

## Artigo

## Extração de Gorduras Totais de Chocolates por Soxhlet e Avaliação Qualitativa da Capacidade Antioxidante

Gomes, L. S.; Nascimento, V.\*

Rev. Virtual Quim., 2019, 11 (4), 1239-1248. Data de publicação na Web: 19 de agosto de 2019

<http://rvq.sbgq.org.br>

### Extraction of Total Fats from Chocolate Through Soxhlet and Qualitative Evaluation of the Antioxidant Capacity

**Abstract:** This paper describes an experiment that involves the extraction of total fats from three different types of chocolate using a Soxhlet extractor and subsequent testing of their antioxidant capacity due to the presence of phenolic compounds in their composition. The experiment can be performed in a 2-hour class, in addition to being useful in Higher Education in practical classes aimed at teaching laboratory techniques of Chemistry.

**Keywords:** Chocolate, Soxhlet, antioxidant activity, experimental class.

### Resumo

Este artigo descreve um experimento que envolve a extração de gorduras totais de três diferentes tipos de chocolate usando um extrator Soxhlet e posterior avaliação qualitativa da capacidade antioxidante devido à presença de compostos fenólicos na composição dos mesmos. O experimento pode ser executado em uma aula de 2 horas, além de ser viavelmente aplicado às aulas práticas direcionadas ao ensino de técnicas laboratoriais para estudantes de graduação em Química.

**Palavras-chave:** Chocolate, Soxhlet, atividade antioxidante, aula experimental.

\* Universidade Federal Fluminense, Departamento de Química Orgânica, Outeiro de São João Batista s/n, centro, CEP 24020-141, Niterói-RJ, Brasil.

✉ [nascimentovanessa@id.uff.br](mailto:nascimentovanessa@id.uff.br)

DOI: [10.21577/1984-6835.20190085](https://doi.org/10.21577/1984-6835.20190085)

## Extração de Gorduras Totais de Chocolates por Soxhlet e Avaliação Qualitativa da Capacidade Antioxidante

Luana da Silva Gomes; Vanessa Nascimento\*

<sup>a</sup> Universidade Federal Fluminense, Departamento de Química Orgânica, Outeiro de São João Batista s/n, centro, CEP 24020-141, Niterói-RJ, Brasil.

\* [nascimentovanessa@id.uff.br](mailto:nascimentovanessa@id.uff.br)

*Recebido em 30 de janeiro de 2019. Aceito para publicação em 1 de julho de 2019*

### 1. Introdução

1.1. Capacidade antioxidante

1.2. Método de extração por Soxhlet

### 2. Materiais e Métodos

2.1. Preparação das amostras

2.2. Extração das gorduras totais

2.3. Avaliação qualitativa da capacidade antioxidante

### 3. Resultados e Discussão

### 4. Conclusão

## 1. Introdução

O cacau pertencente à espécie *Theobroma cacao*, que no grego significa “alimento dos deuses”. É um fruto nativo de flores pequenas, avermelhadas e que ficam presas ao tronco do cacauero, natural das regiões tropical e equatorial.<sup>1</sup> Já a manteiga de cacau (matéria gordurosa extraída do cacau) é constituída de glicerídeos contendo três ácidos graxos principais, sendo eles o ácido esteárico, ácido palmítico e o ácido oleico. Além disso, ela contém na sua forma extraída, de 0,3 a 0,8 % de teosteróis, que são precursores da vitamina D.<sup>2</sup>

A ideia de que o chocolate ou o cacau podem conferir alguns benefícios à saúde não

é necessariamente um conceito novo. Quando Hernán Cortez (conquistador espanhol) visitou a América Central, em 1519, uma de suas primeiras observações foi a rotina do uso do chocolate, particularmente, pelo alto sacerdócio. O mais curioso foi que o chocolate era usado primariamente como um medicamento ao invés de somente como alimento. Esse valor medicinal do chocolate é comprovado por documentos históricos na Europa que fazem referência a esse tipo de uso.<sup>3</sup>

Nesse sentido, entre 1600 e 1700, o chocolate e o cacau eram vistos não apenas como uma bebida de sabor agradável, mas como um alimento para tratar uma série de distúrbios, incluindo dores no coração. Dessa forma, o conceito de que as bebidas do cacau

poderiam mesmo prover benefícios à saúde foi amplamente aceito até por volta de 1850 e início de 1900.<sup>3</sup>

Sendo assim, considera-se o chocolate um alimento de grande valor nutritivo e energético (cerca de 523,8 Kcal por 100g) que permite uma rápida metabolização por parte do organismo humano. Seus três ingredientes: cacau, leite e açúcar fazem com que ele seja considerado um dos melhores alimentos balanceados que existem, devido ao teor de proteínas, carboidratos, lipídios, sais minerais e vitaminas.<sup>1</sup>

### 1.1. Capacidade antioxidante

Os polifenóis, ou compostos fenólicos, têm sido amplamente estudados em razão dos efeitos benéficos que propiciam à saúde. Dentre esses efeitos destaca-se sua potente atividade antioxidante na prevenção de reações oxidativas e formação de radicais livre, o que resulta, inclusive, na proteção contra danos ao DNA das células.<sup>4</sup> Outros efeitos positivos dessas estruturas para a saúde são as propriedades anti-inflamatória,

anticarcinogênica, antiaterogênica, antitrombótica, antimicrobiana, analgésica e vasodilatadora, comprovadas em estudos científicos.<sup>5,6</sup>

Os compostos fenólicos são produtos do metabolismo secundário de plantas e são sintetizados a partir de duas principais vias primárias: via do chiquimato e via do acetato.<sup>7</sup>

Dentro dessa classe estão os flavonoides que são derivados da reação de condensação do ácido cinâmico com grupos malonil-CoA.<sup>8</sup> Estes são classificados a partir do nível de oxidação verificado em suas estruturas químicas, sendo os principais: flavonas, flavanonas, flavonóis, flavanóis (também chamados de flavan-3-óis), isoflavonas e antocianinas.<sup>9</sup>

Os principais compostos fenólicos encontrados nas sementes de cacau estão dentro das classes dos taninos e dos flavonoides. Os flavonoides presentes incluem flavanóis, flavonóis, antocianinas, flavonas e flavanonas. Entre estes, os flavanóis são os mais abundantes, sendo a (+)-catequina e a (-)-epicatequina os principais representantes (Figura 1).<sup>10</sup>

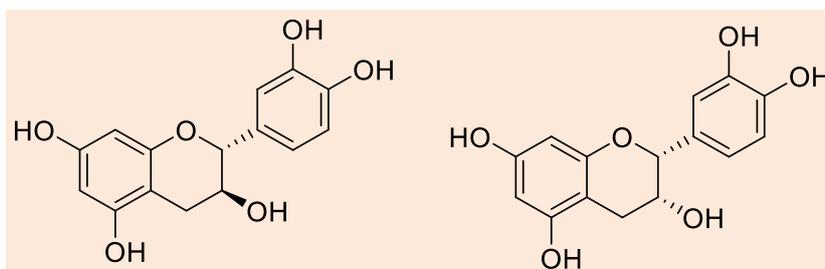


Figura 1. Estrutura da (+)-catequina e (-)-epicatequina

As espécies reativas de oxigênio (EROs) têm papel importante em muitos processos biológicos. São geradas durante reações de transferência de elétrons em células aeróbicas, especialmente pela cadeia transportadora de elétrons mitocondrial.<sup>1</sup> Incluem o radical hidróxido ( $\cdot\text{OH}$ ), ânion superóxido ( $\text{O}_2^-$ ), peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), ácido hipocloroso ( $\text{HOCl}$ ) e oxigênio singlete ( $^1\text{O}_2$ ). Quando produzidos em excesso e não destruídos pelo sistema antioxidante de

defesa do organismo, podem reagir facilmente com o DNA, as proteínas e os lipídios, provocando doenças como câncer, aterosclerose, injúria da mucosa gástrica e envelhecimento precoce. Para auxiliar os sistemas antioxidantes de defesa, a ingestão de substâncias com capacidade antioxidante para combater o excesso das EROs é de suma importância. Alguns polifenóis, como o flavonol quercetina e os flavanóis catequina e

epicatequina, além de carotenoides e vitaminas C e E, apresentam tal capacidade.<sup>11</sup>

Nesse contexto, a atividade antioxidante do cacau foi avaliada em diversos estudos. Dentre eles, Mao *et al.*<sup>12</sup> demonstraram a elevada atividade antioxidante *in vitro* das procianidinas do cacau, tanto na fase de indução (atuando como antioxidante preventivo), como na fase de propagação (atuando como antioxidante de quebra de cadeias) da peroxidação de lipídios. Os mesmos compostos mostraram-se capazes, ainda, de retardar o ataque de lipídios durante

a fase de quebra das reações de pró-oxidação, inibindo totalmente a formação de produtos de degradação. Esses efeitos foram observados mesmo em concentrações submicromoleculares, indicando que as procianidinas do cacau podem atuar como inibidoras de inflamações agudas.

Dados apresentados por Steinberg *et al.*<sup>13</sup> coletados a partir de outros estudos demonstraram que a capacidade antioxidante das procianidinas de cacau e derivados foi maior em comparação com outros alimentos (Tabela 1).

**Tabela 1.** Capacidade antioxidante de alguns alimentos e bebidas

Alimento ou bebida	ORAC* (mmol de equivalentes de Trolox.100 g <sup>-1</sup> )
Liquor de cacau	40,0
Chocolate amargo	13,0
Chocolate ao leite	6,7
Maçã	0,2
Vinho tinto	0,7
Infusão de chá preto (2 g chá.200 mL <sup>-1</sup> água)	1,6

\*(ORAC) Capacidade de absorção de radicais de oxigênio. Fonte: Steinberg *et al.*;<sup>13</sup> Arts *et al.*<sup>14</sup>; Hammerstone *et al.*;<sup>15</sup> Osakabe *et al.*;<sup>16</sup> Wang *et al.*<sup>17</sup>

Além disso, estudos relatam que o consumo de produtos de cacau com alto teor de flavanóis e procianidinas diminui a tendência de agregação das plaquetas e, portanto, a formação de coágulos.<sup>10</sup>

## 1.2. Método de extração por Soxhlet

Um dos principais métodos utilizados para a obtenção de óleos vegetais que apresenta certas vantagens como, uso de quantidade reduzida de solvente, não há necessidade de monitoramento constante e a amostra não precisa ficar em contato com o solvente evitando assim sua decomposição, é a

extração sólido-líquido com uso do extrator Soxhlet.

Alguns trabalhos como o de Menezes *et al.*,<sup>18</sup> por exemplo, faz uso desta técnica na extração do óleo de duas variedades de sementes de uva visando a sua utilização como óleo comestível e tornando-se assim uma alternativa para um dos principais resíduos de vinícolas brasileiras. Já no trabalho de Cavalcante *et al.*,<sup>19</sup> destaca-se o uso da técnica na extração do óleo de sementes de soja para a produção de biodiesel, sendo possível medir os teores em diversas linhagens do grão. Um outro trabalho de destaque é o estudo do grupo de Oliveira *et al.*<sup>20</sup> na extração e avaliação do rendimento de óleo de baru, uma árvore pertencente à família *Leguminosae*, com altura média de 15

m, e podendo alcançar mais de 25 m em solos férteis. Através da técnica de extração por Soxhlet foi possível separar o óleo essencial da palmeira, utilizado, principalmente, para fins medicinais e industriais.

Baseando-se nesse conjunto de informações e levando em consideração que o chocolate é um produto comumente consumido, elaborou-se um roteiro experimental direcionado para aulas dos cursos de graduação em Química. Este teve o intuito de propor uma nova abordagem para explorar uma das principais técnicas de extração utilizadas em Química Orgânica (extração por Soxhlet). A proposta visa utilizar a extração por Soxhlet para obtenção das gorduras totais de três tipos de chocolate (branco, ao leite e amargo), bem como a avaliação qualitativa da capacidade antioxidante das gorduras totais extraídas das amostras de chocolates mediante a identificação dos grupos funcionais fenólicos que possuem tal propriedade.

## 2. Materiais e Métodos

### 2.1. Preparação das amostras

Foram analisados três tipos de chocolate, sendo eles, amargo (85 % m/m), ao leite e branco, todos da marca Cacau Show.

Cada tipo de amostra de chocolate foi colocado em um cadinho de porcelana e triturado. A seguir, 10,0 g de cada amostra foi pesada em balança analítica. E finalmente, cada amostra de chocolate triturado foi adicionada a um cartucho de celulose e este foi posteriormente acoplado a um extrator Soxhlet.

### 2.2. Extração das gorduras totais

Para a extração das gorduras totais dos chocolates, um sistema de refluxo (Figura 2) foi montado a partir de uma manta de aquecimento com um balão contendo, aproximadamente, 80 mL de hexano (solvente) acoplado ao extrator Soxhlet e condensador.

O sistema foi deixado em refluxo por 1h30min, tempo suficiente para extrair parte da gordura presente nos chocolates. Terminada a extração, o balão foi acoplado a um rotaevaporador para retirar todo o solvente da amostra extraída. O material (gordura extraída) restante no fundo do balão foi então pesado.

### 2.3. Avaliação qualitativa da capacidade antioxidante

A capacidade antioxidante dos três tipos de amostras de chocolates foi avaliada qualitativamente por meio de testes funcionais utilizando-se soluções: alcoólica de cloreto férrico ( $\text{FeCl}_3$ ) e de hidróxido de sódio ( $\text{NaOH}$ ) 10 % (m/v).

O resíduo de cada amostra de chocolate que permaneceu no cartucho de celulose foi adicionado em duas séries de 3 tubos de ensaio. Na primeira série de teste qualitativo: 1 mL de etanol foi adicionado e deixado em banho maria por cerca de 5 minutos. Após esse tempo, 1 mL da solução alcoólica de cloreto férrico foi adicionado a fim de observar alguma mudança de cor.

Da mesma forma, na segunda série de ensaio qualitativo, 1 mL de etanol foi adicionado e deixado em banho maria por cerca de 5 minutos. Posteriormente, adicionou-se 1 mL da solução de hidróxido de sódio 10 % (m/v) foi adicionado com o intuito de observar alguma mudança de cor.



**Figura 2.** Aparelhagem de utilizada para o sistema de refluxo: (1) manta de aquecimento; (2) balão volumétrico; (3) aparelho extrator de Soxhlet; (4) condensador; (5) garras e mufas; (6) mangueira; (7) suporte metálico

### 3. Resultados e Discussão

Após a etapa de extração e remoção do solvente as quantidades de gorduras presentes em cada tipo de chocolate foram calculadas e os resultados dispostos na Tabela 2.

Surpreendentemente, como pôde-se notar, a maior porcentagem de gordura está presente no chocolate amargo. Entretanto, essa observação pode ser explicada principalmente pelo alto teor de cacau (85 %) presente em sua composição. Ou seja, quanto mais cacau, mais gordura proveniente da matéria prima. Ainda assim, o chocolate amargo é o mais indicado para quem quer manter um consumo saudável. De acordo com

a literatura,<sup>21</sup> essa gordura não faz mal. Na realidade, embora se acredite que o consumo de gorduras saturadas aumenta o nível plasmático de colesterol, o consumo regular de manteiga de cacau e chocolate vem negando este aumento<sup>17</sup>. De acordo com algumas pesquisas, isto se deve, provavelmente, às concentrações relativamente altas de ácido esteárico, que tem mostrado um efeito neutro sobre o metabolismo do colesterol, e ao ácido oleico, conhecido pelos seus efeitos na redução plasmática do colesterol médio. Além disso, dos carboidratos simples e da gordura presentes no chocolate, o componente do cacau é rico também em inúmeros minerais essenciais, como magnésio, cobre, potássio e manganês.<sup>15</sup>

**Tabela 2.** Quantidade de gordura extraída em cada tipo de chocolate

Tipo de Chocolate	Gorduras Totais no Rótulo* (g)	Gorduras Obtidas (g)	Gorduras Obtidas (%)
AO LEITE	8,1	2,5	25
BRANCO	8,3	2,9	29
AMARGO (85 %)	11	3,2	32

\*Quantidade de gordura referente a um tablete de 20g de chocolate

O chocolate branco é produzido através da manteiga de cacau e é o que possui menor quantidade de propriedades benéficas à saúde. Além disso, é rico em gorduras saturadas que colaboram para o aumento do peso corpóreo. Corti *et al.*,<sup>22</sup> por exemplo, fez uma revisão sobre os possíveis efeitos cardiovasculares no consumo do cacau e destaca que a ausência de flavonoides no chocolate branco é o principal fator que o impede de oferecer benefícios a saúde humana. Bem como, Shiina *et al.*,<sup>23</sup> que relatou a melhora na circulação coronária de adultos saudáveis devido a ingestão de chocolate amargo em comparação com o chocolate branco, não apresentando este último, efeito nenhum.

Por fim, o chocolate ao leite possui menos gordura hidrogenada na sua composição e, portanto, é menos calórico que o branco. Comparativamente, o chocolate ao leite é o que apresenta maior teor de açúcares na formulação. A presença desses açúcares, substâncias predominantemente apolares como os lipídeos, pode provocar algum tipo de interferência no grau de extração da gordura pelo solvente, que também é apolar. Isso pode justificar a diferença de valores entre os valores encontrados para o chocolate branco, já que no ao leite a porcentagem de cacau é maior.<sup>24</sup>

Assim, após a quantificação das gorduras, foram realizados testes funcionais em cada

tipo de extrato de chocolate para a comprovação de sua capacidade antioxidante. Para o ensaio com a solução de cloreto férrico foi observado que: no tubo **(1)**, contendo extrato de chocolate amargo 85 % (m/m), a solução ficou verde escuro havendo mudança na coloração inicial (amarela) da solução de cloreto férrico; no tubo **(2)**, contendo extrato de chocolate ao leite, também houve mudança de cor da solução para o verde, porém um verde mais claro; já para o tubo **(3)**, contendo extrato de chocolate branco, não houve mudança na coloração inicial (amarela) da solução de cloreto férrico (Figura 3).

Nessa primeira série de análise qualitativa, os fenóis, ao reagirem com cloreto férrico ( $\text{FeCl}_3$ ), formam complexos coloridos. Como no chocolate amargo há um alto teor de cacau, então também há um alto teor de flavonoides, principalmente os flavonóis. Estes possuem, em sua estrutura, hidroxilas fenólicas que são então identificadas e provocam a mudança de cor na solução de amarela para verde-acastanhado.<sup>25,26</sup> Ao contrário do chocolate branco em que não há presença de cacau e por isso também não há presença de flavonoides. Como o chocolate ao leite possui uma quantidade razoável de cacau então também há presença de flavonoides, caracterizada pela formação de uma cor verde mais clara.



**Figura 3.** Testes funcionais para cada tipo de chocolate: **(1)** chocolate amargo 85 %; **(2)** chocolate ao leite; **(3)** chocolate branco

Da mesma forma, na segunda série de tubos de ensaio: após a adição da solução aquosa de NaOH 10 % (m/V), também foi observada mudança de cor, sendo mais intensa (coloração marrom) para o tubo **(1)** contendo o extrato de chocolate amargo 85 %

(m/m); enquanto que para o tubo **(2)** contendo extrato de chocolate ao leite, ocorreu uma mudança menos intensa (castanho) e por fim no tubo **(3)** não houve mudança de cor (Figura 4).



**Figura 4.** Testes funcionais para cada tipo de chocolate: **(1)** chocolate amargo 85 %; **(2)** chocolate ao leite; **(3)** chocolate branco

Neste ensaio, os mesmos flavonoides ao reagirem com o NaOH produzem fenóxidos de sódio devido às reações que acontecem com as hidroxilas presentes nas estruturas gerando assim, soluções com coloração amarelo-escuro/marrom.<sup>25,26</sup> Esta coloração foi observada para o extrato do chocolate amargo devido ao seu alto teor de flavonóis. O chocolate ao leite por possuir um teor

menor, produziu uma solução de cor amarela. Já no chocolate branco, como esses compostos não estão presentes, não há reação com o hidróxido de sódio e por isto a solução manteve-se incolor.

Resumidamente, os resultados obtidos neste experimento estão de acordo com a literatura,<sup>10</sup> evidenciando que o chocolate

amargo é o mais rico em polifenóis (53,5 mg de catequina em 100 mg de chocolate)<sup>27</sup> e por isso mais benéfico ao organismo humano. Também foi evidenciado que a técnica de extração por Soxhlet é simples e pode ser executada em uma aula experimental de

#### 4. Conclusão

A simplicidade do experimento proposto, além do impacto visual, permite sua realização em cursos de graduação, abrangendo um amplo espectro de assuntos que podem ser explorados em aulas práticas de Química Orgânica, como: extração de substâncias, identificação de grupos funcionais, solubilidade, dentre outros. Além disso, o material utilizado é de fácil aquisição, tornando essa proposta acessível à maioria dos cursos de graduação em Química existentes no Brasil.

Por fim, sendo as aulas práticas o primeiro contato dos alunos com a pesquisa científica, é de extrema importância que os experimentos que venham ser executados, como o exemplo apresentado neste trabalho, possam gerar discussões a respeito das relações da Química com o dia-a-dia. Isso tende a despertar um maior interesse nos alunos e os incentivará a participarem com afinco durante as aulas.

#### Referências Bibliográficas

<sup>1</sup> Coentrão, P. A. M.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade Federal Fluminense, Brasil, 2005. [\[Link\]](#)

<sup>2</sup> Aquarone, E.; Lima, U. A.; Borzani, W.; *Biotechnologia: alimentos e bebidas produzidas por fermentação*. Edgard Blücher: São Paulo, 1983.

<sup>3</sup> Keen, C. L. Chocolate: Food as Medicine/Medicine as Food. *Journal of the American College of Nutrition* **2001**, *20*, 436. [\[PubMed\]](#)

cursos de graduação, obtendo-se resultados satisfatórios para o ensino aprendizagem dos estudantes em relação às técnicas e operações realizadas em laboratórios de Química.

<sup>4</sup> Wollgast, J.; Anklam, E. Review on polyphenols in Theobroma cacao: changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. *Food Research International* **2000**, *33*, 423. [\[CrossRef\]](#)

<sup>5</sup> Wollgast, J.; Anklam, E. Polyphenols in chocolate: is there a contribution to human health? *Food Research International* **2000**, *33*, 449. [\[CrossRef\]](#)

<sup>6</sup> 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* **2006**, *1112*, 345. [\[CrossRef\]](#)

<sup>7</sup> Bravo, L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition Reviews* **1998**, *56*, 317. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)

<sup>8</sup> Bloor, S. Overview of methods for analysis and identification of flavonoids. *Methods in Enzymology* **2001**, *335*, 3. [\[CrossRef\]](#)

<sup>9</sup> Peterson, J.; Dwyer, J. Flavonoids: Dietary occurrence and biochemical activity. *Nutrition Research* **1998**, *18*, 1995. [\[CrossRef\]](#)

<sup>10</sup> Efraim, P.; Alves, A. B.; Jardim, D. C. P. Revisão: Polifenóis em cacau e derivados: teores, fatores de variação e efeitos na saúde. *Brazilian Journal of Food Technology* **2011**, *14*, 181. [\[CrossRef\]](#)

<sup>11</sup> Jacob, R. A.; Burri, B. J. Oxidative damage and defense. *American Journal of Clinical Nutrition* **1996**, *63*, 985. [\[Link\]](#)

<sup>12</sup> Mao, T. K.; Powell, J.; Van de Water, J.; Keen, C. L.; Schmitz, H. H.; Hammerstone, J. F.; Gershwin, M. E. The effect of cocoa procyanidins on the transcription and secretion of interleukin 1 beta in peripheral blood mononuclear cells. *Life Science* **2000**, *66*, 1377. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)

- <sup>13</sup> Steinberg, F. M.; Bearden, M. M.; Keen, C. L. Cocoa and chocolate flavonoids: implications for cardiovascular health. *Journal of the American Dietetic Association* **2003**, *103*, 215. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>14</sup> Arts, I. C.; Hollman, P. C.; Feskens, E. J.; Bueno de Mesquita, H. B.; Kromhout, D. Catechin intake and associated dietary and lifestyle factors in a representative sample of Dutch men and women. *European Journal of Clinical Nutrition* **2001**, *55*, 76. [[PubMed](#)]
- <sup>15</sup> Hammerstone, J. F.; Lazarus, S.A.; Schmitz, H.H. Procyanidin Content and Variation in Some Commonly Consumed Foods. *The Journal of Nutrition* **2000**, 2086. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>16</sup> Osakabe, N.; Yamagishi, M.; Sanbongi, C.; Natsume, M.; Takizawa, T.; Osawa, T. Antioxidative substances in cacaoliquor. *Journal of Nutritional Science Vitaminology* **1998**, *44*, 383. [[CrossRef](#)]
- <sup>17</sup> Wang, J. F.; Yamagishi, M.; Sanbongi, C.; Natsume, M.; Takizawa, T.; Osawa, T. *Journal of Nutrition* **2000**, *130*, 2115. [[PubMed](#)]
- <sup>18</sup> de Menezes, M. L.; Medeiros, J.; Kajihara, V. Y.; Sakamoto, M. S. C.; de Barros, S. T. D.; Pereira, N. C. Estudo do processo de extração por Soxhlet do óleo de semente de uva. *Blucher Chemical Engineering Proceedings* **2015**, *1*, 1. [[CrossRef](#)]
- <sup>19</sup> Cavalcante, A. K.; Sousa, L.B.; Hamawaki, O. T. Determinação e avaliação do teor de óleo em sementes de soja pelos métodos de ressonância magnética nuclear e Soxhlet. *Bioscience Journal* **2011**, *27*, 8. [[Link](#)]
- <sup>20</sup> Oliveira, L. C. P. Estudo da extração e avaliação do rendimento do óleo de baru. *Revista Cetino* **2011**, *1*, 28. [[Link](#)]
- <sup>21</sup> Richter, M.; Lannes, S. C. S. Ingredientes usados na indústria de chocolates. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas* **2007**, *43*, 358. [[CrossRef](#)]
- <sup>22</sup> Corti R.; Flammer, A. J., Hollenberg, N. K., Lüscher, T. F. Cocoa and Cardiovascular Health. *Circulation* **2009**, *119*, 1433. [[CrossRef](#)]
- <sup>23</sup> Shiina, Y. Acute effect of oral flavonoid-rich dark chocolate intake on coronary circulation, as compared with non-flavonoid white chocolate, by transthoracic Doppler echocardiography in healthy adults. *International Journal of Cardiology* **2009**, *131*, 424. [[CrossRef](#)]
- <sup>24</sup> Eduardo, M. F.; Lannes, S. C. S. Achocolatados: análise química. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas* **2004**, *40*, 405. [[CrossRef](#)]
- <sup>25</sup> Simões, C. M. O.; *Farmacognosia: da planta ao medicamento*, 6a. ed., UFRGS: Porto Alegre, 2007.
- <sup>26</sup> Pedroso, R.; Silva, C. P.; Furlan, C. M. Comparação dos principais constituintes químicos de duas espécies de arnica: cravorana (*Porophyllum ruderale* [JACQ.] CASS) e varão-de-ouro (*Solidago* SP.). *Revista Brasileira de Ciências da Saúde* **2009**, *7*, 42. [[CrossRef](#)]
- <sup>27</sup> D'El-Rei, J.; Medeiros, F. Chocolate e os benefícios cardiovasculares. *Revista do Hospital Universitário Pedro Ernesto* **2011**, *10*, 54. [[Link](#)]