČIŽŮPOVÁ, J. MAIXNER J. MARYŠKOVÁ, M. The production of clusters in milk chocolate. **International Journal of Food Science and Technology**, Osney Mead, Oxford, U.K. v.37, p.485–495, 2002.

NSIMBA, R.Y. KIKUZAKI, H. KONISHI, Y. Antioxidant activity of various extracts and fractions of *Chenopodium quinoa* and *Amaranthus* spp. **Food Chemistry**, London, v.106, p. 760-766, 2008.

PATZOLD, R. BRUCKNER, H. Gas chromatographic determination and mechanism of formation of D-amino acids occurring in fermented and roasted cocoa beans, cocoa powder, chocolate and cocoa shell. **Amino Acids**, Vienna, v.31, p.63–72, 2006.

PEDRO, N.A.R. OLIVEIRA, E. CADORE, S. Study of the Mineral Content of Chocolate Flavoured Beverages. **Food Chemistry**, London, v. 95, p.94-100, 2006.

**PIMENTEL, FERNANDA DE ARAUJO. AVALIAÇÃO DO PODER ANTIOXIDANTE DO CHOCOLATE AMARGO – UM COMPARATIVO COM O VINHO TINTO. 2007. 72 f. Dissertação (Mestrado) - Ciência e Tecnologia de Alimentos, ICTA, UFRGS, Porto Alegre, 2007.**

PIRES, C.V. OLIVEIRA, M.G.A. ROSA, J.C. COSTA, N.M.B. Qualidade nutricional e escore químico de aminoácidos de diferentes fontes protéicas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n.1, p.179-187, 2006.

PETRIE, H.J. STOVER, E.A. HORSWILL, C.A. Nutritional concerns for the child and adolescent competitor. **Nutrition**, New York, v. 20, n.7/8, p. 620- 631, 2004.

RICHTER, M. LANNES, S.C.S. Ingredientes usados na indústria de chocolates. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, São Paulo, v. 43, n.3, p. 357-369, 2007.

ROMAN, J. A. SGARBIERI, V. C. Obtenção e caracterização química e nutricional de diferentes concentrados de caseína. **Revista de Nutrição**, Campinas, v.18, n.1, p.75-83, 2005.

ROUSSEAU, D. On the porous mesostructure of milk chocolate viewed with atomic force microscopy. **LWT**, Amsterdam, v.39, p.852–860, 2006.

ROUSSET, S. DROIT-VOLET, S. BOIRIE, Y. Change in Protein Intake in Elderly French People Living at Home After a Nutritional Information Program Targeting Protein Consumption. **Journal of the American Dietetic Association**, Philadelphia, v.106, p.253-261, 2006.

SCHANTZ, B. ROHM, H. Influence of lecithin–PGPR blends on the rheological properties of chocolate. **LWT**, Amsterdam, v. 38, n.1, p.41-45, 2005.

SCHENK, H. PESCHAR, R. Understanding the structure of chocolate. **Radiation Physics and Chemistry**, Gaithersburg, v.71, p. 829–835, 2004.

SCHMITZ, GÉSSICA. **AVALIAÇÃO DO PARÂMETRO VISCOSIDADE FRENTE A PROPORÇÕES DE EMULSIFICANTES EM MASSAS DE CHOCOLATE**. 2007. 86 f. Monografia (Graduação) - Curso de Engenharia de Alimentos, ICTA, UFRGS, Porto Alegre, 2007.

SILVA, E.G.P. SANTOS, A.N. COSTA, A.C.S. FORTUNATO, D. M. N. JOSÉ, N. M. KORN, M.G.A. SANTOS, W.N.L. FERREIRA, S.L.C. Determination of manganese and zinc in powdered chocolate samples by slurry sampling using sequential multi-element flame atomic absorption spectrometry, **Microchemical Journal**, Louisiana, v.82, p.159–162, 2006.

SOKMEN, A.GUNES, G. Influence of some bulk sweeteners on rheological properties of chocolate. **LWT**, Amsterdam, v.39, p.1053-1058, 2006.

WEIJZEN, P.L.G. GRAAF, C. DIJKSTERHUIS, G.B. Predictors of the consistency between healthy snack choice intentions and actual behavior. **Food Quality and Preference**, 2007. (doi:10.1016/j.foodqual.2007.05.007).

WOLLGAST, J. ANKLAM, E. Polyphenols in chocolate: is there a contribution to human health? **Food Research International**, Ontario, v.33, p. 449-459, 2000.

SU, R. HE, Z. QI, W. Pancreatic hydrolysis of bovine casein: Changes in the aggregate size and molecular weight distribution. **Food Chemistry**, London, v. 107, p.151–157, 2008.